

PROSIDING BOOK

 **10 - 12**
February 2023

 Prime Plaza Hotel,
Sanur, Denpasar, Bali



UNIVERSITAS UDAYANA
Medical Faculty
Udayana University

in collaboration with



National Symposium and Workshop
in Anti-Aging Medicine

(NASWAAM) 2023

The success of ANTI-AGING MEDICINE

Greeting from Chairman

Salam sehat dan bahagia untuk kita semua,

Setelah dua tahun tidak hadir secara tatap muka, tahun ini National Symposium and Workshop in Anti-Aging Medicine (NASWAAM) hadir kembali seperti tahun-tahun sebelumnya. Kali ini NASWAAM mengambil tema "The Success of Anti-Aging Medicine". Tema ini kami pilih untuk menunjukkan bahwa penerapan Anti-Aging Medicine telah menunjukkan sukses yang luar biasa bagi peningkatan Kualitas Hidup manusia, khususnya di Indonesia.

Saat ini sudah semakin banyak orang yang memahami peran Anti-Aging Medicine bagi sukses seseorang melalui kualitas kesehatan yang baik seperti pada usia muda yang sehat. Tidak mungkin sukses dicapai kalau orang tidak sehat.

Salah satu kondisi tidak sehat yang tanpa disadari adalah proses penuaan yang telah terjadi tapi dibiarkan begitu saja. Maka peranan dokter yang menguasai Anti-Aging Medicine menjadi sangat diperlukan bagi pembangunan Kualitas Hidup bangsa.

Sebagai pelopor pendidikan pasca sarjana Anti-Aging Medicine yang pertama di dunia, wajar kalau kami merasa bangga dapat mempersembahkan ini kepada masyarakat luas, khususnya kepada para dokter sebagai garda depan untuk meningkatkan Kualitas Hidup bangsa.

Melalui tema besar NASWAAM ini sekaligus kami ingin mengingatkan kembali bahwa Anti-Aging Medicine bukanlah hanya urusan estetik semata. Di dalam bangunan besar Anti-Aging Medicine, aspek estetik merupakan salah satu aspek penting bersama beberapa aspek lainnya. Tetapi kalau hanya aspek estetik saja yang diutamakan, maka bangunan besar itu segera akan runtuh karena fondasi dan tiang-tiangnya sudah keropos.

Pada acara selama 3 hari ini kami tampilkan berbagai topik yang terkait dengan berbagai aspek dalam kehidupan manusia, yang harus kita tingkatkan agar tetap sehat dan berkualitas. Tema besar ini disampaikan dalam bentuk Plenary Lecture, Symposium, dan Workshop dengan topik masing-masing yang terkait.

Kami juga mengundang para peserta yang berminat mengikuti presentasi makalah bebas untuk memperebutkan Indonesian Award for Anti-Aging Medicine bagi 3 peserta terbaik dan penghargaan bagi 7 pemenang harapan

Usai acara, peserta dipersilakan menikmati keunikan Bali dalam berbagai aspeknya. Sampai berjumpa dan selamat menyerap informasi terkini dan sesungguhnya dalam Anti-Aging Medicine.

Ketua Panitia

Wimpie Pangkahila

Ketua

Pusat Studi Anti-Aging Medicine

Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

Indonesian Center for Anti-Aging Medicine (INCAAM)

Indonesian Association of Anti-Aging Medicine (InAAAM)



Board of Committee

STEERING COMMITTEE

Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM

Prof Dr dr Alex Pangkahila, MSc,SpAnd-KSAAM

Prof Dr dr AAG Budhiartha, SpPD-KEMD

Dr dr Thomas Eko Purwata, SpS-K, FAAN

Dr dr AAGP Wiraguna, SpKK-K

Dr.dr. Gde Ngurah Indraguna Pinatih, MSc, SpG-K

ORGANIZING COMMITTEE

Chairman : Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM

Vice chairman : Dr dr AAGP Wiraguna, SpKK-K

Secretary : dr Made Oka Negara

Treasure : Dr dr AAAN Susraini, SpPA-K

Members:

dr Rosalina Silvia Dewi, MBiomed (AAM)

dr Rusmiasih Anom, MBiomed(AAM)

dr Dina Andaka, MBiomed (AAM)

dr IGA Dewi Ratnayanti, MBiomed (AAM)

dr IGN Pramesemara, MBiomed, SpAnd

dr Chandrawati Santoso, MBiomed(AAM)

dr Kadek Trisnadewi, MBiomed(AAM)

General Information



Conference Host

Center for Study of Anti-Aging Medicine
Medical Faculty Udayana University
Denpasar, Bali - INDONESIA



Day / Date

February, 10th - 12th 2020



Venue

Prime Plaza Hotel, Sanur
Jl. Hang Tuah No.46, Denpasar, Bali



Program

- Plenary lectures
- Symposium
- Workshop
- Free papers (Indonesian Award for Anti-Aging Medicine)



Participants

- General Practitioner
- Specialist



Official Bank Account

Bank BNI 46 Cabang Denpasar
An. NASWAAM
(Yayasan Pusat Kedokteran Anti Penuaan Indonesia)
No Rek. 499 499 2016

Award

INDONESIAN AWARD FOR ANTI-AGING MEDICINE

**Merupakan penghargaan yang prestisius
Persembahan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dan
Indonesian Center for Anti-Aging Medicine (INCAAM)**

Persyaratan:

1. Makalah merupakan hasil penelitian atau tinjauan pustaka terkini mengenai berbagai aspek Anti-Aging Medicine
2. Ditulis ringkas, maksimum 4 halaman kuarto, font Arial 11, dengan 1 spasi
3. Kirimkan melalui email ke csaam_fkunud@yahoo.com dengan subyek "Indonesian Award for AAM"
4. Setiap peserta hanya diperbolehkan mengirim 1 makalah
5. Makalah akan dinilai untuk mendapatkan 10 yang dipresentasikan pada sesi makalah bebas
6. Dari 10 makalah tersebut, akan dinilai 3 yang terbaik dan berhak menerima award. Tujuh lainnya akan menerima hadiah penghargaan
7. Terdaftar sebagai peserta
8. Makalah diterima paling lambat tanggal 25 Januari 2023

Makalah akan dinilai oleh tim juri, yaitu:

Prof Dr dr Alex Pangkahila, MSc, SpAnd-KSAAM (Ketua)

Prof dr IGM Aman, SpFK

Dr dr I Gede Ngurah Indraguna Pinatih, MSc, SpGK

Penilaian meliputi:

1. Isi
2. Cara penulisan dan bahasa
3. Kemampuan presentasi dan menjawab pertanyaan

Hadiah: disediakan bagi 10 makalah yang dinilai baik

- Plakat yang anggun dan berkesan untuk pemenang I, II, III
- Hadiah utama untuk pemenang I, II, III
- 7 hadiah bagi pemenang harapan

Scientific Program

Day I, February 10, 2023

08.00 - 09.00	Registration & coffee break
09.00 - 11.00	Free Papers
11.00 - 11.30	Opening Ceremony: - National Anthem of Indonesia Raya - Hymn of Anti-Aging Medicine - Speech : Chairman of OC, CSAAM, INCAAM - Speech: Chairman of IDI - Speech : Dean Faculty Udayana University - Speech and opening: Rector of Udayana University
11.30 - 12.00	Plenary Lecture I: The success of Anti-Aging Medicine <i>Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM</i>
12.00 - 12.30	Plenary lecture II: Registration number of BPOM for cosmetics and supplement: does it guarantee the safety and efficacy?
12.30 - 14.00	Lunch and visit exhibition
14.00 - 15.00	Symposium I: Problems and management of Growth Hormone Deficiency Detecting Growth Hormone Deficiency <i>dr Johanes Soedjono, MKes, SpAnd-KSAAM</i> Growth Hormone Replacement Therapy for adult: who needs and how? <i>Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM</i>
15.00 - 16.30	Symposium II: Healthy Life style and brain function Enough sleep to control brain functions <i>Dr dr Thomas Eko Purwata, SpS-K</i> Prevention and treatment of dementia <i>Dr dr AAA Laksmidewi, SpN(K)</i> Is there supplement to maintain brain function? <i>Prof Dr dr I Wayan Weta, MSi, SpGK</i>
16.30 - 17.30	Coffee Break
19.00 - 22.00	Gala dinner - announcement of Free Papers Winner

Scientific Program

Day II, February 11, 2023

- 09.00 - 09.30 **Plenary Lecture III**
The truth of herbal medicine-Why is it mixed with real medicine?
Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM
- 09.30 - 10.00 **Plenary Lecture IV**
Exercise to maintain hormone level
Prof Dr dr Alex Pangkahila, SpAnd-KSAAM
- 10.00 - 11.30 **Symposium IV:**
Healthy Sex in healthy life
Sexual life in healthy life
dr Heru Oentoeng, MRepro, SpAnd-KSAAM
Management of female orgasmic dysfunction for happy life
Prof Dr dr Alex Pangkahila, MSc, SpAnd-KSAAM
Management of erectile dysfunction for healthy sex
Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM
- 11.30 - 12.00 **Coffee Break**
- 12.00 - 13.00 **Symposium V:**
Total role and benefit of Testosterone
Testosterone and related-risk factors and disorders
dr Johanes Soedjono, MKes, SpAnd-KSAAM
Testosterone Replacement Therapy to reverse aging process
Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM
- 13.00 - 14.00 **Lunch and visit Exhibition**
- 14.00 - 15.00 **Symposium VI:**
Aesthetic aspects- problem and treatment of hair loss
Hair loss in young age-Problem and prevention
Dr dr Kwartantaya Winaya, SpKK-K
Treatment of hair loss and alopecia
Dr dr I Gusti Ayu Agung Praharsini, SpKK-K
- 15.00 - 16.30 **Symposium VII:**
Problems of Obesity
Life style for obese people
Prof Dr dr Alex Pangkahila, MSc, SpAnd-KSAAM
Detection of hormone-related obesity
Prof Dr dr AAG Budhiarta, SpPD(KEMD)
Healthy diet for obesity
Dr dr Gede Indraguna Pinatih, MSc
- 16.30 - 17.00 **Coffee Break**

Scientific Program

Day III, February 12, 2023

8.30 - 10.00 **Symposium IX:**
Aesthetic aspects -The secret of cosmetics
Infuse of Vitamin C for whitening. Is it scientific and safe?
Dr dr AAGP Wiraguna, SpKK-K
Laser treatment: advantages and side effects
Dr dr Liza Widjaja, MBiomed(AAM)
Cosmetic substances: healthy and unhealthy
Dr dr Dian Andriani Ratna Dewi, MBiomed(AAM), SpKK

10.00- **Coffee Break**

Workshop

10.00-11.00 **Workshop I**
Presentation and Video demo-exercise in obesity:
dr Michael Triangto, SpKO

11.00-12.00 **Workshop II**
Case Report - Hormone Replacement Therapy
Prof Dr dr Wimpie Pangkahila, SpAnd-KSAAM

12.00-13.00 **Workshop III**
Presentation and Video demo- Secretom for skin rejuvenation
dr Sandy Qlintang, Kalbe Farma

13.00-14.00 **Workshop IV**
Presentation and Video demo- Update of thread lift: benefit and risks
Dr dr Teguh Tanuwijaya, MBiomed (AAM)

14.00 **Closing & Lunch**

STAY YOUNG AND HEALTHY SKIN

Anak Agung Gde Putra Wiraguna

*Center for Study of Anti-Aging Medicine
Faculty of Medicine Udayana University
Indonesian Center for Anti-Aging Medicine
aagpwiraguna@yahoo.com*

ABSTRAK

Penuaan kulit merupakan bagian dari “mozaik penuaan” alami manusia yang menjadi jelas dan mengikuti lintasan yang berbeda pada berbagai organ, jaringan, dan sel, seiring dengan berjalannya waktu. Paradigma 'penuaan yang sukses' berfokus pada kesehatan dan partisipasi individu secara aktif dalam kehidupan yang bertujuan untuk meminimalkan tanda-tanda penuaan pada kulit, wajah dan tubuh. Terapi penuaan kulit bertujuan untuk membalikkan tanda-tanda penuaan kulit intrinsik dan ekstrinsik. Strategi untuk mencegah penuaan kulit dalam dermatologi terutama berfokus pada pencegahan penuaan kulit dengan perlindungan terhadap paparan sinar ultraviolet (UV) sebagai fotoproteksi, penggunaan kosmetik topikal yang mencegah dan mengobati tanda-tanda penuaan kulit, serta mengkonsumsi terapi sistemik untuk menghambat penuaan kulit. Intervensi atau prosedur kosmetik seperti *chemical peeling*, mikrodermabrasi, injeksi toksin botulinum, *dermal filler*, dan laser telah terbukti secara ilmiah membantu dalam mencegah dan mengatasi tanda-tanda penuaan kulit. Tidak ada bahan atau prosedur estetik antipenuaan yang terbukti efektif yang sepenuhnya menghilangkan gejala penuaan kulit bila digunakan sebagai monoterapi. Terapi kombinasi diketahui memberikan hasil yang lebih baik dan optimal untuk mengatasi tanda dan gejala penuaan kulit dibandingkan dengan monoterapi. Selain melakukan perawatan kulit, pasien tetap diedukasi untuk menghindari faktor-faktor eksogen yang dapat menyebabkan penuaan kulit dengan memperbaiki gaya hidup, seperti menghentikan kebiasaan seperti merokok, mengatasi stres, mengurangi paparan polusi dan radiasi UV, pembatasan diet, melakukan aktivitas fisik seperti berolah raga secara rutin, dan memonitor kesehatan secara umum agar tetap bugar dan sehat

ABSTRACT

Skin aging is a part of a natural human “aging mosaic” which becomes evident and follows different trajectories in different organs, tissues and cells with time. The ‘successful aging’ paradigm, focuses on health and active participation in life, counters traditional conceptualizations of aging as a time of disease and is increasingly equated with minimizing age signs on the skin, face and body. The skin anti-aging therapies attempted to reverse the dermal and epidermal signs of photo-and chronological aging. Anti-aging in dermatology primarily focuses on the prevention of skin aging with UV protection, topical and systemic therapy, also aesthetic procedures (non-invasive and invasive). Cosmetic interventions or procedures such as chemical peels, microdermabrasion, botulinum toxin injection, dermal fillers, and

lasers have been scientifically proven to help prevent and treat signs of skin aging. There is no one therapy that can overcome all the signs of skin aging. Combination therapy is aimed to achieve better and optimal results for treating signs and symptoms of skin aging compared to monotherapy. In addition, patients are still educated to avoid exogenous factors that can induce skin aging by improving lifestyle, such as stopping habits such as smoking, dealing with stress, reducing exposure to pollution and UV radiation, restricting diet, doing physical activity such as exercising regularly, and monitoring general health.

PENDAHULUAN

Penuaan kulit merupakan bagian dari “mozaik penuaan” alami manusia yang menjadi jelas dan mengikuti lintasan yang berbeda pada berbagai organ, jaringan, dan sel, seiring dengan berjalannya waktu. Sementara tanda-tanda penuaan internal organ ditutupi dari "mata" sekitar, kulit menampilkan tanda pertama penuaan yang jelas dari waktu ke waktu.¹ Proses menua merupakan proses fisiologis yang akan terjadi pada semua makhluk hidup, dan meliputi seluruh organ tubuh termasuk kulit.²

Penuaan adalah proses yang didefinisikan sebagai penurunan fungsi maksimal dan kapasitas cadangan di semua organ tubuh yang menghasilkan peningkatan kemungkinan penyakit dan kematian.³ Penuaan merupakan proses multifaktorial yang kompleks yang menghasilkan beberapa perubahan fungsional dan estetika pada kulit.⁴ Penuaan kulit sejak lama dianggap lebih sebagai masalah estetika dibandingkan masalah kesehatan fungsional yang nyata.⁵

Penuaan kulit yang ireversibel biasanya dimulai sejak dekade kedua kehidupan, meskipun tanda-tanda penuaan yang jelas, mungkin tidak terlihat untuk waktu yang lama.⁶ Penuaan kulit adalah hasil akhir dari kedua penuaan, baik penuaan intrinsik yang merupakan hasil dari berlalunya waktu, dan *photoaging* yang mengacu pada perubahan struktur dan fungsi kulit yang dihasilkan dari paparan sinar matahari kronis, akibat selain berlalunya waktu.⁷ Penuaan kulit adalah proses progresif yang melibatkan kerusakan lingkungan yang berdampak pada penuaan kulit yang menentukan penampilan kulit terbaik.⁸

Paradigma 'penuaan yang sukses' berfokus pada kesehatan dan partisipasi individu secara aktif dalam kehidupan yang bertujuan untuk meminimalkan tanda-tanda penuaan pada kulit, wajah dan tubuh. Melalui perspektif tersebut, keilmuan dermatologi estetika preventif dapat memfasilitasi pasien untuk mengalami penuaan yang sehat, mengobati atau mencegah gangguan kulit tertentu, terutama kanker kulit, dan menunda penuaan kulit dengan menggunakan terapi topikal dan sistemik, serta prosedur estetik.⁹ Semakin banyak pasien yang mencari perawatan untuk mencegah dan mengobati perubahan yang terjadi akibat penuaan kulit.⁸ Tujuan utama terapi anti-penuaan kulit adalah untuk mendapatkan kulit yang sehat, halus, bebas noda, dan *glowing*. Dalam praktik klinis, "terlihat lebih baik" tidak berarti "terlihat lebih muda". Itulah mengapa sangatlah penting untuk memahami keinginan pasien dan mengarahkan pasien pada modalitas terapi yang akan memberikan hasil yang paling memuaskan.⁹

PENCEGAHAN DAN TERAPI PENUAAN KULIT

Terapi penuaan kulit bertujuan untuk membalikkan tanda-tanda penuaan kulit intrinsik dan ekstrinsik.⁹ Strategi untuk mencegah penuaan kulit dalam dermatologi terutama berfokus pada pencegahan penuaan kulit dengan perlindungan terhadap paparan sinar ultraviolet (UV). Terdapat berbagai modalitas untuk mencegah dan mengobati penuaan kulit, diantaranya pemberian obat-obatan topikal, terapi sistemik, prosedur estetik non-invasif, dan invasif.¹⁰

Tidak ada bahan atau prosedur estetik antipenuaan yang terbukti efektif yang sepenuhnya menghilangkan gejala penuaan kulit bila digunakan sebagai monoterapi. Terapi kombinasi diketahui memberikan hasil yang lebih baik untuk mengatasi tanda dan gejala penuaan kulit dibandingkan dengan monoterapi.¹⁰

Pencegahan dan Terapi Penuaan Kulit Topikal

Fotoproteksi

Paparan radiasi UV memainkan peran penting dalam pathogenesis terjadinya penuaan kulit, sehingga proteksi terhadap sinar UV merupakan langkah terpenting dalam pencegahan *photoaging*. Perlindungan paparan radiasi UV terhadap kulit dapat dilakukan dengan menggunakan pakaian yang melindungi tubuh, seperti topi dan baju berlengan panjang, serta dengan penggunaan tabir surya.¹¹ Singer et.al (2019) melaporkan bahwa menghindari paparan sinar matahari pada waktu puncak dan perlindungan sinar matahari tekstil merupakan pilar penting dari pendekatan profilaksis antipenuaan. Saat ini terdapat 16 filter UV yang terdaftar pada *Food and Drug Administration* (FDA), terdiri dari 14 filter organik dan dua filter nonorganik, termasuk seng oksida dan titanium dioksida. Tabir surya dengan *sun protection factor* (SPF)-30 atau lebih tinggi direkomendasikan untuk digunakan untuk melindungi kulit dalam rangka menurunkan risiko terjadinya kanker kulit dan penuaan kulit dini.¹⁰

Retinoid topikal

Vitamin A (retinol) dan turunannya (retinaldehida dan tretinoin) merupakan sekelompok agen yang juga memiliki efek antioksidan.¹⁰ Vitamin A topikal dan turunannya memiliki kemampuan untuk mengurangi tanda-tanda penuaan kulit dengan mengurangi garis-garis halus dan kerutan. Selain itu, vitamin A dan turunannya dapat meningkatkan elastisitas kulit, memperbaiki tekstur dan warna kulit. Vitamin A dan turunannya dapat menginduksi biosintesis kolagen dan mengurangi ekspresi metaloprotease-1, serta dapat mengurangi jumlah radikal bebas.^{10,12}

Tretinoin adalah retinoid pertama yang disetujui untuk penggunaan klinis.¹¹ Tretinoin merupakan generasi pertama nonaromatik retinoid dan telah disetujui di Amerika Serikat untuk sebagai terapi anti penuaan. Aplikasi tretinoin secara topikal dapat menghambat AP-1, sehingga menekan ekspresi matriks metaloproteinase (MMP) dan mencegah degradasi kolagen. Pada kulit menua yang diaplikasikan tretinoin topikal, didapatkan peningkatan ketebalan epidermis dan fibril.¹³ Tretinoin

memiliki fungsi utama dalam penuaan kulit yaitu tretinoin memiliki aktivitas antioksidan pada radikal peroksil, penetral oksigen singlet, dan memiliki kemampuan menginduksi gen spesifik untuk mengaktifkan faktor pertumbuhan dan produksi keratin.¹² Tretinoin mampu mengurangi tanda-tanda penuaan dini akibat sinar UV, seperti keriput, hilangnya elastisitas kulit, dan pigmentasi.¹⁰

Retinol merupakan zat yang paling sering digunakan sebagai senyawa anti penuaan dan memiliki risiko iritasi kulit yang lebih rendah bila dibandingkan dengan tretinoin. Penggunaan retinol menimbulkan efek positif tidak hanya pada penuaan kulit ekstrinsik tetapi juga intrinsik, serta dan memiliki efek positif pada metabolisme kolagen.¹⁰ Retinol membantu dalam peningkatan pembaruan sel yang mengarah pada penurunan munculnya garis-garis halus dan kerutan, mengencangkan kulit dan mencerahkan kulitnya.¹²

Anti-oksidan topikal

Antioksidan topikal seperti vitamin A, C, E, polifenol, dan flavonoid dapat mengurangi degradasi kolagen dengan menurunkan konsentrasi radikal bebas dalam jaringan. *Reactive oxygen species* (ROS) mengaktifkan jalur MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) dan selanjutnya meningkatkan produksi MMP yang mendegradasi kolagen. Hal ini dapat dicegah dengan pemberian antioksidan seperti vitamin C dan vitamin E, atau enzim anti-oksidatif, seperti superoksida dismutase, katalase, *glutathione* peroksidase, dan koenzim Q10. Pemberian antioksidan bertujuan untuk mengembalikan homeostasis oksigen, namun tidak menghilangkan semua oksidan. Pemberian antioksidan diketahui memberikan manfaat untuk mengatasi penuaan (termasuk penuaan kulit). Vitamin C merangsang sintesis kolagen sehingga mengurangi munculnya garis-garis halus dan kerutan, meningkatkan warna kulit untuk kulit yang sehat dan menetralkan radikal bebas yang membantu kulit melindungi dari proses *photoaging*. Asam askorbat memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dan membantu menjaga vitamin E dalam bentuk aktifnya di dalam tubuh yang merupakan antioksidan kuat.¹²

Alpha hydroxy acid (AHA)

Asam hidroksi, juga disebut asam buah, termasuk asam non-organik yang telah digunakan dalam pengobatan gangguan kulit sejak sekitar 50 tahun yang lalu. Asam organik alami ini sering disebut sebagai asam buah karena ditemukan di banyak buah-buahan umum seperti buah jeruk (asam sitrat), apel (asam malat), dan anggur (asam tartarat), namun dua jenis *alpha hydroxy acid* (AHA) yang paling banyak digunakan bukan berasal dari komponen buah. Asam glikolat merupakan turunan tebu, dan asam laktat berasal dari susu. Asam hidroksi merupakan senyawa anti-penuaan kulit yang paling banyak digunakan dan dipelajari.¹⁰

Alpha hydroxy acid bekerja pada tingkat epidermal dan dermal. Ketika diaplikasikan pada kulit, AHA merangsang pengelupasan sel-sel epidermis di stratum korneum dengan mengganggu ikatan ion

antara sel-sel ini. Hal tersebut kemudian menghasilkan pengelupasan kulit yang sebelumnya kusam dan kasar, serta memicu terjadinya pembaruan sel. Zat ini awalnya digunakan untuk pengobatan hiperkeratosis kulit. *Alpha hydroxy acid* memiliki kemampuan untuk membuat kulit menjadi lebih lembut dan halus, memudar kerutan-kerutan halus, dan mengurangi noda hitam pada kulit akibat penuaan. Selain itu, AHA juga meningkatkan fungsi sawar subkutan, meningkatkan proliferasi dan ketebalan epidermis, dan mengembalikan hidrasi dan kemurnian melalui peningkatan asam hialuronat. Manfaat AHA pada penuaan kulit meliputi melembabkan kulit, memicu pengelupasan kulit, mengurangi garis halus dan kerutan, memicu sintesis kolagen, serta mengencangkan dan mencerahkan kulit.^{10,12}

Terapi Penuaan Kulit Sistemik

Oral Antioksidan

Antioksidan sebagai reduktor dapat mengurangi tanda penuaan kulit dengan menetralkan ROS yang sudah terbentuk. *Reactive oxygen species* mengaktifkan jalur MAPK dan selanjutnya meningkatkan produksi MMP yang mendegradasi kolagen. Hal ini dapat dicegah dengan pemberian antioksidan sistemik, seperti vitamin C dan vitamin E, atau enzim antioksidan, seperti superoksida dismutase, katalase, glutathione peroksidase, dan koenzim Q10. Beberapa tanaman juga bisa digunakan sebagai sumber antioksidan alami, seperti teh yang mengandung katekin dan berfungsi mencegah penuaan kulit melalui jalur *epidermal growth factor receptor* (EGFR).¹³

Hasil studi klinis menunjukkan bahwa suplementasi oral setiap hari dengan formulasi kaya antioksidan memiliki efek peningkatan kekencangan kulit. Peningkatan kekencangan dan elastisitas kulit menunjukkan bahwa serat elastis mendapatkan dampak positif dari suplementasi antioksidan. Kekencangan kulit terutama terkait dengan kolagen dan elastin, yang memberikan stabilitas pada dermis dan sifat elastisnya. Vitamin C merangsang sintesis kolagen, bertindak sebagai kofaktor dalam hidroksilasi prolin dan lisin, asam amino esensial dalam pembentukan serat kolagen.¹⁴

Astaxanthin menghambat sekresi sitokin inflamasi dari keratinosit epidermis dan sekresi MMP-1 oleh fibroblas dermal sebagai respons terhadap radiasi UV. Mekanisme ini mendasari hasil studi klinis yang menunjukkan bahwa penurunan jumlah kerutan dan peningkatan kelembaban dan elastisitas kulit terjadi setelah pemberian suplementasi astaxanthin. Dengan demikian, pemberian suplemen astaxanthin jangka panjang dapat secara profilaksis menghambat kerusakan kulit yang disebabkan oleh kerusakan lingkungan dari waktu ke waktu dan akibatnya memperlambat proses penuaan kulit.¹⁵

Terapi Sulih Hormon (TSH)

Seiring bertambahnya usia maka terjadi penurunan progresif sintesis hormon. Tingkat hormon pertumbuhan (*growth factor*) seperti IGF-1, melatonin, *thyroid stimulating hormone*, hormon tiroid (T3), *dehydroepiandrosterone* (DHEA), estrogen, dan testosteron semakin menurun. Defisit hormonal utama pada manusia terjadi saat masa menopause. Pada wanita paska menopause, kolagen dermal

didapatkan berkurang sehingga kulit menjadi lebih tipis. Terapi sulih hormon telah terbukti efektif dalam mengurangi gejala menopause.¹⁰ Namun, penggunaannya masih kontroversial karena terdapat potensi risiko kesehatan, seperti tromboemboli dan kanker. Studi *Women's Health Initiative* (WHI) menunjukkan risiko yang lebih tinggi untuk kanker payudara, stroke, penyakit kardiovaskular, dan kejadian tromboemboli dengan pengobatan kombinasi estrogen dan progestin.⁹

Selain digunakan dalam pengobatan gejala yang disebabkan oleh menopause, TSH digunakan juga untuk memperlambat proses penuaan kulit.¹³ Wanita paskamenopause memberikan respon yang lebih baik terhadap TSH bila substitusi hormon diberikan sejak awal masa menopause.¹¹ Progestin sintetik yang paling banyak digunakan di seluruh dunia, antara lain: *medroxyprogesterone acetate* (paling sering digunakan di Amerika Serikat), *norethidrone acetate*, *cyproteron acetate*, *norgestimate*, *norgestrel*, dan *dydrogesterone*. Dampak TSH pada wanita paskamenopause meliputi peningkatan ketebalan kulit dan kepadatan dermal. Maka dari itu, TSH dianggap sebagai upaya untuk mengurangi sebagian atrofi kulit dan xerosis kulit pada wanita paskamenopause.¹⁰ Dalam beberapa dekade terakhir, tidak hanya hormonal sistemik dan substitusi vitamin tetapi juga penggunaan hormon secara topikal berkontribusi sebagai agen anti-penuaan.¹¹

Prosedur Estetika

Jumlah prosedur estetika telah meningkat pesat di dunia selama 10 tahun terakhir. Berdasarkan data statistik *American Society for Aesthetic Plastic Surgery*, 80% perawatan estetik yang dilakukan merupakan prosedur invasif minimal, dengan tindakan yang paling umum adalah injeksi pengelupasan kimiawi (*chemical peeling*), mikrodermabrasi, *botulinum toxin*, *dermal filler*, dan laser *resurfacing*. Prosedur invasif minimal telah menjadi modalitas terapi utama untuk mengatasi perubahan wajah akibat penuaan dengan derajat keparahan ringan hingga sedang. Di masa lalu, modalitas terapi terbatas hanya pada intervensi bedah, seperti pengencangan wajah (*face lift*) untuk menutupi dan mengangkat kulit wajah yang kendur, *deep ablative laser resurfacing* dan dermabrasi untuk memperbaiki tekstur, kerutan, dan hiperpigmentasi. Pembedahan masih menjadi pilihan bagi banyak pasien, terutama mereka yang memiliki tanda-tanda penuaan wajah yang lebih berat.¹⁶ Prosedur perawatan invasif, seperti tindakan pembedahan idealnya dilakukan oleh praktisi estetika berlisensi yang berpengalaman.¹²

Kini pasien cenderung memilih prosedur estetik non-bedah invasif minimal yang menawarkan hasil yang cukup baik, dibandingkan dengan menjalani prosedur invasif pembedahan yang dapat merubah penampilan secara drastis, namun memiliki risiko yang lebih besar.¹⁶ Meskipun prosedur estetika non-invasif tidak memiliki efek yang permanen, namun prosedur ini dapat bertahan dalam jangka waktu yang relatif lama dengan biaya yang relatif lebih ekonomis. Dalam praktik klinis, perawatan anti-penuaan non-invasif adalah, jarum mikro, mikrodermabrasi, pengisi kulit, pengelupasan kimia.¹² Prosedur estetika invasif minimal merupakan pilihan untuk mendapatkan hasil terapi yang baik, memiliki waktu pemulihan yang minimal dengan risiko efek samping yang lebih rendah, dan memiliki tingkat kepuasan pasien yang cukup tinggi.¹⁶

Chemical Peeling

Kemoeksfoliasi atau yang sehari-hari disebut sebagai pengelupasan kimiawi (*chemical peeling*) merupakan metode ablasi kulit yang ditargetkan dengan menggunakan agen kaustik spesifik yang memungkinkan terjadinya kemoablasi yang cepat, dapat dengan kedalaman yang seragam dan dapat diprediksi hingga mencapai kedalaman kulit yang diinginkan. Agen kaustik yang digunakan untuk pengelupasan kimia menyebabkan keratokoagulasi terkontrol dan denaturasi protein di dalam epidermis dan dermis, menghasilkan pelepasan sitokin dan kemokin proinflamasi. kolagen dan elastin dermal baru, reorganisasi protein perancah struktural dan jaringan ikat dermal, serta regenerasi keratinosit baru. Hal tersebut menyebabkan peremajaan kulit, penebalan epidermis, dan peningkatan volume dermal. Secara bersamaan, eksfoliasi selanjutnya menghasilkan perbaikan dispigmentasi superfisial dan menengah-dalam Tujuan utama *chemical peeling* adalah untuk meningkatkan penampilan klinis kulit dengan cara: mengurangi kuantitas dan kualitas *rhytides* atau kerutan, dan bekas jerawat, mengurangi lesi jerawat inflamasi dan non-inflamasi, memperbaiki dispigmentasi kulit, dan menghasilkan penampilan yang lebih muda secara keseluruhan.¹⁷

Pengelupasan kimiawi diklasifikasikan ke dalam tiga kategori. Pengelupasan superfisial (*superficial peels*) dengan menggunakan bahan *alpha hydroxy-acid* (AHA) 30-50%, asam salisilat 30%, asam trikloroasetat (*trichloroacetic acid* atau TCA) dengan konsentrasi <30% bertujuan untuk mengelupaskan lapisan epidermis tanpa melampaui lapisan basal. Pengelupasan sedang (*medium peels*) umumnya menggunakan asam glikolat 70% dan TCA dengan konsentrasi 30-50% dengan tujuan mencapai dermis retikuler atas. Sedangkan pengelupasan dalam (*deep peels*) menggunakan TCA dengan konsentrasi lebih dari 50% dan fenol untuk menembus retikuler dermis bagian bawah.^{9,17} Kedalaman pengelupasan kulit tidak hanya bergantung pada zat yang digunakan, tetapi juga pada konsentrasi, pH larutan, dan durasi aplikasi. Kedalaman pengelupasan kulit berkorelasi dengan potensi efek samping yang dapat ditimbulkan, seperti hiperpigmentasi dan risiko infeksi pasca tindakan.¹

Mikrodermabrasi

Mikrodermabrasi adalah prosedur minimal invasif yang berfungsi untuk melapisi kembali epidermis (*resurfacing*) yang digunakan untuk mengatasi warna atau tekstur kulit yang tidak merata, *photoaging*, *striae*, melasma, dan bekas luka, termasuk bekas jerawat. Modalitas ini tersedia secara luas dan merupakan salah satu prosedur kosmetik non-bedah yang paling umum dilakukan di Amerika Serikat. Mikrodermabrasi pertama kali diperkenalkan pada tahun 1985 oleh Marini dan Lo Brutto sebagai alternatif yang kurang agresif untuk pengelupasan kimia dan dermabrasi.¹⁸

Selama prosedur, kristal abrasif didorong ke kulit di bawah kendali sistem vakum genggam. Kristal atau berlian pada permukaan alat menyebabkan abrasi mekanis yang lembut pada kulit, yang pada akhirnya menghilangkan lapisan stratum korneum epidermis. Sebagai bagian dari proses penyembuhan luka, akan terbentuk epidermis baru yang lebih sempurna. Teknik ini dianggap aman

untuk semua jenis kulit Fitzpatrick dengan komplikasi yang minimal. Selain manfaat estetik mikrodermabrasi, penelitian juga menunjukkan peningkatan permeabilitas kulit, dan peningkatan pengiriman obat transdermal yang dioleskan pada area kulit yang diterapi dengan mikrodermabrasi.¹⁸

Botox (botulinum toxin)

Injeksi toksin botulinum untuk perawatan kerutan wajah adalah prosedur kosmetik yang paling sering dilakukan di Amerika Serikat, dan merupakan salah satu prosedur yang paling umum dikerjakan oleh dokter estetik. Toksin botulinum pertama kali disetujui oleh U.S. Food and Drug Administration (FDA) untuk penggunaan kosmetik pada tahun 2002 sebagai terapi kerutan pada glabella yang membentuk *frown lines*. Pada tahun 2013 FDA menyetujui penggunaan toksin botulinum sebagai terapi *crow's feet* yang disebabkan oleh kontraksi otot orbicularis oculi lateral. Injeksi toksin botulinum saat ini juga digunakan secara *off-label* untuk berbagai indikasi kosmetik lainnya. Modalitas ini telah menjadi pilihan terapi utama untuk kerutan yang terdapat di sepertiga bagian atas wajah (yaitu, kerutan horizontal pada dahi, kerutan pada glabella, dan *crow's feet*). Injeksi toksin botulinum untuk kerutan dahi horizontal menawarkan hasil yang dapat diprediksi, memiliki sedikit efek samping, dan dikaitkan dengan kepuasan pasien yang tinggi.¹⁹

Kerutan terbentuk akibat terjadinya atrofi dermal dan kontraksi berulang dari otot-otot wajah di bawahnya. Toksin botulinum adalah neurotoksin kuat yang bekerja menghambat pelepasan asetilkolin pada ion sambungan neuromuskular. Injeksi toksin botulinum dalam jumlah kecil ke dalam otot-otot spesifik yang terlalu aktif menyebabkan relaksasi otot lokal yang menghaluskan kulit di atasnya dan mengurangi kerutan. Efek toksin botulinum membutuhkan waktu sekitar dua minggu untuk berkembang sepenuhnya dan berlangsung selama tiga hingga empat bulan. Kerutan dinamis yang terlihat selama kontraksi otot, menghasilkan hasil yang lebih dramatis dibandingkan dengan kerutan statis yang terlihat saat istirahat. Injeksi toksin botulinum dikontraindikasikan pada orang dengan jaringan parut keloid, gangguan neuromuskular (misalnya, miastenia gravis), alergi terhadap konstituen produk toksin botulinum, dan gangguan dismorfik tubuh. Memar kecil dapat terjadi setelah injeksi toksin botulinum. Blefaroptosis sementara dan ptosis alis merupakan komplikasi yang dapat muncul akibat injeksi toksin botulinum, risiko insiden tersebut menurun bila keterampilan injektor meningkat.¹⁹

Dermal Filler

Dermal filler merupakan modalitas peremajaan yang semakin populer dan dinilai sebagai prosedur estetika non-bedah kedua paling umum dilakukan dengan perkiraan peningkatan tindakan sebanyak 58% selama 5 tahun terakhir. Penggunaan yang tepat dari produk ini membutuhkan pengetahuan yang baik mengenai anatomi wajah, analisis morfologi wajah dan penuaan, dan karakteristik produk. Tujuan dari prosedur ini adalah koreksi terhadap perubahan yang terjadi akibat penuaan dan optimalisasi proporsi wajah.²⁰

Bila digunakan dengan tepat, *filler* dapat memberikan hasil yang dramatis dan aman untuk pasien yang mengalami penuaan kulit dengan *laxity* kulit derajat ringan dan kehilangan volume derajat ringan hingga sedang. Penggunaan *filler* juga efektif untuk menambah dan menyempurnakan proporsi wajah secara keseluruhan. Bagi pasien yang mengalami kehilangan volume derajat berat, *rhytids* atau kerutan dalam, atau *laxity* kulit derajat berat, jumlah *filler* yang diperlukan untuk koreksi akan menjadi lebih banyak dan berisiko memberikan hasil estetika yang kurang memuaskan. Untuk kondisi tersebut, dapat dipertimbangkan untuk menjalani terapi peremajaan dengan metode bedah invasif.²⁰

Terdapat berbagai jenis *dermal filler* yang saat ini digunakan secara rutin pada praktek klinis untuk keperluan kosmetik dan medis. Dikenal berbagai jenis bahan *dermal filler* di pasaran dengan nama merek yang berbeda. Indikasi utama penggunaan *dermal filler* dalam bidang dermatologi adalah peremajaan wajah. Berdasarkan durasi lama *dermal filler* menetap dalam jaringan, *dermal filler* diklasifikasikan sebagai *dermal filler* sementara, semipermanen (bila durasi menetap dalam kulit setidaknya 18 bulan), atau permanen. *Dermal filler* juga dapat diklasifikasikan berdasarkan komposisi produk. Bahan utama *dermal filler* terdiri dari kolagen (sapi, babi, atau manusia), asam hialuronat hewan atau sintetis, asam poli-L-laktat, kalsium hidroksilapatit, polimetil metakrilat, dan gel poliakrilamida.²¹

Perbedaan jenis *dermal filler* ini adalah cara kerja dan durasi lama *dermal filler* tetap berada di jaringan sebelum terserap. *Dermal filler* sementara adalah jenis yang paling sering digunakan untuk tujuan kosmetik, karena penuaan merupakan proses yang dinamis, sehingga tidak disarankan untuk memperbaiki tanda penuaan secara permanen pada satu titik waktu tertentu dan tidak disarankan untuk menggunakan *dermal filler* secara berlebihan. Menurut data yang dipublikasikan oleh *American Society of Aesthetic Plastic Surgery*, lebih dari 85% prosedur *dermal filler* dilakukan dengan *dermal filler* asam hialuronat. Penggunaan jenis *dermal filler* ini secara luas disebabkan karena profil keamanannya yang sangat baik, kemudahan aplikasi, dan memberikan hasil yang memuaskan.²¹

Laser

Laser yang merupakan akronim dari “*light amplification by stimulated emission of radiation*” menghasilkan energi cahaya dalam bentuk berkas foton. Terdapat berbagai penelitian mengenai penggunaan laser dalam perawatan kulit, terutama dalam peremajaan kulit untuk mencegah dan sebagai terapi penuaan kulit. Penerapan laser untuk prosedur medis berdasarkan prinsip selektif fototermolisis telah meningkat selama dua dekade terakhir. Prinsip dasar dari prosedur ini adalah pemanasan selektif dicapai dengan penyerapan sinar laser yang menghasilkan panas pada kromofor target dan panas hanya dilokalisasi ke target dengan durasi yang lebih pendek daripada waktu relaksasi termal jaringan.²²

Laser *resurfacing* telah terbukti efektif dalam melawan *photoaging* melalui proses penyusutan kolagen ablasi epidermal, stimulasi neokolagenesis, *remodeling* dermal, regenerasi organel seluler dan perlekatan antarsel.¹ Mekanisme kerja *laser resurfacing* adalah denaturalisasi kolagen dermal yang selektif dan diinduksi panas yang mengarah pada sintesis reaktif berikutnya.⁹ Teknologi laser terkini

seperti laser *fractional CO₂*, dan erbium-YAG semakin banyak digunakan untuk kasus-kasus penuaan kulit karena memberikan hasil terapi yang efektif dengan *down time* minimal dan risiko efek samping seperti eritema, hipo atau hiperpigmentasi, infeksi, dan jaringan parut yang lebih rendah.¹

Bagi pasien yang menginginkan pendekatan fotorejuvenasi yang kurang agresif dibandingkan dengan *resurfacing* kulit dengan laser ablatif, penggunaan laser non-ablatif merupakan pilihan yang menjanjikan untuk pasien yang bersedia menerima perbaikan klinis sederhana untuk kemudahan pengobatan dengan risiko efek samping yang lebih minimal.²³

Faktor Eksogen – Diet, Nutrisi, Kebiasaan Merokok, dan Olah raga

Strategi lain untuk menjaga agar kulit tetap sehat adalah pasien tetap diedukasi untuk menghindari faktor-faktor eksogen yang dapat menyebabkan penuaan kulit dengan memperbaiki gaya hidup, seperti menghentikan kebiasaan seperti merokok, mengatasi stres, mengurangi paparan polusi dan radiasi UV, pembatasan diet, melakukan aktivitas fisik seperti berolah raga secara rutin, dan memonitor kesehatan secara umum.¹²

KESIMPULAN

Penuaan adalah proses yang terjadi secara alami dari setiap tubuh manusia, termasuk kulit yang menunjukkan tanda-tanda yang terlihat dari penampilan luar. Strategi anti-penuaan kulit merupakan terapi kompleks yang bertujuan untuk mencegah dan melawan tanda-tanda penuaan kulit dan terdiri dari berbagai pendekatan holistik. Pencegahan penuaan kulit dapat dicapai dengan penggunaan tabir surya sebagai fotoproteksi, penggunaan kosmetik topikal yang mencegah dan mengobati tanda-tanda penuaan kulit, serta mengkonsumsi terapi sistemik untuk menghambat penuaan kulit. Intervensi atau prosedur kosmetik seperti *chemical peeling*, mikrodermabrasi, injeksi toksin botulinum, *dermal filler*, dan laser telah terbukti secara ilmiah membantu dalam mencegah dan mengatasi tanda-tanda penuaan kulit. Tidak ada satu terapi yang dapat mengatasi semua keluhan dan tanda penuaan kulit, modalitas terapi untuk penuaan kulit dapat dikombinasikan untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal. Selain melakukan perawatan kulit, pasien tetap diedukasi untuk menghindari faktor-faktor eksogen yang dapat menyebabkan penuaan kulit dengan memperbaiki gaya hidup, seperti menghentikan kebiasaan seperti merokok, mengatasi stres, mengurangi paparan polusi dan radiasi UV, pembatasan diet, melakukan aktivitas fisik seperti berolah raga secara rutin, dan memonitor kesehatan secara umum agar tetap bugar dan sehat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ganceviciene, R., Liakou, A.I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., Zouboulis, C. Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*. 2012; 4(3): 308-19.
2. Jusuf, N.K. Kulit Menua. *Majalah Kedokteran Nusantara*.. 2005; 38(2): 184-8.

3. Yaar, M., Eller, M.S., Glichrest. Fifty years of skin aging. *JID Symposium Proceedings*. 2002; : 51-8.
4. Rabe, J.H., Mamelak, A.J., McElgunn, P.J.S., Morison, W.L., Sauder, D.N. Photoaging: Mechanisms and repair. *J Am Acad Dermatol*. 2006; 55: 1-9.
5. Vuagnat, H. Skin aging: a global health challenge. *EMWA*. 2016; 16(1): 45-7.
6. Mackiewicz, Z., Rimkevicius, A. Skin Aging. *Gerontologija*. 2008; 9(2): 10-8.
7. Longo, C. Casari, A., Beretti, F., Cesinaro, A.M., Pellacani, G. Skin aging: In vivo microscopic assessment of epidermal and dermal changes by means of confocal microscopy. *J Am Acad Dermatol*. 2013; 68: e73-82.
8. Chung, J.H., Hanft, V.N., Kang, S. Aging and photoaging. *J Am Acad Dermatol*. 2003; 49: 690-7.
9. Mane, S., Vunchurkar, K., Khan, M., Sainy, J. Skin anti-aging strategies: a review. *International Journal of Engineering Applied Sciences and Technology*. 2019; 4(7): 255-63.
10. Mohiuddin, A.K. Skin Aging & Modern Age Anti-aging Strategies. *Global Journal of Medical Research*. 2019; 19(2): 15-25.
11. Zouboulis, C.C., Gancevuciene, R., Liakou, A.I., Theodoridis, A., Elewa, R., Makrantonaki, E. Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. *Clinics in Dermatology*. 2019; 37: 365-72.
12. Tejasswini, R. Treatment Strategies in the Management of Proactive Skin Health and Anti-Aging Improvement – A Review. *Clinical Dermatology Open Access Journal*. 2020; 5(3): 1-9.
13. Zhang, S., Duan, E. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplantation*. 2018; 27(5): 729-38.
14. Domoulin, M., Gaudout, D., Lemaire, B. Clinical effects of an oral supplement rich in antioxidants on skin radiance in women. *Dovepress*. 2016; 9: 315-24.
15. Tominaga, K., Hongo, N., Fujishita, M., Takahashi, Y. Protective effect of astaxanthin on skin deterioration. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*. 2017; 61(1): 1-7.
16. Small, R. Aesthetic Procedures in Office Practice. *American Family Physician*. 2009; 80(11): 1231-7.
17. Soleymani, T., Lanoue, J., Rahman, Z. A Practical Approach to Chemical Peels – A Review of Fundamentals and Step-by step Algorithmic Protocol for Treatment. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2018; 11(8): 21-28.
18. Fernandes, M., Pinheiro, N.M., Creama, V., Mendonca, A.C. Effects of microdermabrasion on skin rejuvenation. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*. 2013; 16(1): 21-9.
19. Small, R. Botulinum Toxin Injection for Facial Wrinkles. *American Family Physician*. 2014; 90(3): 168-75.
20. Akinbiyi, T., Othman, S., Familusi, O., Calvert, S., Card, E.B., Percec, I. Better Results on Facial Rejuvenation with Fillers. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2020; 8(10): 1-12.
21. Sanches-Carpintero, I., Candelas, D., Ruiz-Rodriguez, R. Dermal Fillers: Types, Indications, and Complications. *Actas Dermosifiliogr*. 2010; 101(5): 381-93.
22. Beigvand, H.H., Razzaghim M., Nejad, M.R., Tavirani, M.R. Assessment of Laser Effects on Skin Rejuvenation. *J Lasers Med Sci*. 2020; 11(2): 212-9.
23. Ibrahimi, O.A., Saedi, N., Kilmer, S.L., Laser-based Treatment of the Aging Face for Skin Resurfacing: Ablative and Non-ablative Lasers. *Aesthetic Surgical Procedures*. 2015; 19(5): 549-60.

THE ROLE OF NUTRITION IN OBESITY PREVENTION AND TREATMENT

Prof. Dr. dr. I Wayan Weta, MS, SpGK (K)

Department of Clinical Nutrition Faculty of Medicine Udayana University / Sanglah General Central
Hospital Denpasar Bali
wy_weta@unud.ac.id

ABSTRACT

Overweight and obesity are globally increasing sharply. The chronic low grade inflammation condition in obese patient initiate early aging process through induce several metabolic degenerative disease such cardiovascular, many kind of cancer, diabetes mellitus, multi organ failures.

Obesity could be protected with balance nutrition diet to meet body requirement. The food with low energy density that contain complex carbohydrate, low fat are encouraged. Other wise food with high density of energy should be limited. The food source of vitamins, minerals and antioxidant should be taken in enough portion.

Nutrition therapy for overweight and obesity is addressed to macronutrients carbohydrate, fat and protein to performed negative energy balance with restricting intake energy, or increasing energy output. There are two kinds of restricted energy applied namely low calories diet (1200-1800 kcal/day), and very low calories diet (less than 800 kcal/day). The low calories diet is divided into low fat, and the low carbohydrate, with aim to prevent the insulin resistance and dyslipidemia. Very low calories diet should be under doctor intensively supervised. The micronutrients (vitamin, mineral) and functional food must in adequate intake to control the chronic inflammation. There are some food pattern applied in restricting energy, such as mediterranean, Therapeutic lifestyle diet (TLC), DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), Ketogenic (modified Atkins) diet, Ornish diet, Paleo diet, Vegetarian or vegan diet, Intermittent fasting / time restricted eating.

Obesity, balanced diet, low calories diet, very low calories diet, antioxidant.

INTRODUCTION

Worldwide obesity has nearly tripled since 1975. More than 52% of adults aged 18 years and over 39% were overweight, 13% were obese in 2016. Overweight and obesity kills more people than underweight (WHO, 2021).

Adipose cells in obesity stimulate adaptive immunity, recruit the immune cells and secrete more inflammatory adipokine to induce low grade chronic inflammatory. This condition initiated many several chronic degenerative metabolic diseases such as cardiovascular, diabetes mellitus, many various of cancer, neurologic disease, pulmonary disease, metabolic and endocrine disorder, autoimmune disorder, bone and joint chronic inflammation (Arulselvan et al 2016). The risk for these noncommunicable diseases increases, with increases in BMI.(WHO, 2021).

As clinical consequences, obesity promotes adiposopathic “Aging”, initiate with dysregulated nutrient sensing, impact on increased of blood sugar, blood pressure and lipid profile. This condition induced atherosclerosis and endothelial dysfunction, increased risk of cardiovascular disease, dysfunction of multi organs, and the end increased of disease burden, pharmacy and disabilities (Bays et al, 2021). Since 2012, cardiovascular diseases (mainly heart disease and stroke), was the leading cause of death (WHO, 2021).

Obesity and its problems

The fundamental risk factor of obesity is the imbalance of energy intake with energy requirement. The energy intake in daily diet pattern over the requirement, that caused increased of calories deposit in form of adipose tissue. Adipose tissue in obesity not only the organ to deposit fat as energy reserve, but also as endocrine organ that release proinflammatory adipokine, such as TNF- α , IL-6, to induce the chronic inflammatory condition. The condition stimulates the initiation of pathogenic process of many chronic degenerative metabolic diseases.

Role of Nutrition in Prevention of Obesity

Obesity is preventable disease, if it keeps the balanced diet pattern. The intake energy should be equal to the requirement. To keep balance energy intake to requirement, regulate the macronutrient such as carbohydrates, fat and sugar sources of energy are very important. We must choose the low density energy of food but rich in micronutrient such as vitamins, mineral, and antioxidant-anti-inflammation, or the functional food. Low calories density food usually come from natural food that contain complex carbohydrates. Otherwise, high energy density food much come from processed food, that contain simple sugar, high fat, and refined carbohydrates.

Role of Nutrition Therapy in Obesity

The obesity medical association (OMA), released the Obesity Algorithm 2021, that recommended the management of obesity should be applied comprehensive and integrated approach, consist of nutrition intervention, physical activity, behavior therapy, pharmacotherapy, and bariatric procedures (Bays et al, 2021).

Nutrition therapy in obesity is addressed to restricted energy, to performed negative energy balance. There are two kind of resrected energy diet in nutrition therapy of obesity, namely low energy diet contain 1200-1800 kcal, and very low kalori dit with less than 800 kcal per day. The low calories diet in two pattern as low fat calories diet and low carbohydrates diet depend on patient condition and the aims of therapy in normalised blood glucose or lipid profile of the patient.

The very low calories diet suold be under doctor supervision, because of hig risk of ketosis. This diet not recommended applied in longterm.

To control the chronic inflammation in obesity, intake of micronutrients; vitamines, mineral, phenolic compound and n-3 PUFA as an antioxidant and anti-inflammatory nutrientsshould be adequate. So do, intake of fiber especially soluble fiber must at less 5-10 gram per day.

N-3 PUFA (fish oil) has the effect to netralised high energy intake from carbohydrat anda fat, through the path way to blocked the lipogenesis process and induced betha oxidation of fatty acid. N-3 PUFAalso relaase the ant-inflammatory eicosanoid (Prostaglandine-3), againt proinflamatory prostaglandine-2, to control inflammation state, this also tobe control the blood glucose and inhibite insulin resistance (Pahlavani et al, 2017).

Evidence from our study, supplementation of low ratio of n-6/n-3 PUFA in young obese Blinese women for three months, significant reduce body weight (BMI), waist circumference, plasma triglycerides concentration, and the lipid accumulation product (Weta et al 2020). The study intervention was effective in prevent insulin resistance through maintained of blood sugar conentration (Weta et al 2017a). The study also significant controled the inflammation state with reduced concentration of TNF- α , and induced concentration of IL-10, and also reduce the severity of liver steatosis (Weta, et al, 2017b).

There are many of diet pattern applied as restricted energy diet to treat obesity such as the mediteranian diet, the Therapeutic lifestyle diet, DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension), Ketogenic (modified Atkins) diet, Ornish diet, Paleo diet, Vegetarian or vegan diet, Intermittent fasting / time restricted eating and the Commercial diet programs.

CONCLUSION

There are sharply increase of obesity morbidity in the world, with it impact on complex health problem. The fundamental risk of obesity is imbalance of higher energy intake than the requirement.

Nutrition has important role in prevent and treat obesity. Balance nutrients intake equal to the requirement is the key to prevent obesity.

Nutrition therapy ini obesity is addressed restricted energy intake uder the requirement, and adequate of micronutrient intake; vitamines, minerals, and other functional food.

REFERENCES

Arulselvan P, Fard MT, Tan WS, Gothai S, Fakurazi S, Norhaizan ME, Kumar SS. Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:5276130. doi: 10.1155/2016/5276130. Epub 2016 Oct 10. PMID: 27803762; PMCID: PMC5075620.

Bays HE, McCarthy W, Burrige K, Tondt J, Karjoo S, Christensen S, Ng J, Golden A, Davisson L, Richardson L. Obesity Algorithm eBook, presented by the Obesity Medicine Association. www.obesityalgorithm.org. 2021. <https://obesitymedicine.org/obesity-algorithm-powerpoint/> (Accessed = 31/01/2022)

Pahlavani M, Ramalho T, Koboziev I, LeMieux MJ, Jayarathne S, Ramalingam L, Filgueiras LR, Moustaid-Moussa N. Adipose tissue inflammation in insulin resistance: review of mechanisms mediating anti-inflammatory effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Investig Med*. 2017 Oct;65(7):1021-1027. doi: 10.1136/jim-2017-000535. Epub 2017 Sep 27. PMID: 28954844; PMCID: PMC7561007.

Weta, I., Sutirtayasa, I., Subawa, A., Malik, S. 2017(a). Supplementation 2000mg and 1000mg of linoleic acid and alfa linolenic acid delayed pre diabetic state in Balinese young obese women: A Randomised Clinical Trial. *Bali Medical Journal* 6(3): S55-S60. DOI:10.15562/bmj.v6i3.721

Weta I, W., M. T. Gb, W. P. Sutirtayasa, A. A. N. . Subawa, S. G. Malik, and P. E. Widyadharma I (b). "SUPPLEMENTATION WITH 2:1 RATIO OF N-6:N-3 POLYUNSATURATED FATTY ACID IMPROVES LIVER STEATOSIS AND SERUM CYTOKINE LEVELS IN YOUNG OBESE BALINESE WOMEN: A RANDOMIZED CLINICAL TRIAL". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 10, no. 12, Dec. 2017, pp. 74-79, doi:10.22159/ajpcr.2017.v10i12.20851.

Weta I. W, Sutirtayasa W. P, Sucipta W. C, Malik S. G, Subawa A. A. N, Widyadharma I. P. E. Supplementation of Low Ratio n-6:n-3 PUFA Reduces Body Fatness in Young Obese Balinese Women: A Randomized Study with Optimized Energy Regulation. *Curr Res Nutr Food Sci* 2020; 8(2). doi : <http://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.2.24>

WHO, Obesity feature, 2021

Notes :

- Author, Affiliation and Email ; One Spacing
- Other than that specified 1,5 Spacing

Enough Sleep to Control Brain Functions

Dr. dr. Thomas Eko P, SpS(K)

Departemen Neurologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana

Abstrak

Tidur yang cukup baik kualitas maupun kuantitasnya diperlukan untuk fungsi fisiologis normal tubuh seperti halnya makan dan minum. Kurang tidur dapat menyebabkan terganggunya berbagai fungsi tubuh, antara lain : sistem saraf, sistem imun, kardiovaskuler, respirasi, gastrointestinal, endokrin, estetika, depresi, dan sebagainya.

Tidur berperan penting dalam proses pertumbuhan terutama pada anak, pemulihan jaringan tubuh yang rusak, membuang racun-racun, regulasi fungsi imun, konsolidasi memori dan berbagai fungsi vital lainnya.

Pada prinsipnya proses tidur dibagi menjadi 2 phase, yaitu fase *non rapid eye movement* (non REM) dan REM, fase non REM terdiri dari 4 stage yang masing-masing berlangsung 10-15 menit, sedangkan fase REM berlangsung selama 10 menit atau lebih, setelah fase REM kembali ke siklus non REM lagi dan seterusnya. Dalam satu malam siklus tidur bisa berlangsung 4-7 kali. Gangguan tidur pada fase REM dapat menyebabkan terjadinya gangguan suasana hati dan depresi. Pada fase REM terjadi *reverse learning process* artinya pembalikan dari proses belajar, informasi yang tidak berguna bagi tubuh akan dibuang.

Kebutuhan tidur manusia bervariasi tergantung umur dan individu, paling tidak diperlukan tidur 7 jam sehari untuk menghasilkan *performance* dan kualitas hidup yang bagus. Selama tidur terjadi proses restorasi dan *healing* serta pengaturan keseimbangan bahan kimia dalam otak, terjadi pembentukan sinaps baru yang membantu perbaikan memori. Kurang tidur dapat mengakibatkan otak mengalami kelelahan sehingga sulit berkonsentrasi atau belajar hal-hal yang baru, koordinasi terganggu dan emosi menjadi tidak stabil. Kurang tidur dapat mengakibatkan otak mengalami kelelahan sehingga sulit berkonsentrasi atau belajar hal-hal yang baru, koordinasi terganggu dan emosi menjadi tidak stabil. Terjadi peningkatan kadar amiloid dalam cairan serebro spinal yang merupakan faktor risiko terjadinya demensia. Dapat terjadi *microsleep* yaitu jatuh

tertidur dalam waktu beberapa detik atau menit tanpa disadari yang sangat berbahaya dan meningkatkan risiko terjadinya kecelakaan lalu lintas. Dalam jangka panjang kurang tidur dapat menyebabkan halusinasi, kecemasan, depresi, paranoid maupun percobaan bunuh diri.

Selama tidur, sistem imun memproduksi bahan-bahan yang bersifat protektif terhadap infeksi seperti misalnya : sitokin. Sitokin dapat memperkuat daya pertahanan tubuh terhadap infeksi bakteri dan virus. Kurang tidur yang berkepanjangan juga dapat meningkatkan risiko terjadinya berbagai penyakit kronis seperti : diabetes dan penyakit jantung.

Produksi hormon juga tergantung pada tidur. Produksi testosteron memerlukan paling sedikit 3 jam tidur terus menerus. Sering terbangun pada malam hari dapat mempengaruhi produksi hormon. Tidur membantu produksi *Growth Hormon* yang diperlukan untuk membentuk massa otot dan memperbaiki kerusakan sel dan jaringan. Hormon utama yang dipengaruhi oleh kurang tidur antara lain adalah kortisol, insulin dan melatonin.

Tidur juga penting untuk kesehatan jantung dan pembuluh darah termasuk kadar gula darah, tekanan darah dan proses inflamasi. Orang yang kurang tidur meningkatkan risiko terjadinya serangan jantung dan stroke.

Ringkasan : tidur adalah kebutuhan biologi dasar yang sangat penting untuk kesehatan, *performance*, keselamatan dan kualitas hidup manusia. Tidur yang cukup diperlukan untuk fungsi normal otak.

Prevention and Treatment Dementia

Dr.dr. A.A.Ayu Putri Laksmidewi, Sp.S(K)

Departemen/KSM Neurologi FK Unud/ RSUP Prof.I.G.N.G. Ngoerah, Divisi Neurobehavior.

Abstrak

Keluarga pasien demensia seringkali bertanya-tanya, apakah kondisi saya ini bisa disembuhkan? Apakah keluarga saya semuanya akan menjadi Alzheimer?

Demensia merupakan suatu sindroma penurunan fungsi intelektual yang menurun cukup berat dibandingkan sebelumnya yang menyebabkan gangguan pada aktivitas sosial dan profesional dilihat pada ADL yang terganggu, dapat ditemukan adanya perubahan perilaku dan tidak disebabkan oleh delirium atau gangguan psikiatri mayor. Beberapa hal yang diduga berhubungan dengan AD, usia, faktor risiko vaskuler, Mild Cognitive Impairment (MCI), riwayat cedera kepala, riwayat keluarga, genetik, faktor risiko lainnya diduga terlibat seperti asam folat, thiamin, inflamasi kronik, defisiensi B-12, terpapar aluminium, pestisida, hiperhomosisteinemia.

Assistive Technology/ Telecare/ Adaptive AIDS. Teknologi alat bantu sebagai suatu hal, produk, sistem atau peralatan yang dapat digunakan untuk mempertahankan, meningkatkan atau memperbaiki kemampuan fungsional dari seseorang yang mengalami gangguan kognitif, fisik maupun komunikasi. Perangkat elektronik untuk menandai pelacakan seperti teknologi Global Positioning System (GPS). Teknologi baru pemantauan demensia disebut sebagai *Cognitive Assistive Technologies*, sebagai contoh *the Cognitive Orthosis for Assisting Activities at Home* (COACH) contoh contoh praktis dibuat untuk penderita dalam kegiatannya di rumah, COACH digabung dengan *Artificial Intelligence* (AI) dan *the Internet of Things* (IoT). The Gloucester Smart Home, sebuah prototipe awal untuk penderita demensia yang dipadukan dengan monitor, pencari barang dan papan pesan digital untuk petunjuk visual dan verbal. Pengasuhan adalah target utama dari teknologi terhadap demensia.

Program kegiatan terstruktur neurorestorasi, latihan fisik sebagai bagian dari terapi nonfarmakologi. Kegiatan rekreasi. Pengobatan dan pencegahan yaitu sebelum terjadi full demensia, terdapat beberapa stadium yang dapat dideteksi melalui perubahan pada biomarkers dalam cairan serebrospinal dan brain imaging metabolik. Pengobatan dini pada stadium stadium diatas dengan PMP (pengobatan modifikasi penyakit)/ DMT (Disease-modifying Treatments).

* Departemen/KSM Neurologi FK Unud/ RSUP Prof.I.G.N.G. Ngoerah, Divisi Neurobehavior.

**Dibawakan pada acara NASWAAM 2023, Prime Plaza Sanur, tanggal 10 Februari 2023.

ANCHORING THREAD FEAT FLOATING THREAD

RIGHT LAYER OF IMPLANTATION

Dr. dr. Teguh Tanuwidjaja, M.Biomed (AAM)

*Center for Study of Anti-Aging Medicine
Indonesian Center for Anti-Aging Medicine*

Threadlifting is quite popular nowadays. With simple procedure and almost no downtime, patient tends to choose this treatment to lift and tighten their skin. There is two kinds of thread as divided by their fixation, which are anchoring and floating thread. Those two fixation methods has their own best cases but the combination of those two can give us a better lifting and tightening effect especially on a very sagging skin. As per we know, thread needs to be implanted at the right layer of the skin so it can grip the fat compartment.

AESTHETIC INTERVENTION: BETWEEN MEDICAL OR NON-MEDICAL COMPETENCE

Dr. dr. Teguh Tanuwidjaja, M.Biomed (AAM)

*Center for Study of Anti-Aging Medicine
Indonesian Center for Anti-Aging Medicine*

Aesthetic medicine is growing rapidly these past few years. On top of that, many new professions have emerged in this field. Paramedic, non medical, and medical staffs have their own competence. The boundary needs to be cleared so we can conclude which competence is it. Specifically for medical competence, there is several ways to get a certificate of competence. Sticking to the law, every non medical staff shouldn't be acted as a medical one to ensure patient's safety.

PENGARUH EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) TERHADAP KETEBALAN EPITEL VAGINA PADA TIKUS MODEL MENOPAUSE

¹Diah Ayu Suwitari

Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
e-mail: ayusuwitari173@student.unud.ac.id

^{2*}I Wayan Sugiritama, ³IGA Dewi Ratnayanti, ⁴IA Ika Wahyuniari

²Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia

*Email: sugiritamafk@unud.ac.id

³Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia

Email: ratnayanti@unud.ac.id

⁴Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: ikawahyuniari@unud.ac.id

Abstrak—Menopause merupakan kondisi wanita mengalami penurunan hormon estrogen yang mengakibatkan terjadinya penipisan epitel vagina. Senyawa antosianin yang ditemukan dalam kulit buah *Hylocereus Polyrhizus* dilaporkan memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen dan antioksidan sehingga berpotensi untuk memperbaiki atrofi vagina. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah tikus model menopause yang diberikan ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus Polyrhizus* memiliki tebal epitel yang lebih tinggi dibandingkan kontrol. Penelitian ini merupakan studi in vivo dengan desain *experimental post test only with control group* menggunakan tikus model menopause yang diberikan ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus Polyrhizus*. Sebanyak 30 ekor tikus dibagi menjadi tiga kelompok, yakni kelompok kontrol (P0), kelompok yang diberikan intervensi 60mg/200grBB (P1), dan kelompok yang diberikan intervensi 90mg/200grBB (P2) dengan durasi intervensi selama 30 hari. Pengukuran tebal epitel vagina dilakukan dengan menggunakan aplikasi *ImageJ*. Seluruh analisis data secara statistik menggunakan SPSS ver.20. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan rerata ketebalan epitel pada P0, P1, dan P2 masing-masing sebesar 54,51±16,92 µm; 66,91±17,12 µm; 85,32±19,49 µm. Berdasarkan uji One Way ANOVA, terdapat perbedaan antar kelompok yang bermakna secara statistik ($p = 0,005$). Berdasarkan uji *Post Hoc* LSD, rerata tebal epitel vagina pada P2 lebih tinggi dibandingkan P0 ($p = 0,001$) dan P1 ($p = 0,001$). Namun, tidak didapatkan perbedaan rerata tebal epitel vagina yang bermakna antara kelompok P0 dengan P1 ($p = 0,154$). Sebagai simpulan, rerata ketebalan epitel vagina pada tikus model menopause pada kelompok dengan ekstrak etanol dari kulit buah naga merah (*Hylocereus Polyrhizus*) lebih tinggi dibandingkan kontrol. Didapatkan ketebalan epitel vagina tertinggi pada P2.

Kata kunci—fitoestrogen, antioksidan, *Hylocereus Polyrhizus*, epitel vagina, menopause

I. PENDAHULUAN

Menopause merupakan fase berakhirnya kemampuan bereproduksi seorang wanita yang ditandai dengan berhentinya siklus haid atau menstruasi. Seorang wanita akan dikatakan menopause ketika ia sudah tidak menstruasi selama 12 bulan atau lebih serta tidak disertai oleh penyebab biologis maupun fisiologis yang disengaja. Terjadi penurunan aktivitas atau fungsi dari ovarium sehingga terjadi defisiensi hormon estrogen hingga berhentinya produksi hormon estrogen [1]. Adapun fungsi primer estrogen yakni berperan dalam menimbulkan proliferasi sel dan membantu pertumbuhan jaringan organ-organ seks yang dimediasi dengan ikatannya bersama reseptor estrogen (ER). Terdapat dua tipe reseptor yakni reseptor estrogen *alpha* (ER α) dan reseptor

estrogen *beta* (ER β) [2]. Fungsi lain dari estrogen adalah sebagai antioksidan endogen. Estrogen memiliki aktivitas sebagai *free radical scavengers* [3]. Aktivitas ini dikaitkan dengan keberadaan *phenolic A-ring* dalam struktur molekul hormon estrogen sehingga estrogen diklasifikasikan sebagai antioksidan fenolik [4].

Pada keadaan normal, terdapat tiga lapisan dari sel penyusun epitel vagina yakni lapisan sel basal, lapisan sel intermediate, dan lapisan sel superfisial. Lapisan sel-sel ini akan mengalami diferensiasi mulai dari sel basal hingga sel superfisial [5]. Sel basal memiliki ciri khas bentuk sel yang silindris dengan nukleus yang besar. Kemudian, sel intermediate memiliki ciri khas bentuk oval dengan kesan sitoplasma yang lebih jernih karena menyimpan glikogen yang banyak. Terakhir, sel superfisial memiliki ciri khas yakni bentuk sel yang pipih dengan nukleus yang sudah mati [6]. Struktur histologi pada epitel vagina wanita menopause dapat berubah karena penurunan estrogen. Estrogen semestinya berperan dalam menjaga struktur jaringan melalui ikatannya dengan ER dan perannya sebagai antioksidan endogen. Keadaan ini menyebabkan penipisan epitel vagina pada wanita menopause [7]. Terapi terbaik untuk mencegah penipisan epitel vagina pada wanita menopause ialah mengembalikan kadar hormon estrogen dalam tubuh atau terapi sulih hormon (TSH) [8]. Namun, TSH masih kontroversial untuk digunakan karena dikatakan mampu meningkatkan potensi kanker payudara, endometrium, dan ovarium bagi wanita yang melakukan terapi hormon [9]. Dengan demikian, alternatif lain yang lebih aman dalam penanganan atrofi epitel vagina pada wanita menopause harus ditemukan. Alternatif yang dapat digunakan adalah penggunaan bahan yang bersifat fitoestrogen dan antioksidan seperti antosianin yang terkandung dalam kulit buah naga merah atau *Hylocereus polyrhizus* sehingga dikatakan berpotensi dalam menangani atrofi vagina pada kondisi menopause [10].

II. METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni dengan *randomized post-test only control group design* pada hewan coba yang sudah diberi persetujuan oleh komisi etik penelitian FK Unud. Subjek penelitian ini menggunakan tikus betina sehat *strain* Wistar dewasa sehat dengan berat sekitar 180 - 220 gram yang sebelumnya sudah melalui ovariectomi bilateral yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Subjek tersebut dibagi menjadi 3 kelompok dengan jumlah sampel di masing-masing kelompok dihitung menggunakan rumus Federer sehingga didapatkan jumlah sampel per kelompok adalah 9 ekor dan penambahan 1 ekor sebagai risiko *drop out*. Dengan demikian, akumulasi jumlah tikus yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor yang kemudian diacak penempatan kelompoknya. Kelompok terbagi atas P0 sebagai kelompok kontrol negatif yakni kelompok tikus ovariectomi yang diberi pakan standar dan normal saline 1 mL/ hari, P1 merupakan kelompok tikus ovariectomi yang diberi pakan standar dan ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB/hari selama 30 hari, dan P2 merupakan kelompok tikus ovariectomi yang diberi pakan standar dan ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 90mg/200grBB/hari selama 30 hari.

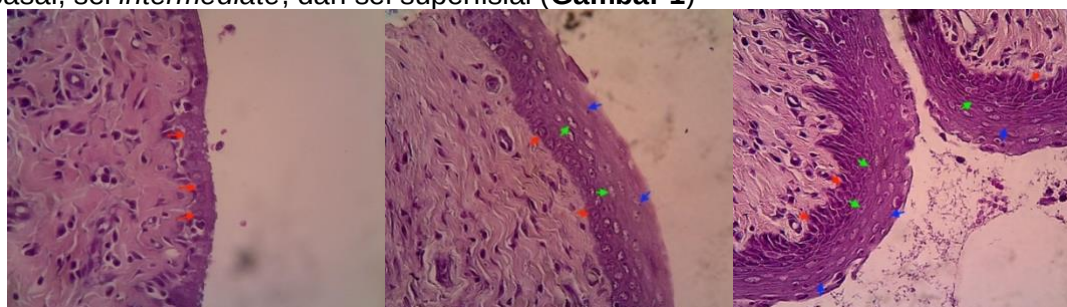
Pembuatan ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diperoleh melalui maserasi simplisia dengan larutan etanol 96%, dengan rasio 1:7 selama 3 hari serta diaduk sebanyak 2 kali sehari. Maserat kemudian disaring dan diuap dengan *rotary evaporator* sehingga ekstrak kental kulit buah naga merah akhirnya dapat diperoleh. Prosedur ovariectomi pada tikus wistar betina akan dilaksanakan menggunakan metode Ingle DJ dan Grith JQ yang sudah dimodifikasi. Selanjutnya, tikus akan diberi istirahat selama 7 hari dengan pemberian pakan standar serta akuades pasca prosedur ovariectomi dan dilanjutkan dengan pemberian intervensi ekstrak kulit buah naga merah selama 30 hari. Organ vagina dari tikus diambil pada hari ke-31 dan subjek diterminasi dengan layak.

Sampel vagina yang digunakan adalah sampel yang melalui pewarnaan hematoxilin-eosin (HE). Tiap preparat kemudian dilihat di bawah mikroskop cahaya dan difoto dengan perangkat lunak *OptiLab* dengan pembesaran 400x pada tiga lapang pandang guna melihat ketebalan epitel vagina. Pengukuran ketebalan epitel pada tiap sampel jaringan epitel vagina dilakukan dengan program *ImageJ* dalam satuan mikrometer (μm). Setelah pengukuran, didapatkan satu subjek yang memiliki ketebalan epitel vagina dengan nilai ekstrim dari setiap kelompok. Sehingga subjek tersebut dieliminasi sehingga didapatkan jumlah sampel pada masing-masing kelompok adalah 9 ekor. Hasil tersebut dianalisis menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *IBM SPSS Statistics 20.0*.

Analisis yang dilakukan meliputi uji deskriptif untuk menilai rerata dari setiap kelompok, uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, serta uji homogenitas dengan *Levene's Statistics*. Data dari uji tersebut ditemukan terdistribusi dengan normal dan bersifat homogen sehingga dilanjutkan dengan uji komparabilitas menggunakan *One Way ANOVA*, dan terakhir uji *Post Hoc LSD* guna melihat perbandingan antara dua kelompok.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pemeriksaan histologis, ditemukan sel-sel yang menjadi penyusun dari lapisan epitel vagina berupa tipe sel berlapis pipih. Adapun beberapa lapisan yakni lapisan sel basal, sel *intermediate*, dan sel superfisial (**Gambar 1**)



Gambar 1. (kiri) Gambaran Histologi Jaringan Epitel Vagina dengan Perbesaran 400x pada Kelompok Kontrol, terdapat kesan lapisan sel basal yang lebih dominan daripada lapisan sel lainnya (panah merah); **(tengah)** kelompok Perlakuan Dosis 60mg/200grBB (b), terdapat lapisan sel basal (panah merah), adanya lapisan sel intermediate (panah hijau), serta lapisan sel superfisial (panah biru); **(kanan)** Kelompok Perlakuan 90mg/200grBB, terdapat lapisan sel basal (panah merah), adanya lapisan sel intermediate (panah hijau), serta lapisan sel superfisial (panah biru)

Berdasarkan hasil uji deskriptif (**Tabel 1**), didapatkan rerata ketebalan jaringan epitel vagina pada subjek kelompok P0 adalah $54,51 \pm 16,92 \mu\text{m}$, kelompok subjek P1 adalah $66,91 \pm 17,12 \mu\text{m}$, dan kelompok subjek P2 adalah $85,32 \pm 19,49 \mu\text{m}$.

Tabel 1. Rerata tebal epitel vagina tiap kelompok

Kelompok	N	Rerata	Standar deviasi
P0	9	54,51	16,92
P1	9	66,91	17,12
P2	9	85,32	19,49

Berdasarkan uji bivariat, uji komparabilitas antar kelompok menggunakan uji statistik parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar kelompok yang bermakna secara statistik ($p = 0,005$). Uji lanjut *Post Hoc LSD* menunjukkan adanya perbedaan rerata tebal epitel vagina yang bermakna antara kelompok P0 dengan P2 ($p = 0,001$) serta antara kelompok P1 dengan P2 ($p = 0,001$). Namun tidak didapatkan perbedaan rerata tebal epitel vagina yang bermakna antara kelompok P0 dengan P1 ($p = 0,154$) (**Tabel 2**).

Tabel 2. Hasil uji menggunakan *Post Hoc LSD* terhadap tiga kelompok subjek

Kelompok Uji	IK 95%		Nilai p
	Minimum	Maksimum	
P0 vs P1	5,00	29,79	0,154
P0 vs P2	13,41	48,21	0,001
P1 vs P2	1,01	35,81	0,001

Berdasarkan hasil analisis, dilaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah memengaruhi ketebalan epitel vagina pada tikus model menopause. Ekstrak etanol kulit buah naga merah mampu memberi efek terhadap ketebalan epitel vagina pada tikus

model menopause disebabkan oleh adanya aktivitas fitoestrogen dan antioksidan pada ekstrak etanol kulit buah naga merah. Aktivitas tersebut dimediasi oleh adanya kandungan senyawa antosianin yang tergolong sebagai flavonoid pada ekstrak tersebut. Adapun perbedaan rerata antara kelompok subjek dalam penelitian ini sejalan dengan temuan sebuah penelitian yang menggunakan ekstrak etanol ubi jalar ungu yang juga mengandung antosianin [7]. Penelitian lain yang menggunakan antosianin untuk menilai ketebalan epitel vagina pada tikus putih juga menemukan hal serupa dimana didapatkan bahwa kelompok yang mendapat intervensi antosianin dengan dosis 80 mg/KgBB/hr (P3) memiliki hasil rerata tebal epitel vagina yang paling tinggi dan kelompok kontrol memiliki hasil rerata tebal epitel vagina yang paling rendah [10]. Terdapat pula penelitian yang menggunakan ekstrak pegagan, daun beluntas, dan daun wangu yang mengandung flavonoid dalam mengevaluasi tebal epitel vagina pada tikus model menopause juga melaporkan adanya peningkatan ketebalan epitel vagina [11], [12].

Berdasarkan temuan-temuan tersebut, maka dapat disimpulkan bahwa kandungan antosianin yang termasuk dalam famili flavonoid mampu meningkatkan ketebalan epitel vagina dibandingkan kelompok kontrol. Penipisan sel epitel vagina berawal dari ketika wanita memasuki fase menopause. Wanita menopause akan mengalami suatu keadaan dimana kadar estrogen di dalam tubuhnya akan menurun sehingga dapat menimbulkan masalah pada organ reproduksi wanita. Vagina merupakan organ reproduksi wanita yang sensitif terhadap penurunan kadar estrogen dalam tubuh dikarenakan memiliki banyak reseptor estrogen ($ER\alpha$ dan $ER\beta$). Ketika estrogen menurun maka interaksi antara estrogen dan reseptor estrogen menurun sehingga sintesis materi sel juga akan berkurang dan menyebabkan penipisan sel epitel vagina [10].

Antosianin yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah naga merah mampu berperan sebagai fitoestrogen dan meminimalisir penipisan epitel vagina pada tikus model menopause. Mekanisme antosianin sebagai fitoestrogen melibatkan peningkatan ekspresi $ER\alpha$ yang memiliki peran dalam proliferasi, stratifikasi, dan karnifikasi sel epitel vagina sehingga berujung terhadap peningkatan tebal epitel vagina [13]. Selain itu, efek fitoestrogen dari antosianin juga memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap $ER\beta$ dimana ikatan tersebut mampu meningkatkan ketebalan dari jaringan epitel secara keseluruhan [7].

Selain sebagai fitoestrogen, antosianin juga berperan sebagai antioksidan. Radikal bebas telah diketahui berkaitan dengan apoptosis jalur intrinsik termasuk apoptosis sel epitel vagina. Oleh karena itu, pemberian antosianin sebagai antioksidan dapat melindungi sel dari apoptosis akibat dari radikal bebas melalui mekanisme yang melibatkan peningkatan ekspresi *B-cell lymphoma-2* (BCL-2) yakni sebuah protein anti apoptosis. Selain itu, antosianin juga mampu mereduksi protein pro apoptosis serupa *Bad* dan *Bax*. Terlebih lagi, antosianin juga dapat menurunkan ekspresi *caspase 3* yakni protease terkait dengan aktivitas kematian sel [10].

Keterbatasan pada penelitian ini berupa tidak dilakukan uji fitokimia kandungan antosianin terhadap ekstrak etanol kulit buah naga merah. Namun, studi lain melaporkan bahwa dosis antosianin 80 mg/KgBB/hari memiliki efek paling optimal untuk meningkatkan ketebalan epitel [10].

IV. KESIMPULAN

Adapun kesimpulan pada penelitian ini bahwa rerata ketebalan epitel vagina pada tikus model menopause oleh pemberian ekstrak etanol dari kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) lebih tinggi dibandingkan kontrol. Ditemukan pemberian ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan dosis 90mg/200grBB memiliki efek paling optimal dalam meningkatkan ketebalan epitel vagina pada tikus model menopause. Adapun sebagai saran, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek samping dan efektifitas jangka panjang oleh ekstrak terhadap jaringan epitel vagina, terlebih lagi pada subjek manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada seluruh pihak yang terlibat dalam seluruh proses penelitian ini, khususnya ... yang berkontribusi besar dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] J. Hall, *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Elsevier, 2011.
- [2] L. Sherwood, *Human Physiology From Cells to System*, 9th ed. Boston: Cengage Learning, 2016.
- [3] C. Borrás, J. Gambini, R. López-Grueso, F. V Pallardó, and J. Viña, "Direct antioxidant and protective effect of estradiol on isolated mitochondria.," *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1802, no. 1, pp. 205–211, Jan. 2010.
- [4] K. Prokai-Tatrai, P. Perjesi, N. M. Rivera-Portalatin, J. W. Simpkins, and L. Prokai, "Mechanistic investigations on the antioxidant action of a neuroprotective estrogen derivative.," *Steroids*, vol. 73, no. 3, pp. 280–288, Mar. 2008.
- [5] L. C. U. Junqueira, *Junqueira's basic histology : text and atlas*. New York: Mcgraw-Hill Education, 2016.
- [6] D. J. Anderson, J. Marathe, and J. Pudney, "The structure of the human vaginal stratum corneum and its role in immune defense.," *Am. J. Reprod. Immunol.*, vol. 71, no. 6, pp. 618–623, Jun. 2014.
- [7] J. Yuwono, W. Sugiritama, G. N. Mayun, and W. J. Sumadi, "Efek pemberian ekstrak ethanol ubi jalar ungu (Ipomoea batatas L) terhadap ketebalan dan diferensiasi sel epitel vagina tikus betina yang mengalami ovariectomi di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana periode Oktober-Desember 20," *E-Jurnal Med. Udayana*, vol. 7, no. 5, pp. 203–210, 2018.
- [8] I. W. Sugiritama and I. N. Adiputra, "Potensi Antosianin Dalam Manajemen Menopause," *J. Kesehat. Andalas*, vol. 8, no. 1, p. 158, 2019.
- [9] M. S. Perkins, "Investigating the mechanism of action of hormones used in hormone replacement therapy via estrogen receptor subtypes and the influence of the progesterone receptor," no. March, 2018.
- [10] C. S. Ferdina, R. Ratnawati, and S. Andarini, "Pengaruh Antosianin terhadap Ketebalan Epitel, Indeks Apoptosis dan Ekspresi p53 Sel Epitel Vagina pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Ovariectomi," *J. Ners dan Kebidanan (Journal Ners Midwifery)*, vol. 6, no. 2, pp. 126–133, 2019.
- [11] L. Suhargo, S. P. A. W., and A. Hayati, " Effects Leaf Ethanol Extract of *Graptophyllum pictum* L. Griff. to Inhibit Vaginal Atrophy of Menopausal Mouse ," *Proc. 7th Int. Conf. Biol. Sci. (ICBS 2021)*, vol. 22, no. Icbs 2021, pp. 460–463, 2022.
- [12] B. Muchtaromah, A. Mubdah, and B. Prahardika, "Effect of Pegagan and Beluntas Combination on Diestrus Length and Proliferation of Vaginal Epithelium on *Rattus norvegicus*," no. June 2022, 2020.
- [13] Rusnaldi, Shalahuddin, and Rajuddin, "Peran fitoestrogen sebagai terapi alternatif pada menopause," vol. 22, no. 3, pp. 187–197, 2022.

Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Yang Diberi Pakan Tinggi Kolesterol

¹Maria Eka Patri Yulianti,

^{1,2}Departemen Biologi Program Studi Kedokteran
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Bengkulu.
Bengkulu, Indonesia
Mariaekapy18@gmail.com*

²Maylan Zahari, ³Besly Sinuhaji,

^{2,3}Laboratorium Rumah Sakit Bhayangkara Kota Bengkulu.
Bengkulu, Indonesia.

⁴Meiny Suzery, ⁵Neni Susilaningsih, ⁶Suhartono, Endang Mahati⁸, Ari
Suwondo⁹, Udadi Sadhana¹⁰

^{1,4,5,6,7,8,9,10}Program Studi Doktor Ilmu Kesehatan dan Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
Semarang, Indonesia

Abstrak-Kolesterol adalah senyawa lemak dalam tubuh manusia, lemak ini berguna bagi tubuh bila kadarnya normal dan tidak berlebih, bila kadarnya berlebih makan akan menyebabkan peningkatan resiko penyakit diabetes melitus. Labu siam (*Sechium edule*) dikenal masyarakat sebagai sayuran yang mudah didapat dan digunakan sebagai bahan masakan. Hasil skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah labu siam mengandung kalsium, niasin, alkaloid, flavonoid dan kardenolin/bufadienol. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis bagaimana pengaruh ekstrak buah labu siam (*sechium edule*) terhadap pemulihan kadar glukosa darah pada tikus putih yang diberi pakan tinggi kolesterol. Penelitian ini menggunakan studi eksperimental dengan rancangan *posttest with control group design*. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok P0 yang diberi Aquades, P1 diberi kolesterol, P2 diberi kolesterol, ekstrak 0,25 mg/kgBB, P3 kolesterol, ekstrak 0,5 mg/kgBB, P4. Diberi kolesterol, ekstrak 0,75 mg/kgBB selama 4 minggu perlakuan, kadar glukosa darah diperiksa, kemudian tikus dieutanasia. Hasil analisis menunjukkan bahwa rata-rata kadar gula darah kelompok kontrol negatif (P0) yaitu 116,67 $\mu\text{mol/L}$, sedangkan kelompok kontrol positif (P1) merupakan yang tertinggi yaitu 345,57 $\mu\text{mol/L}$, kelompok P2 (Pemberian Ekstrak labu siam 0,25mg/KgBB) yaitu 243,43 $\mu\text{mol/L}$, P3 (Pemberian ekstrak ekstrak labu siam 0,5 mg/KgBB) yaitu 160,29 $\mu\text{mol/L}$ dan yang terendah adalah kelompok kontrol P4 (Pemberian ekstrak labu siam 0,75mg/Kg/BB) yaitu 116,29 $\mu\text{mol/L}$. Pemberian pakan tinggi kolesterol dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar gula darah. Serta pada penelitian ini didapatkan bahwa pemberian ekstrak buah labu siam dengan dosis 0,75 mg/KgBB memberikan efek paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah setelah diberikan pakan tinggi kolesterol.

Kata Kunci: Kolesterol, labu siam dan kadar glukosa

1) PENDAHULUAN

Kadar glukosa darah dipengaruhi oleh faktor endogen dan eksogen. Faktor endogen yaitu *humoral factor* seperti hormon insulin, glukagon, kortisol; sistem reseptor di otot dan sel hati. Faktor eksogen antara lain jenis dan jumlah

makanan yang dikonsumsi serta aktivitas fisik yang dilakukan. Seiring arus globalisasi menyebabkan terjadinya perubahan pola hidup yang cenderung mengacu pada gaya hidup tidak sehat. Konsumsi makanan siap saji (*junk food*) dan makanan instan semakin meningkat di kalangan masyarakat Indonesia, selain itu terjadinya peningkatan kesibukan kerja menyebabkan adanya kecenderungan untuk mengurangi aktivitas fisik seperti olah raga [1]

Berdasarkan survei yang dilakukan oleh organisasi kesehatan dunia (WHO) pada tahun 2010, bahwa penderita diabetes melitus (DM) di Dunia diperkirakan sebanyak 171.000.000 penduduk dunia. Khususnya pada negara berkembang dengan jumlah angka penderita DM meningkat sekitar 85 % pada usia 25 tahun, sedangkan di Asia Tenggara bahwa angka kejadian penderita kadar gula darah 4,5 juta penderita. Berdasarkan survei kementerian kesehatan Republik Indonesia diagnosis dokter di usia diatas 15 tahun, menunjukan 2013 dan 2018 prevalensinya di Indonesia meningkat 2% sedangkan di Bengkulu juga mengalami kenaikan yang cukup signifikan [2]

Diabetes Melitus menurut *World Health Organization* (WHO) adalah penyakit kronis yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur glukosa darah), atau bila tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya [3]. Riset kesehatan dasar (Riskesdes) tahun 2007 dan 2013 melakukan wawancara untuk menghitung proporsi diabetes melitus pada usia 15 tahun ke atas, didefinisikan sebagai diabetes melitus jika pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter atau belum pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter tetapi dalam 1 bulan terakhir mengalami gejala sering lapar, sering haus, sering buang air kecil dengan jumlah yang banyak dan berat badan turun. Hasil wawancara tersebut mendapatkan bahwa proporsi diabetes melitus pada Riskesdes 2013 meningkat hampir dua kali lipat dibandingkan tahun 2007. Kolesterol adalah senyawa lemak dalam tubuh manusia, lemak ini berguna bagi tubuh bila kadarnya normal dan tidak berlebih, bila kadarnya berlebih makan akan menyebabkan peningkatan resiko penyakit diabetes melitus [4]

Indonesia memiliki beragam tanaman obat yang dapat dimanfaatkan dalam bidang kesehatan. Obat tradisional adalah obat yang turun-temurun digunakan oleh masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit tertentu dan dapat diperoleh secara bebas di alam. Indonesia kaya akan pengetahuan mengenai pengobatan tradisional. Hampir setiap suku bangsa di Indonesia memiliki pengetahuan dan cara tersendiri mengenai pengobatan tradisional, sebelum dituliskan ke dalam naskah kuno, pengetahuan tersebut diturunkan secara turun-temurun melalui tradisi lisan. Obat tradisional pada saat ini banyak digunakan karena menurut beberapa penelitian tidak terlalu menyebabkab efek samping, karena masih bisa dicerna oleh tubuh. Perkembangan obat tradisional dan pengobatan tradisional saat ini berkembang pesat sekali khususnya obat tradisional yang berasal dari tumbuh-tumbuhan. Hal ini bisa kita lihat semakin banyaknya bentuk-bentuk sediaan obat tradisional dalam bentuk kemasan yang sangat menarik konsumen [5]

Labu siam (*Sechium edule*) dikenal masyarakat sebagai sayuran yang mudah didapat dan digunakan sebagai bahan masakan. Hasil skrining fitokimia dan kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah labu siam (*Sechium edule*) mengandung kalsium, niasin, alkaloid, saponin, kardenolin/bufadienol dan flavonoid [6].

Menurut penelitian yang dilakukan Yudha menyatakan bahwa ekstrak buah labu siam dosis dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna [7]. Penelitian yang dilakukan oleh Putri menyatakan bahwa ekstrak buah labu siam dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna [8]

Berdasar hasil penelitian-penelitian sebelumnya tentang kandungan dan khasiat buah labu siam, maka peneliti akan melakukan uji efektivitas ekstrak buah

labu siam dapat menurunkan kadar gula darah. Diharapkan hasil penelitian ini bisa menjadi bukti ilmiah bahwa labu siam memiliki khasiat menurunkan gula darah. Selain itu, dengan bertambahnya penelitian lebih lanjut akan membuktikan bahwa labu siam dapat digunakan sebagai obat untuk menurunkan kadar gula dalam darah.

2) SUBJEK DAN METODE

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control grup design*. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif dan 3 kelompok perlakuan.

Subjek penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley sebagai hewan coba. Subyek penelitian dipilih secara acak menggunakan metode *simple random sampling*, kemudian dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Ciri-ciri galur ini yaitu berwarna albino putih, bertubuh panjang dengan kepala lebih sempit, telinga yang tebal dan pendek dengan rambut halus, mata berwarna merah, serta ekor yang lebih panjang daripada panjang badan [9]

Rattus norvegicus L. dipilih dengan beberapa pertimbangan: 1) memiliki saluran pencernaan tipe monogastrik seperti manusia; 2) memiliki volume lambung yang cukup besar yaitu 3-5mL dengan volume maksimal dalam sekali pemberian mencapai 1 mL, sedangkan mencit hanya sekitar 0,25 mL. Galur Sprague Dawley dipilih karena memiliki sifat yang tidak terlalu agresif dibanding tikus Wistar [9].

3) HASIL

3.1. Data Sampel Penelitian

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) jantan galur Sprague Dawley berusia 8-10 minggu dengan berat badan 180-200 g. Jumlah tikus yang digunakan sebanyak 31 tikus. setiap kelompok perlakuan terdiri dari 4 kelompok 7 ekor tikus dan 1 kelompok 3 ekor tikus. Tikus diadaptasi selama 7 hari selanjutnya diberikan pemberian kolesterol selama 3 minggu dan pemberian ekstrak labu siam selama 1 minggu.

Kelompok perlakuan terdiri dari P0 (Kontrol negatif), P1 (Kontrol positif), P2 (Pemberian ekstrak labu siam 0,25 mg/KgBB/Hari), P3 (Pemberian ekstrak labu siam 0,5 mg/KgBB/Hari), P4 (Pemberian ekstrak labu siam 0,75 mg/KgBB/Hari). Perlakuan ekstrak buah labu siam dilakukan selama 7 hari pada hari ke 22 hingga hari ke 28. Pada hari ke 29 dilakukan pengambilan darah melalui mata (Pre Orbital).

Pada penelitian ini terdapat dua ekor sampel penelitian yang mengalami kematian sebelum perlakuan, tetapi sampel yang mengalami kematian digantikan dengan sampel cadangan yang diberi perlakuan sama sejak awal dimulai penelitian. Sampel darah yang diambil adalah 31 sampel dibagi dengan 2 peneliti lain, peneliti mengambil sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan glukosa darah, peneliti lain mengambil sampel darah untuk dilakukan pemeriksaan Malondialdehid dan profil Lipid pada sampel hewan coba.

3.2 Pemeriksaan Kadar Gula Darah

Kadar gula darah dilakukan uji kimia analyzer yang dilakukan di rumah sakit Bhayangkara kota Bengkulu. Kadar gula darah selanjutnya dilakukan analisis data. Data kadar gula darah dilakukan uji normalitas didapatkan hasil $p > 0,05$ menunjukkan data berdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji homogen dan didapatkan hasilnya $p = 0,093$ atau $p > 0,05$ menunjukkan data kadar gula darah

mempunyai varian yang homogen. Dari hasil data berdistribusi normal dan homogen maka dapat dilanjutkan uji *one-way* ANOVA untuk melihat adanya perbedaan kadar gula darah yang bermakna dari beberapa kelompok perlakuan.

Tabel 4. 1 Data Kadar Gula Darah

Kelompok	N	Kadar Gula Darah (<i>mean</i> $\pm$ SD) (mg/L)	P
P0	3	116,67 $\pm$ 8,083 μ mol/L	0,000*

Keterangan: P0= kontrol negatif

P0 (kontrol negatif) tidak dilakukan analisis data dikarenakan kelompok p0 tikus putih yang tidak mencukupi untuk dilakukan uji analisis.

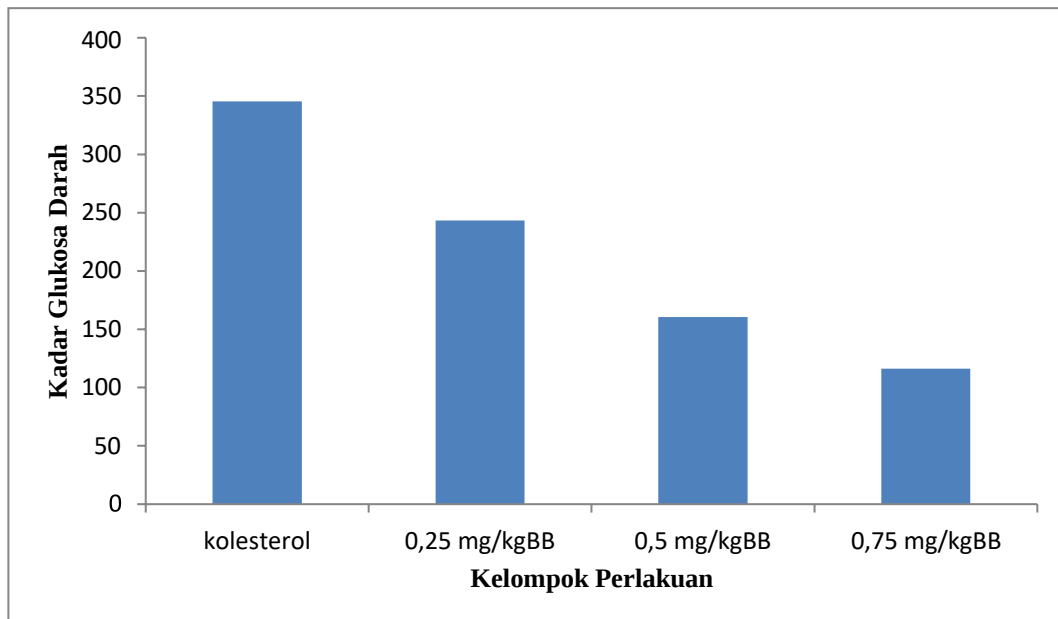
Tabel 4. 2 Data Kadar Gula Darah

Kelompok	N	Kadar Gula Darah (<i>mean</i> $\pm$ SD) (mg/L)	P
P1	7	345,57 $\pm$ 18,627 μ mol/L	0,000*
P2	7	243,43 $\pm$ 18,645 μ mol/L	
P3	7	160,29 $\pm$ 11,814 μ mol/L	
P4	7	116,29 $\pm$ 9,322 μ mol/L	

Keterangan: P1= kontrol positif P2= perlakuan I (Ekstrak labu siam 0,25 mg/KgBB); P3= perlakuan II (Ekstrak labu siam 0,50 mg/KgBB); P4= perlakuan III (Ekstrak labu siam 0,75mg/KgBB).

Nilai rata-rata kadar gula darah pada kelompok normal (P0) adalah 116,67 $\pm$ 8,083 μ mol/L. Nilai tersebut menunjukkan standar nilai rata-rata kadar gula darah pada tikus dalam keadaan normal. Nilai rata-rata kadar gula darah kelompok yang hanya diberikan kolesterol (P1) menunjukkan nilai paling tinggi yaitu 345,57 $\pm$ 18,627 μ mol/L. Setelah pemberian kolesterol selama 21 hari hewan coba diberikan terapi dengan ekstrak labu siam selama 7 hari dan terjadi penurunan rata-rata kadar gula darah pada kelompok dosis ekstrak labu siam 0,25 mg/kgBB (P2) yaitu 243,43 $\pm$ 18,645 μ mol/L dan rata-rata kadar gula darah pada kelompok dosis ekstrak labu siam 0,5 mg/KgBB (P3) yaitu 160,29 $\pm$ 11,814 μ mol/L dan pada rata-rata kadar gula darah pada kelompok terakhir dengan dosis pemberian ekstrak labu siam 0,75/KgBB (P4) yaitu 116,29 $\pm$ 9,322 μ mol/L.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian pakan kolesterol mampu meningkatkan kadar gula darah, dengan meningkatnya kolesterol tersebut akan menghasilkan beberapa zat yang digolongkan sebagai adipositokin. Zat tersebut menyebabkan resistensi terhadap insulin. Akibat resistensi insulin, sehingga gula di dalam darah tinggi, sedangkan terapi ekstrak labu siam pada kelompok P2,P3, dan P4, menunjukkan penurunan nilai rata-rata kadar gula darah, karena adanya antioksidan dalam ekstrak labu siam yang menghambat kadar gula darah dalam tubuh.



Gambar 4. 1 Data Kadar Gula Darah

Pada hasil uji *post hoc* tukey HSD dicantumkan dalam bentuk grafik diatas, menunjukan bahwa kelompok P1 (pemberian kolesterol) dan P2 (Pemberian ekstrak Labu siam dosis 0,25mg/gBB) serta kelompok P3 (Pemberian ekstrak Labu siam dosis 0,5mg/KgBB) memiliki perbedaan yang signifikan. Sedangkan kelompok P0 (kelompok Normal) , P4 (Pemberian ekstrak Labu siamdosis 0,75 mg/KgBB) tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Berdasarkan grafik 4.1 diketahui bahwa kelompok yang memiliki perbedaan bermakna kadar gula darah adalah antara kelompok P0 dan P1, kelompok P0 dan P2 kelompok P0 dan P3, kelompok P1 dan P2, kelompok P1 dan P3, kelompok P1 dan P4, kelompok P2 dan P3, kelompok P2 dan P4, kelompok P3 dan P4. Dibandingkan dengan kelompok perlakuan P4 tidak memiliki perbedaan yang bermakna dan memiliki kadar gula darah yang mendekati kelompok kontrol negatif (P0).

Berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa pemberian kolesterol dalam jangka panjang akan mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar gula darah sehingga akan menghasilkan beberapa zat yang digolongkan sebagai adipositokin. Zat tersebut menyebabkan resistensi terhadap insulin. Akibat terjadinya resistensi insulin, sehingga gula di dalam darah tinggi atau hiperglikemi [10]. Peningkatan indeks massa tubuh (IMT) menyebabkan meningkatnya timbunan lemak bebas yang tinggi yang akhirnya dapat memicu oksidasi lemak yang menghambat penggunaan glukosa dalam otot [11]. Selain itu, pada individu dengan kelebihan berat badan atau obesitas ditemukan peningkatan kadar hormon leptin. Hal tersebut dapat menyebabkan resistensi insulin, yaitu dengan cara menghambat fosforilasi *insulin receptor substrate-1* (IRS-1), sehingga ambilan glukosa terhambat dan meningkatkan kadar glukosa darah [12]. Temuan ini didukung oleh penelitian lain yang menyebutkan kenaikan kadar trigliserida dan kolestrol berkaitan erat dengan peningkatan kadar glukosa darah [13].

Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak labu siam mengalami penurunan kadar gula darah yang dikarenakan kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalam ekstrak labu siam, yaitu flavonoid, niasin, kalsium dengan Aktivasi kanal ion kalsium saat depolarisasi sel β pankreas berlangsung Sehingga Ion kalsium masuk ke sel β pankreas dan merangsangsekresi insulin

dari granulanya dan Proses glikogenesis (glukosa menjadi glikogen) sehingga dapat menurunkan kadar gula darah.

4) PEMBAHASAN

4.1 Hasil Pemeriksaan Kadar Gula Darah

Berdasarkan analisis uji statistik yang dilakukan, data kadar gula darah pada setiap kelompok berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$. Dengan uji Levene juga didapatkan $p = 0,093$ karena nilai $p > 0,05$ maka data menunjukkan bahwa data pada setiap kelompok homogen. Kemudian dilakukan uji bivariat *one-way ANOVA* didapatkan hasil bahwa ada perbedaan antar kelompok sampel dilihat dari kadar gula darah. Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar gula darah kelompok kontrol negatif (P0) yaitu 116,67 $\mu\text{mol/L}$, Sedangkan kelompok kontrol positif (P1) merupakan yang tertinggi yaitu 345,57 $\mu\text{mol/L}$. Berturut-turut kelompok P2 (Pemberian Ekstrak labu siam 0,25mg/KgBB) yaitu 243,43 $\mu\text{mol/L}$, P3 (Pemberian ekstrak labu siam 0,5 mg/KgBB) yaitu 160,29 $\mu\text{mol/L}$ dan yang terendah adalah kelompok kontrol P4 (Pemberian ekstrak labu siam 0,75mg/KgBB) yaitu 116,29 $\mu\text{mol/L}$.

Peningkatan kadar gula darah berhubungan dengan pemberian pakan kolesterol pada hewan coba. Pemberian kolesterol pada hewan coba dapat mengakibatkan terjadinya peningkatan gula darah, berdasarkan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa pemberian kolesterol dalam jangka panjang akan mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar gula darah sehingga akan menghasilkan beberapa zat yang digolongkan sebagai adipositokin. Zat tersebut menyebabkan resistensi terhadap insulin. Akibat terjadinya resistensi insulin, sehingga gula di dalam darah tinggi atau hiperglikemi [10]. dan peningkatan indeks massa tubuh (IMT) menyebabkan meningkatnya timbunan lemak bebas yang tinggi yang akhirnya dapat memicu oksidasi lemak yang menghambat penggunaan glukosa dalam otot [11]. Selain itu, pada individu dengan kelebihan berat badan atau obesitas ditemukan peningkatan kadar hormon leptin. Hal tersebut dapat menyebabkan resistensi insulin, yaitu dengan cara menghambat fosforilasi *insulin receptor substrate-1* (IRS-1), sehingga ambilan glukosa terhambat dan meningkatkan kadar glukosa darah [12]. Temuan ini didukung oleh penelitian lain yang menyebutkan kenaikan kadar trigliserida dan kolesterol berkaitan erat dengan peningkatan kadar glukosa darah [13]. hal ini dibuktikan dengan hasil data statistik yang dilakukan pada hewan coba yang masing masing kelompoknya diberikan kadar kolesterol 200mg/KgBB selama 3 minggu dan pada kelompok P1 yang dijadikan sebagai kontrol positif didapatkan kadar gula darah rata-rata 345,57 $\mu\text{mol/L}$.

Penurunan kadar gula darah pada kelompok yang diberikan perlakuan ekstrak labu siam (*Sechium edule*). Berdasarkan uji fitokimia kuantitatif menunjukkan bahwa ada kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid. Metabolit sekunder memiliki berbagai macam peran diantaranya flavonoid sebagai antioksidan mencakup: aktivasi kanal ion kalsium saat depolarisasi sel β pankreas berlangsung Sehingga Ion kalsium masuk ke sel β pankreas dan merangsang sekresi insulin sehingga dapat menurunkan kadar gula darah.

Flavonoid dapat merangsang efek insulin yang dinyatakan lemah dalam beberapa cara, misalnya, dengan mempengaruhi phosphokinase protein. Selain itu, flavonoid juga memiliki aktivitas hipoglikemik atau penurunan kadar glukosa darah dengan menghambat enzim-enzim penting yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida yang dapat diserap oleh usus yaitu enzim alfa dan enzim alfa glukosidase. Penghambatan pada kedua enzim tersebut berakibat terganggunya proses pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida sehingga tidak dapat diserap oleh usus. Dengan demikian, kadar

glukosa darah tidak meningkat [14].

Berdasarkan tabel 4.1 diketahui bahwa perbandingan kadar gula darah tiap kelompok memiliki perbedaan bermakna pada setiap kelompok dengan perlakuan yang berbeda-beda. Pada hasil uji Tukey HSD pada tabel 4.1 diketahui bahwa kelompok P1 (Kontrol Positif) dengan kadar rata-rata 345,57 $\mu\text{mol/L}$ menjadi kelompok yang memiliki kadar gula darah paling tinggi dibandingkan dengan kelompok perlakuan yang lainnya, pada kelompok kontrol positif jika dibandingkan dengan kelompok P0 (Normal) memiliki perbedaan bermakna pada rata-rata kadar gula darah yaitu 116,67 $\mu\text{mol/L}$. Perbandingan yang dilakukan pada uji statistic ini yaitu perbandingan kelompok normal dengan kelompok perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada kelompok P0 dan P1, Kelompok P0 dan P2, kelompok P0 dan P3, sedangkan kelompok P0 dan P4 tidak memiliki perbedaan bermakna karena nilai kadar gula darah rata-rata pada kelompok P4 yaitu 116,29 $\mu\text{mol/L}$ menunjukkan nilai yang hampir sama dengan kelompok P0 yaitu 116,67 $\mu\text{mol/L}$.

Pada hasil dari uji statistic yang didapatkan, jumlah pemberian dosis ekstrak labu siam yang paling efektif untuk menurunkan kadar gula darah terhadap tikus putih yang diberi pakan kolesterol dapat dilihat dari hasil uji *post hoc* Tukey HSD. Hasilnya didapatkan bahwa pemberian ekstrak labu siam dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih yang diberi pakan kolesterol dengan dosis bertingkat. Berdasarkan uji tersebut didapatkan bahwa pemberian ekstrak labu siam memiliki efektifitas dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus putih yang diberi pakan kolesterol dengan dengan nilai $p = 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan bermakna dan dibuktikan dengan kadar gula darah kelompok P0 yang menjadi kontrol negatif dan menjadi standar kadar gula darah terhadap kelompok yang diberi perlakuan dengan rata-rata 116,67 dibandingkan dengan kadar gula darah kelompok P1 yang menjadi kelompok kontrol positif dengan rata-rata 345,57 $\mu\text{mol/L}$ dan dibandingkan dengan kelompok P2 (ekstrak labu siam 0,25 mg/g BB/hari) dengan nilai rata-rata 243,43 $\mu\text{mol/L}$, kelompok P3 (ekstrak labu siam 0,5 mg/g BB/hari) didapatkan nilai rata-rata 160,29 $\mu\text{mol/L}$, kelompok P4 (ekstrak labu siam 0,75 mg/g BB/hari) didapatkan nilai rata-rata 116,29 $\mu\text{mol/L}$ menunjukan bahwa ada perbedaan kadar gula darah pada masing masing kelompok yang diberikan kadar kolesterol dengan dosis bertingkat. Hal ini menunjukan bahwa kelompok P4 lebih efektif dibandingkan kelompok P3 dan P2 dalam menurunkan kadar gula darah. Berdasarkan pembahasan di atas maka ekstrak labu siam terbukti memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar gula darah tikus putih yang diberi pakan tinggi kolesterol. Pada hasil yang didapatkan diatas menunjukkan bahwa kelompok P0 yang menjadi kelompok kontrol negatif dengan kadar gula darah rata-rata 116,67 $\mu\text{mol/L}$ dan kelompok P4 dengan pemberian ekstrak labu siam dengan dosis 0,75 mg/KgBB dengan kadar gula darah rata-rata 116,29 $\mu\text{mol/L}$, menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar gula darah rata-rata.

Penelitian sebelumnya dengan judul Uji Efektivitas Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Streptozotisin untuk kelompok perlakuan 1 yaitu tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak buah labu siam dengan dosis 21 mg/200gr BB dan pakan standar, Kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan 2 yaitu tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak buah labu siam dengan dosis 42 mg/200gr BB dan pakan standar, Kelompok 6 sebagai kelompok perlakuan 3 yaitu tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak buah labu siam dengan dosis 84 mg/200gr BB dan pakan standar Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak buah labu siam dengan dosis 21 mg/ 200 gramBB, 42 mg/200 gramBB, 84 mg/200 gramBB dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna pada tikus wistar jantan yang diinduksi streptozotisin dan NA (*Nicotinamide*). Perbedaan penurunan kadar glukosa darah yang bermakna terjadi pada kelompok yang diberi ekstrak buah

labu siam dengan dosis 84 mg/200 gramBB apabila dibandingkan dengan kelompok dosis 21 mg/ 200 gramBB dan 42 mg/200 gramBB yaitu sebesar 154,6. dengan kesimpulan Ekstrak buah labu siam dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna, serta dengan dosis ekstrak buah labu siam sebesar 84 mg/200 gramBB lebih efektif dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi streptozotisin dan *Nicotinamide* [7] dan juga penelitian yang dilakukan [8] dengan judul Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan dengan kesimpulan ekstrak buah labu siam dapat menurunkan kadar glukosa darah secara bermakna pada tikus wistar yang diinduksi aloksan. Berdasarkan teori dan hasil penelitian sebelumnya hal tersebut sejalan dengan penelitian ini yang membuktikan bahwa pemberian ekstrak labu siam dengan dosis 0,75 mg/KgBB pada tikus putih yang diberi pakan tinggikolesterol merupakan dosis paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah.

4.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini belum dapat melakukan uji fitokimia kuantitatif dan tidak melakukan pemeriksaan pada organ-organ yang apakah mengalami kerusakan akibat pemberian kolesterol.

5) KESIMPULAN

Pemberian pakan tinggi kolesterol dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar gula darah. Serta pada penelitian ini didapatkan bahwa pemberian ekstrak buah labu siam dengan dosis 0,75 mg/KgBB memberikan efek paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah setelah diberikan pakan tinggi kolesterol. Pada penelitian ini masih dapat dilakukan pemeriksaan lebih lanjut seperti dosis yang diperkecil, melakukan uji fitokimia kuantitatif dan juga bisa mengenai pengaruh ekstrak labu siam terhadap kadar profil lipid pada hewan coba yang diberikan pakan tinggi kolesterol

6) UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada seluruh tim peneliti, pasien dan RS kota atas sarana dan prasarannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] R. Dewi, "Pemeriksaan Kadar Gula Darah Sewaktu pada Masyarakat Dusun Samu Mambal Kabupaten Badung," pp. 1–9, 2012.
- [2] Kementerian Kesehatan RI, "Hasil Utama Laporan Riskesdas 2018," Jakarta, 2018.
- [3] A. Galeffi, M. V. Bertolini, R. L. Bothmann, E. Escolano Rodríguez, D. McGarry, and A. Galeffi, "Statement of International Cataloguing Principles (ICP)," no. December 2016, p. 21, 2017, [Online]. Available: www.ifla.org
- [4] K. W. Gripp, S. Ennis, and J. Napoli, "Exome Analysis in Clinical Practice: Expanding the Phenotype of Bartsocas-Papas Syndrome," *Am. J. Med. Genet. Part A*, vol. 161, no. 5, pp. 1058–1063, 2013, doi: 10.1002/ajmg.a.35913.
- [5] A. P. Soedarya, *Agribisnis Labu Siam*. Bandung: Pustaka Grafika, 2009.
- [6] S. D. Marlina, V. Suryanti, and S. Suyono, "The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.)," *Biofarmasi J. Nat. Prod. Biochem.*, vol. 3, no. 1, pp. 26–31, Feb. 2005, doi: 10.13057/biofar/f030106.

- [7] F. Y. A. Kurniawan, U. Khasanah, and C. S. Sulistiyana, "Uji Efektivitas Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*.) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Streptozotosin," *Tunas Med. J. Kedokt. & Kesehat.*, vol. 4, no. 2, 2018.
- [8] Putri, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan," Universitas Diponegoro, 2016.
- [9] Sirois, *Laboratory Animal Medicine: Principles And Procedures*. USA: Elsevier, 2005.
- [10] S. Hartini and K. Kariadi, *Diabetes ? Siapa Takut!!* Bandung: Mizan Media Utama, 2009.
- [11] H. Purwandari, "Hubungan Obesitas Dengan Kadar Gula Darah Pada Karyawan Di Rs Tingkat Iv," *Ef. Issn. 0854-1922*, vol. 01, pp. 65–72, 2014.
- [12] A. Fathmi, "Hubungan Indeks Massa Tubuh dengan Kadar Gula Darah pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2 di Rumah Sakit Umum Daerah Karanganyar," Universitas Muhammadiyah Surakarta, 2012.
- [13] M. W. Daboul, "A study measuring the effect of high serum triglyceride and cholesterol on glucose elevation in human serum," *Oman Med. J.*, vol. 26, no. 2, pp. 109–113, 2011, doi: 10.5001/omj.2011.27.
- [14] E. Lo Piparo, H. Scheib, N. Frei, G. Williamson, M. Grigorov, and C. J. Chou, "Flavonoids for controlling starch digestion: Structural requirements for inhibiting human α -amylase," *J. Med. Chem.*, vol. 51, no. 12, pp. 3555–3561, 2008, doi: 10.1021/jm800115x.

Low Vitamin D Levels and Risk of Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis

Theressia Handayani^{1*}, Rizaldy Taslim Pinzon^{1,3}, Vincent Ongko Wijaya^{2,3}, Ranbebasa Bijak Buana³

¹Bethesda Hospital, Yogyakarta, Indonesia

²Panti Nugroho Hospital, Yogyakarta, Indonesia

³Duta Wacana Christian University, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding Author: Theressia Handayani; email: theressdr@gmail.com

ABSTRACT

Past studies have reported the relationship between vitamin D levels and cognitive decline, including dementia and Alzheimer's disease (AD). However, these past studies are vary in results on whether vitamin D levels are associated with the risk of AD. This meta-analysis aimed to assess the associations between low vitamin D levels and the risk of AD based on the latest evidences. We systematically searched Pubmed and the additional references for relevant articles according to PRISMA guidelines from inception up to December 2022. Pooled hazard ratio and 95% confidence intervals (CIs) were calculated to determine the risk estimate. Five prospective studies and one cross-sectional study were included in this study. The meta-analysis indicated that patients with vitamin D deficiency (< 25 ng/ml) had a higher risk of AD than patients with adequate vitamin D supply (≥ 25 ng/ml) (HR: 1.59, 95% CI: 1.09, 2.33, $I^2 = 77\%$). Further research is required to provide evidence on whether maintaining adequate vitamin D levels may reduce the risk of AD.

Keywords: *Alzheimer's disease, Deficiency, Vitamin D*

Introduction

Dementia is a severe decline in cognitive ability that interferes with activities of daily living. (1) Alzheimer's disease is defined as a neurodegenerative disease caused by the accumulation of amyloid-beta peptides, usually at the medial temporal lobe and neocortical structures, lead to the formation of neuritic plaques and neurofibrillary tangles. (2) AD is the most common type of dementia, accounting for at least 75 % of dementia cases in the elderly population. Approximately, there are around 50 million AD patients in the world and expected to increase by threefold in 2050. (2) AD puts a heavy burden on healthcare systems around the world, costing about \$81.8 billion each year. (3)

A previous study by Perez-Lopez et al. reported the crucial role of vitamin D in maintaining cognitive function. (4) This finding is also supported by the previous study that states vitamin D receptors are present in the brain regions responsible for memory development and cognitive functions (5) . Vitamin D deficiency may also affect the progression of AD because it roles in neurotrophs, neurotransmission, neuroprotection, and neuroplasticity. (6) Several previous studies have reported the relationship between vitamin D deficiency and cognitive decline, an updated meta-analysis by Chai et al. reported significant associations between vitamin D deficiency and AD, with a stronger association between severe vitamin D deficiency and AD. (7) Other meta-analyses of 25-Hydroxyvitamin D Levels and the risk of AD also reported that Plasma or serum 25-hydroxyvitamin D concentration was inversely related to the risk of AD. (8) The previous meta-analysis

showed that serum vitamin D deficiency or insufficiency was not statistically significant associated with the risk of AD. (9) This finding showed the inconsistent result between past meta-analysis. Thus, we are conducting an updated meta-analysis to assess the associations between low vitamin D levels and the risk of AD.

Methods

This review was conducted according to the Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analysis (PRISMA) guidelines (10).

Literature search and Selection Criteria

Initially, two independent reviewers screened the databases of the included studies on PubMed up to December 2022, using specific keywords: “vitamin D” AND “Alzheimer”. We used the following criteria to identify eligible studies that investigated the association between vitamin D levels and Alzheimer’s disease: (1) observational studies that assessed the relationship between serum vitamin D levels at baseline and patients with AD; (2) studies that reporting risk estimates as hazard ratio (HR) and the corresponding 95% confidence intervals (CIs) of AD. The literatures search were also restricted to English language articles only. The exclusion criteria were as follows: (i) non-original studies, such as meta-analyses, conference papers, comments, or consensus documents; (ii) case reports or case series; (iii) studies assessing other conditions; (iv) incomplete data. The primary outcome was the risk estimates of the serum vitamin D levels and risk of AD.

Data extraction and quality assessment

Two authors independently screened and examined the titles and abstract, followed by full-text review. In the event of disagreement between the two authors, main author would help to resolve the issue and make a final decision. Studies that fulfilled our inclusion criteria were retrieved and additional articles were added based on the bibliography of the articles retrieved through the outlined search strategy. If the reviewers could not reach an agreement, the first author’s will be consulted for the final decision.

We extracted and tabulated the following data: author(s), year of publication, study design, country of origin, 25(OH)D levels, vitamin D assessment method, follow-up duration, and statistical adjustment. The quality of each included studies was assessed using The Oxford Centre for Evidence-Based Medicine Quality ratings and classified the evidence ratings ranged from 1 to 5, with 1 representing high quality studies such as randomized controlled trial (RCT) and 5 representing case reports (11).

Statistical Analysis

All the analyses were performed using Review Manager software (version 5.3). Hazard ratio (HR) with 95% confidence interval (CI) was used as effect size. Heterogeneity among studies was measured by the I² tests, and studies with I² higher than 50% were considered to have high heterogeneity. A Fixed-effects model was used when there was no significant heterogeneity among studies; otherwise, a random effects model was used when data were considered heterogeneous. Two-sided P-values less than 0.05 were considered as a statistical significance (12,13).

Results

Study characteristics

The search strategy initially identified 562 articles. After removal of duplicates and abstract screening, 496 full-text articles were subsequently assessed for its eligibility. Finally, 6 articles (14–19) were included in the final review including 5 prospective studies, and 1 cross sectional. **Figure 1.** shows the PRISMA flow chart of study selection.

This process resulted in selection of 6 studies evaluated the relationship between vitamin D deficiency and AD, involving a total of 10884 participants for the meta-analysis. Of the included studies, first author, publication year, total sample participants, country location,

study design, country of origin, **25(OH)D** levels, **vitamin D assessment method**, **follow-up duration**, and statistical adjustment, study quality level was assessed. The studies included in the meta-analysis were generally of high quality rating (**Table 1**). All of the studies included, observed the risk of AD for those with vitamin D deficiency (< 25 ng/ml).

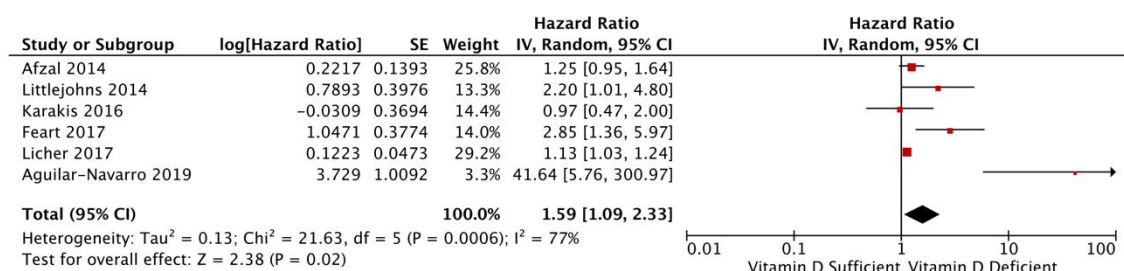


Figure 1. PRISMA flow chart of study selection.

Low Vitamin D status and risk of AD

We performed a meta-analysis based on random effects model to derive a summary estimate of AD risk associated with low vitamin D levels. The meta-analysis indicated that patients with vitamin D deficiency (< 25 ng/ml) had a higher risk of developing AD than patients with adequate vitamin D supply (≥ 25 ng/ml) (pooled HR: 1.59, 95% CI: 1.09, 2.33, $I^2 = 77\%$, **Figure 2**). The I^2 value was greater than 50%, indicating evidence of heterogeneity among the studies.

Figure 2. Association between vitamin D deficiency (serum 25(OH)D < 25 ng/ml) and risk of AD.



Discussion

This meta-analysis provided additional evidence of low vitamin D levels and the risk of Alzheimer's disease. A total of 6 studies were included in this study, involving 10884 participants. The analysis showed that patients with vitamin D deficiency (< 25 ng/ml) had higher risk of AD compared to patients with adequate vitamin D supply (≥ 25 ng/ml). A previous meta-analysis (8) in 2018 reported that there is inverse relation between plasma or serum 25-hydroxyvitamin D concentration to the risk of dementia and AD. This study included ten cohort studies, with a total of 28,640 participants. One year later, a meta-analysis involving twelve prospective cohort studies and four cross-sectional studies reported the same results as the previous meta-analysis that reported a significant associations between vitamin D deficiency and both dementia and AD, with severe vitamin D deficiency (< 10 ng/ml) had stronger association to AD and dementia, compared to moderate vitamin D deficiency (10–20 ng/ml). (7) within the same year, other meta-analyses reported different results. Meta-analyses by Yang K et al. indicated that serum vitamin D deficiency (< 25 nmol/L) or insufficiency (25–50 nmol/L) was not statistically significant and associated with the risk of AD. This study involved six prospective cohort studies with 1607 AD cases. (9)

The pathomechanism of AD may cause by two types of neuropathology changes. The first neuropathology change is a positive lesion due to the accumulation of neurofibrillary tangles, amyloid plaques, and other deposits in the AD patient's brain. The second neuropathology change is due to the loss of neuropil, neural and synaptic. Besides, Other factors such as neuroinflammation and oxidative stress can cause neurodegeneration. (2)

Several studies have reported that vitamin D level has relationship with AD. Vitamin D may play a role in the first neuropathology change by promoting the clearing of amyloid plaques, as reported in animal and human studies (20,21). Vitamin D also prevents cognitive dysfunction via its roles in neuroprotection, neurotrophs, neurotransmission, and neuroplasticity, although its mechanism is still unclear (6). Vitamin D also showed the potential to prevent neuroinflammation by inhibiting the production of TNF- α and IL 6 in in-vitro studies. (22)

This study has some limitations. Firstly, this study included one cross-sectional study, thus increasing the possibility of bias. Secondly, our study focused mainly on the relationship between low vitamin D levels and the risk of Alzheimer's disease. It was unclear whether the vitamin D level had changed in further follow-up. Lastly, the patients involved in this study are mainly from Europe and America. Thus this study may not be applied to the world population.

Conclusion

This meta-analysis provided evidence of low vitamin D levels and the risk of AD. The result of the random effects model analysis indicated that patients with vitamin D deficiency (< 25 ng/ml) had a higher risk of AD than patients with adequate vitamin D supply (≥ 25 ng/ml). Further research is required to provide evidence on whether maintaining adequate vitamin D levels may reduce the risk of AD.

References

1. Arvanitakis Z, Shah RC, Bennett DA. Diagnosis and Management of Dementia: Review. JAMA. 2019 Oct 22;322(16):1589.
2. Breijyeh Z, Karaman R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. Molecules. 2020 Dec 8;25(24):5789.

3. Kelley AS, McGarry K, Gorges R, Skinner JS. The Burden of Health Care Costs for Patients With Dementia in the Last 5 Years of Life. *Ann Intern Med*. 2015 Nov 17;163(10):729–36.
4. Pérez-López FR, Chedraui P, Fernández-Alonso AM. Vitamin D and aging: Beyond calcium and bone metabolism. *Maturitas*. 2011 May;69(1):27–36.
5. Annweiler C, Schott AM, Berrut G, Chauviré V, le Gall D, Inzitari M, et al. Vitamin D and Ageing: Neurological Issues. *Neuropsychobiology*. 2010;62(3):139–50.
6. Anjum I, Jaffery SS, Fayyaz M, Samoo Z, Anjum S. The Role of Vitamin D in Brain Health: A Mini Literature Review. *Cureus*. 2018 Jul 10;
7. Chai B, Gao F, Wu R, Dong T, Gu C, Lin Q, et al. Vitamin D deficiency as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease: an updated meta-analysis. *BMC Neurol*. 2019 Dec 13;19(1):284.
8. Chen H, Xue W, Li J, Fu K, Shi H, Zhang B, et al. 25-Hydroxyvitamin D Levels and the Risk of Dementia and Alzheimer's Disease: A Dose–Response Meta-Analysis. *Front Aging Neurosci*. 2018 Nov 9;10.
9. Yang K, Chen J, Li X, Zhou Y. Vitamin D concentration and risk of Alzheimer disease. *Medicine*. 2019 Aug;98(35):e16804.
10. Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *BMJ*. 2015 Jan 2;349(jan02 1):g7647–g7647.
11. Howick J, Chalmers I, Glasziou P, Greenhalgh T, Heneghan C, Liberati A, et al. The 2011 Oxford CEBM Levels of Evidence. 2011;
12. Higgins JPT, Green S. Medians and interquartile ranges. In: Higgins JPT, Green S, editors. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. 5.1. Oxford: Cochrane Collaboration; 2011.
13. Higgins JPT, Altman DG, Gotzsche PC, Juni P, Moher D, Oxman AD, et al. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011 Oct 18;343(oct18 2):d5928–d5928.
14. Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Reduced 25-hydroxyvitamin D and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia. *Alzheimer's & Dementia*. 2014 May 22;10(3):296–302.
15. Littlejohns TJ, Henley WE, Lang IA, Annweiler C, Beauchet O, Chaves PHM, et al. Vitamin D and the risk of dementia and Alzheimer disease. *Neurology*. 2014 Sep 2;83(10):920–8.
16. Karakis I, Pase MP, Beiser A, Booth SL, Jacques PF, Rogers G, et al. Association of Serum Vitamin D with the Risk of Incident Dementia and Subclinical Indices of Brain Aging: The Framingham Heart Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2016 Mar 15;51(2):451–61.
17. Fear C, Helmer C, Merle B, Herrmann FR, Annweiler C, Dartigues J, et al. Associations of lower vitamin D concentrations with cognitive decline and long-term risk of dementia and Alzheimer's disease in older adults. *Alzheimer's & Dementia*. 2017 Nov 15;13(11):1207–16.
18. Licher S, de Bruijn RFAG, Wolters FJ, Zillikens MC, Ikram MA, Ikram MK. Vitamin D and the Risk of Dementia: The Rotterdam Study. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017 Oct 3;60(3):989–97.
19. Aguilar-Navarro SG, Mimenza-Alvarado AJ, Jiménez-Castillo GA, Bracho-Vela LA, Yeverino-Castro SG, Ávila-Funes JA. Association of Vitamin D with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Dementia in Older Mexican Adults. *Revista de investigación Clínica*. 2019 Dec 17;71(6).
20. Briones TL, Darwish H. Vitamin D mitigates age-related cognitive decline through the modulation of pro-inflammatory state and decrease in amyloid burden. *J Neuroinflammation*. 2012 Dec 25;9(1):727.
21. Masoumi A, Goldenson B, Ghirmai S, Avagyan H, Zaghi J, Abel K, et al. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ Interacts with Curcuminoids to Stimulate Amyloid- β Clearance by Macrophages of Alzheimer's Disease Patients. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2009 Jul 1;17(3):703–17.
22. Lefebvre d'Hellencourt C, Montero-Menei CN, Bernard R, Couez D. Vitamin D₃ inhibits proinflammatory cytokines and nitric oxide production by the EOC13 microglial cell line. *J Neurosci Res*. 2003 Feb 15;71(4):575–82.

Table 1. Baseline Characteristics of Patients in the Included Studies

Authors	Study Type	Country Location	No. of participants, (n)	Age, Median (IQR, y) or Mean $\pm$ SD	Serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] levels, ng/mL	Vitamin D assessment method	Follow-up duration (year)	Study Quality Level	Adjustment
Afzal et al. 2014 (14)	Prospective Cohort	Denmark	352	58	≤ 25 ng/mL	DiaSorin Liaison 25(OH)D TOTAL assay	21	2	age, sex, month of blood sample, smoking status, body mass index, leisure time, work-related physical activity, alcohol consumption, income level, education, baseline diabetes mellitus, hypertension, cholesterol, HDL cholesterol, and creatinine.
Littlejohns et al. 2014 (15)	Prospective Cohort	United States	1658	73.6 (4.5)	≤ 25 ng/mL	liquid chromatography-tandem mass spectrometry	5.6	3	Age, season of vitamin D collection, education, sex, BMI, smoking, alcohol consumption, and depressive symptoms.
Karakis et al. 2016 (16)	Prospective Cohort	United States	1663	72.4	<10 ng/mL	radioimmunoassay	9	3	Age, gender, vascular risk factors (smoking, hypertension, diabetes, prevalent

									cardiovascular disease, and homocysteine), BMI, and vitamin D supplement use.
Feart et al. 2017 (17)	Prospective Cohort	France	916	73.3	≤ 25 ng/mL	one-step immunoassay	12	2	Gender, education, income, depressive symptomatology, number of drugs per day, apolipoprotein E ϵ 4 allele, BMI, practice of physical exercise, diabetes, history of cardiovascular diseases and stroke, hypertension, hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, smoking status, and Mediterranean diet score
Licher et al. 2017 (18)	Prospective Cohort	Netherlands	6087	82.5 $\pm$ 8.6	≤ 25 ng/mL	Electro chemiluminescence binding assay	13.3	2	Age, sex, season of blood collection, BMI, SBP, DBP, educational level, smoking, alcohol use, calcium serum levels, ethnicity, eGFR, TC, HDL, history of DM, HF, stroke, MI, depressive symptoms, outdoor activity, and APOE-4 carrier status.

Aguilar-Navarro et al. 2019 (19)	Cross sectional	Mexico	208	79 ± 1	≤ 20 ng/mL	chemiluminescent microparticle immunoassay	NR	3	Age, sex and years of education.
----------------------------------	-----------------	--------	-----	--------	------------	--	----	---	----------------------------------

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*HYLOCEREUS POLYRHIZUS*) TERHADAP STEATOSIS HEPAR TIKUS MODEL MENOPAUSE

¹Elliana Freya Hernowo

¹Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
ellianafreya@student.unud.ac.id*

²IGK Nyoman Arijana,³ I Wayan Sugiritama, ⁴GA Dewi Ratnayanti

²Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
nyomanarijana@yahoo.com

³Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
sugiritamafk@unud.ac.id

⁴Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
ratnayanti@unud.ac.id

Abstrak-Wanita menopause akan mengalami penurunan hormon estrogen yang diketahui memiliki sifat hepatoprotektif sehingga mampu mencegah terjadinya perlemakan pada hepar. Penurunan kadar estrogen bisa digantikan dengan senyawa fitoestrogen. Kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) diketahui memiliki banyak kandungan antosianin yang terbukti memiliki aktivitas sebagai fitoestrogen. Tujuan penelitian ini adalah melihat perubahan steatosis hepar tikus model menopause dengan pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Penelitian ini merupakan penelitian *randomized post-test control group design* dengan menggunakan tiuga kelompok sampel yang sudah melalui prosedur ovariektomi. Ketiga kelompok adalah kelompok P0 sebagai kontrol tanpa intervensi, P1 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 60mg/200grBB, dan P2 dengan intervensi ekstrak etanol kulit buah naga merah dosis 90mg/200grBB. Didapatkan rerata jumlah sel steatosis per 100 sel hepar tikus model menopause pada kelompok P0, P1, dan P2 adalah $59,1259 \pm 10,0087$; $53,0435 \pm 14,0674$; $41,5001 \pm 10,5814$. Hasil *One Way ANOVA* menemukan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai $p = 0,013$. Hasil uji *Post Hoc LSD* menemukan adanya perbedaan rerata antara kelompok P2 dengan P0 ($p = 0,004$) dan antara P2 dengan P1 ($p = 0,047$). Sedangkan antara P0 dan P1 tidak bermakna ($p = 0,247$). Ekstrak etanol kulit buah *Hylocereus Polyrhizus* memiliki pengaruh terhadap steatosis hepar tikus model menopause. Didapatkan steatosis hepar terendah pada kelompok intervensi 90mg/200grBB.

Kata kunci-*Hylocereus polyrhizus*, *steatosis*, *menopause*, *fitoestrogen*, *hepar*

I. PENDAHULUAN

Menopause merupakan proses fisiologis yang akan dialami oleh tiap wanita pada usia kurang lebih 50 tahun.[1] Menopause didefinisikan sebagai 12 bulan tanpa menstruasi, dengan didahului oleh siklus menstruasi yang tidak teratur selama setahun dan berbagai gejala seperti *hot flashes*, *insomnia*, perubahan suasana hati yang mendadak dan keringat malam.[2] Setelah mengalami menopause, kadar hormon estrogen, terutama estradiol (E2) mengalami penurunan drastis dalam waktu yang singkat.[3] Estradiol diketahui memiliki sifat hepatoprotektif melalui mekanisme yang berkaitan dengan reseptor estrogen alfa yang juga banyak ditemukan di hepar.[4] Estradiol juga berperan sebagai penurun aktivitas lipogenesis melalui berbagai mekanisme dan agen anti-inflamasi.[4]

Kekurangan kadar estradiol diketahui juga dapat memicu penyakit *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD).[5] Prevalensi penyakit NAFLD ditemukan lebih besar pada kelompok wanita (22,9%) dibandingkan pria (18,3%), dengan prevalensi paling tinggi berada di kelompok wanita usia menopause.[6] Komplikasi menopause yang sangat banyak membuat masyarakat beralih ke *hormone replacement therapy* (HRT). Pemberian HRT pada waktu yang lama mampu menimbulkan beberapa komplikasi, dari ringan hingga berat.[7] Oleh karena itu dicari bahan yang mampu menggantikan peran estrogen dan ditemukanlah fitoestrogen, zat dari tumbuhan dengan struktur yang serupa dengan estradiol.[8]

Zat-zat yang termasuk ke dalam fitoestrogen lazim ditemui di buah dan sayur yang sehari-hari dimakan oleh manusia, salah satunya adalah antosianin yang terkandung pada buah naga merah atau *Hylocereus polyrhizus*. Antosianin berperan sebagai pigmen warna pada tumbuhan, sehingga pada buah naga merah yang memiliki warna yang kuat, terdapat kadar antosianin yang tinggi.[9] Selain sebagai fitoestrogen, antosianin juga memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi, sehingga mampu mencegah steatosis menjadi steatohepatitis, fase lanjutan pada NAFLD.[10]

II. METODE

Penelitian ini menggunakan *randomized post-test only control group* yang sudah disetujui oleh komisi etik penelitian FK Unud. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina berusia 3 sampai 4 bulan dengan berat 180-220 gram yang sudah menjalani prosedur ovariectomi bilateral dan memenuhi baik kriteria inklusi maupun eksklusi. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok dengan jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus Federer sehingga diperoleh 9 ekor tiap kelompok. Sebagai upaya antisipasi adanya mencit yang mati, subjek penelitian di setiap kelompok ditambah 1. Kelompok perlakuan adalah P0 sebagai kontrol negatif yang hanya diberikan normal *saline* 1 ml/hari tanpa ekstrak etanol kulit buah naga merah, P1 yang diberikan ekstrak etanol kulit buah naga merah sebanyak 60mg/200grBB/hari, dan P2 dengan pemberian ekstrak dengan dosis 90mg/200grBB/hari. Perlakuan ini dilakukan selama 30 hari.

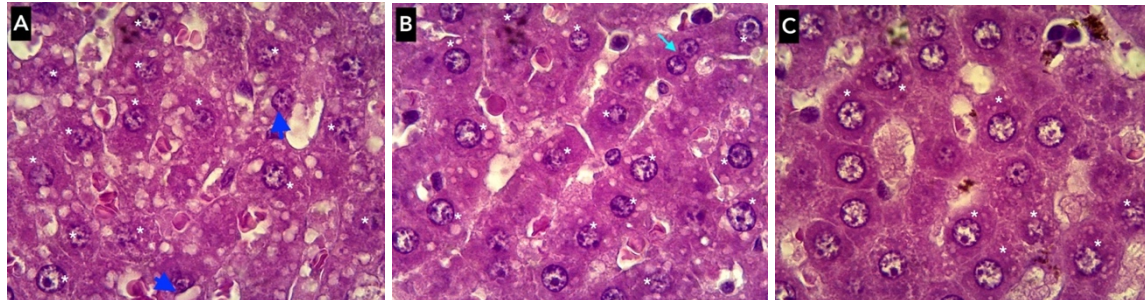
Buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang digunakan berasal dari supermarket di Denpasar dengan kulit yang sudah matang dan berwarna merah. Ekstrak dibuat dengan larutan etanol 96%, dengan rasio 1:7. Pembuatan ini meliputi pemisahan dengan kertas saringan dan penguapan dengan *rotary evaporator* sehingga ekstrak kental kulit buah naga merah diperoleh. Tikus model menopause diperoleh dengan prosedur ovariectomi menggunakan teknik *modified Ingle DJ* dan *Grith JQ*. Sesuai operasi, mencit diberi injeksi gentamisin dengan dosis 60-80mg/kgBB/hari selama 3 hari. Mencit yang sudah diovariectomi diistirahatkan selama seminggu dan diberi pakan standar 20 gram. Kemudian 30 hari berikutnya mencit diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya dan pada hari ke-31 mencit diterminasi. Pada hari kelima usai operasi, satu ekor mencit dari kelompok P0 mati akibat infeksi, namun hepar mencit tersebut masih diambil untuk dilihat di bawah mikroskop.

Sampel hati yang digunakan adalah sampel yang berukuran 1x1x1 yang diwarnai dengan hematoxilin-eosin (HE). Tiap preparat kemudian dilihat di bawah mikroskop cahaya dan difoto dengan perangkat lunak *OptiLab* dengan pembesaran 1000x pada 6 lapangan pandang guna melihat steatosis. Penilaian preparat adalah dengan menghitung jumlah inti sel yang mengalami steatosis, ditandai dengan adanya vakuola lemak berwarna putih pada sitoplasma hepatosit. Angka ini kemudian dibagi dengan jumlah total inti sel yang ada pada 1 lapangan pandang yang sama, sehingga didapatkan proporsi sel steatosis, dan dikali 100 untuk mendapatkan angka sel steatosis per 100 sel. Ketika hepar dari kelompok P0 yang mati di hari ke-5 diamati, didapatkan nilai yang sangat ekstrim. Nilai ekstrim juga didapatkan pada kelompok P1 dan P2, sehingga untuk menjaga distribusi dan signifikansi data, nilai ekstrim tiap kelompok dieksklusi. Dari sini didapatkan 9 sampel per kelompok. Hasilnya kemudian dijadikan persentase, dan dianalisis menggunakan perangkat lunak *Microsoft Excel* dan *IBM SPSS Statistics 25.0*.

Analisis yang dilakukan meliputi uji deskriptif untuk melihat rerata setiap kelompok, uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene's Statistics*. Data ditemukan terdistribusi secara normal dan bersifat homogen, maka dilanjutkan dengan uji komparabilitas menggunakan *One Way ANOVA*, dan terakhir untuk melihat perbandingan antara dua kelompok dilakukan uji *Post Hoc LSD*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah diamati dengan mikroskop cahaya, didapatkan bahwa sel penyusun parenkim hepar adalah hepatosit, dengan bentuk kubus atau kubikal, sitoplasma yang eosinofilik, serta nukleus bulat dengan nukleolus yang jelas, dan terdapat sel binukleus pada beberapa hepatosit (**Gambar 1**). Didapatkan pula steatosis atau perlemakan hepar yang dapat diamati dengan melihat adanya vakuola lemak yang berwarna putih pada sitoplasma.



Gambar 1. Gambaran histologi jaringan parenkim hepar dengan perbesaran 1000x (**A**) kelompok P0 dengan vakuola lemak yang mulai mendorong nukleus (panah biru) dan contoh sel yang mengalami steatosis (bintang putih); (**B**) Kelompok P1 dengan gambaran sel binukleat (panah biru muda) dan contoh sel steatosis (bintang putih); (**C**) Kelompok P2 dengan contoh sel steatosis (bintang putih)

Berdasarkan hasil uji deskriptif (**Tabel 1**) yang dilakukan, didapatkan rerata persentase sel steatosis tertinggi terdapat pada kelompok P0, lalu kelompok P1 dengan dosis 60mg/200grBB/hari, dan kelompok P2 dengan dosis 90mg/200grBB/hari.

Tabel 1. Rerata sel steatosis kelompok subjek

Kelompok	N	Mean (%)	Std. Deviasi (%)
P0	9	59,1259	10,0087
P1	9	53,0435	14,0674
P2	9	41,5001	10,5814

Data tersebut kemudian diuji dengan uji *Shapiro-Wilk* dan ditemukan bahwa semua kelompok data berdistribusi secara normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas dengan *Levene's Statistics* menemukan bahwa data bersifat homogen ($p = 0,349$). Uji komparabilitas antar kelompok dilakukan dengan menggunakan *One Way ANOVA*. Dari uji ini ditemukan bahwa ada perbedaan bermakna antar rerata steatosis ketiga kelompok subjek ($p = 0,013$).

Uji *Post Hoc* LSD mendapatkan bahwa perbedaan rerata sel steatosis hepar antara kelompok P0 dan P1 tidak signifikan. Sedangkan antara P0 dan P2, serta antara P1 dan P2, keduanya memiliki perbedaan rerata yang signifikan (**Tabel 2**).

Tabel 2. Hasil uji menggunakan *Post Hoc* LSD terhadap tiga kelompok subjek

Kelompok Uji	IK 95%		Nilai <i>p</i>
	Minimum	Maksimum	
P0 vs P1	-5,2920	17,4568	0,281
P0 vs P2	6,2513	29,0003	0,004
P1 vs P2	0,1690	22,9179	0,047

Penelitian ini menemukan bahwa tikus model menopause yang kehilangan estrogen selama satu bulan akan mengalami steatosis yang bisa menyebabkan wanita menopause lebih rentan terkena penyakit NAFLD.[11] Steatosis yang berlebihan juga akan menyebabkan stres oksidatif dan inflamasi, mempercepat kondisi pasien masuk ke fase steatohepatitis.[10] Dari penelitian ini, didapatkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah terhadap steatosis tikus model menopause, dilihat dari rerata jumlah sel yang mengalami steatosis paling banyak adalah kelompok P0 atau kontrol negatif

dan rerata sel steatosis terendah ada pada kelompok P2, yang menerima intervensi dengan dosis tertinggi. Penelitian ini memiliki penemuan serupa dengan penelitian lain, dimana pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah dengan dosis 60mg/200grBB setiap harinya selama 8 minggu dan 16 minggu mampu menekan steatosis pada hepar jika dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapat pakan tinggi lemak.[12] Penelitian lain yang menggunakan antosianin yang terdapat pada ubi jalar ungu juga menemukan hasil yang serupa, dimana dosis tertinggi dari ekstrak ubi jalar ungu mampu menekan steatosis hepar yang terjadi.[13]

Dari penelitian-penelitian di atas, dapat ditarik kesimpulan bahwa antosianin yang terdapat pada ekstrak etanol kulit buah naga merah mampu menekan steatosis pada hepar tikus model menopause. Kadar estrogen yang berkurang pada wanita menopause akan berpengaruh besar pada hepar, terutama dalam meningkatkan penumpukan lemak, yang dapat diamati sebagai deposit lemak pada hepatosit.[14] Deposit lemak ini merupakan trigliserida, yang berasal dari asam lemak dan akan berubah menjadi VLDL yang kemudian akan keluar dari hepar.[15] Pada keadaan defisit estrogen, lipogenesis akan meningkat yang ditandai oleh meningkatnya enzim *fatty acid synthase*. Enzim tersebut akan menyebabkan asam lemak lebih banyak terbentuk, berubah menjadi trigliserida hingga akhirnya menjadi deposit lemak di sel hepar.[14] Berkurangnya estrogen juga mampu mengurangi transpor VLDL ke luar hepar yang memerlukan apolipoprotein B100. Ditemukan bahwa apolipoprotein B100 berkurang ketika dalam keadaan defisiensi estrogen dan estrogen mampu meningkatkan tingkat produksi dari apolipoprotein B100.[16]

Antosianin bersifat fitoestrogen karena antosianin mampu berikatan dengan reseptor estrogen, termasuk estrogen alfa yang banyak terdapat pada hepar. Sifat ini yang menyebabkan antosianin mampu menggantikan peran estrogen pada tubuh, termasuk hepar.[8] Akibatnya, lipogenesis mampu ditekan oleh antosianin dan transpor VLDL keluar dari hepar juga meningkat.[14,16] Antosianin pada penelitian lain ditemukan mengurangi pemicu inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan IL-1B, menyebabkan keadaan steatohepatitis dan NAFLD dapat dicegah.[17]

Perbedaan hasil antara kelompok P0, P1, dan P2 disebabkan oleh dosis ekstrak yang berbeda dan hasil yang paling baik ditemukan di kelompok P2. Penelitian lain juga menemukan bahwa kelompok dengan hasil terbaik adalah kelompok dengan dosis ekstrak tertinggi, dikarenakan mengandung lebih banyak senyawa antosianin.[13,18] Selain dosis, diteorikan bahwa durasi pemberian ekstrak juga memiliki peran terhadap jumlah steatosis. Penelitian sebelumnya, dengan perlakuan dosis yang sama namun durasi intervensi yang berbeda, menemukan bahwa kelompok dengan durasi intervensi terpanjang menghasilkan derajat keparahan steatosis yang lebih rendah.[12]

IV. KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil membuktikan bahwa ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang diberikan pada tikus model menopause mampu menurunkan steatosis. Efek dari ekstrak etanol kulit buah naga merah terhadap steatosis hepar paling bisa diamati pada kelompok dengan pemberian dosis 90mg/200grBB/hari. Saran untuk penelitian selanjutnya adalah ditambahkan durasi penelitian, pemilihan dosis ekstrak yang lebih tinggi, dan penambahan kelompok mencit tanpa ovariectomi guna melihat efektivitas ekstrak kulit buah naga merah terhadap steatosis hepar. Diperlukan pula penelitian lanjutan untuk melihat efek samping dari pemberian ekstrak etanol kulit buah naga merah, khususnya pada manusia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis banyak mengucapkan terimakasih terhadap pihak-pihak yang ikut membantu penulis dalam proses penelitian ini, khususnya staf departemen histologi yang berkontribusi besar pada proses penelitian ini serta keluarga dan teman-teman penulis atas dukungan moral yang konstan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol*.

- 2018 Apr;14(4):199–215.
- [2]. Potter B, Schrager S, Dalby J, Torell E, Hampton A. Menopause. *Prim Care*. 2018 Dec;45(4):625–41.
 - [3]. Kumar RS, Goyal N. Estrogens as regulator of hematopoietic stem cell, immune cells and bone biology. *Life Sci*. 2021 Mar;269:119091.
 - [4]. Lee C, Kim J, Jung Y. Potential Therapeutic Application of Estrogen in Gender Disparity of Nonalcoholic Fatty Liver Disease/Nonalcoholic Steatohepatitis. *Cells*. 2019 Oct;8(10).
 - [5]. Robeva R, Mladenović D, Vesković M, Hrnčić D, Bjekić-Macut J, Stanojlović O, et al. The interplay between metabolic dysregulations and non-alcoholic fatty liver disease in women after menopause. *Maturitas*. 2021 Sep;151:22–30.
 - [6]. Summart U, Thinkhamrop B, Chamadol N, Khuntikeo N, Songthamwat M, Kim CS. Gender differences in the prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the Northeast of Thailand: A population-based cross-sectional study. *F1000Research*. 2017;6:1630.
 - [7]. Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane database Syst Rev*. 2017 Jan;1(1):CD004143.
 - [8]. Rietjens IMCM, Lousse J, Beekmann K. The potential health effects of dietary phytoestrogens. *Br J Pharmacol*. 2017;174(11):1263–80.
 - [9]. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res [Internet]*. 2017 Aug 13;61(1):1361779. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28970777>
 - [10]. Molina-Molina E, Furtado GE, Jones JG, Portincasa P, Vieira-Pedrosa A, Teixeira AM, et al. The advantages of physical exercise as a preventive strategy against NAFLD in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest [Internet]*. 2022 Mar 1;52(3):e13731. Available from: <https://doi.org/10.1111/eci.13731>
 - [11]. Yang JD, Abdelmalek MF, Pang H, Guy CD, Smith AD, Diehl AM, et al. Gender and menopause impact severity of fibrosis among patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2014 Apr;59(4):1406–14.
 - [12]. Thadeus MS, Fauziah C, Zulfa F, Anisah. The Effect of Red Dragon Fruit Extract (*Hylocereus Polyrhizus*) on Membrane Lipid Peroxidation and Liver Tissue Damage Triggered by Hyperlipidemia in White Rats (*Rattus Norvegicus*). 2019;13(Ichs 2018):187–95.
 - [13]. Paramita NPC, Sugiritama IW, Linawati NM, Ratnayanti IGAD, Wahyuniari IAI, Arijana IGKN, et al. EKSTRAK ETANOL UBI JALAR UNGU (IPOMOEA BATATAS L.) MENURUNKAN DEGENERASI LEMAK JARINGAN HATI TIKUS YANG DIOVARIEKTOMI. *E-jurnal Med*. 2019;8(5).
 - [14]. Chen KL, Madak-Erdogan Z. Estrogens and female liver health. *Steroids [Internet]*. 2018;133(October):38–43. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2017.10.015>
 - [15]. Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol*. 2017 Dec;8(1):1–8.
 - [16]. Lamon-Fava S, Diffenderfer MR, Barrett PHR, Wan WY, Postfai B, Nartsupha C, et al. Differential Effects of Estrogen and Progestin on Apolipoprotein B100 and B48 Kinetics in Postmenopausal Women. *Lipids [Internet]*. 2018 Feb 1;53(2):167–75. Available from: <https://doi.org/10.1002/lipd.12011>
 - [17]. Nanashima N, Horie K, Maeda H. Phytoestrogenic Activity of Blackcurrant Anthocyanins Is Partially Mediated through Estrogen Receptor Beta. *Molecules*. 2017 Dec;23(1).
 - [18]. Sufyan DL, I. AD, Prijadi B. Pengaruh Pemberian Jus Terong Ungu terhadap Perlemakan Hati Tikus Wistar. *J Ilm Kesehat*. 2019;18(2):59–63.

Astaxanthin dan Perbaikan Gejala Demensia: Kajian Sistematis terhadap Mekanisme Proses Penuaan dan Bukti Ilmiah

Rizaldy Taslim Pinzon^{1,3}, Vincent Ongko Wijaya^{2,3}, Theressia Handayani^{1*}

¹Bethesda Hospital, Yogyakarta, Indonesia

²Panti Nugroho Hospital, Yogyakarta, Indonesia

³Duta Wacana Christian University, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding Author: Theressia Handayani; email: theressdr@gmail.com

Abstract

Dementia is an acquired loss of cognition in multiple cognitive domains sufficiently severe to affect social or occupational function. Dementia is commonly associated with more than 1 neuropathology, usually Alzheimer disease with cerebrovascular pathology. Recently, astaxanthin is also receiving attention for its effect on the prevention or co-treatment of neurological pathologies, including Alzheimer and Parkinson diseases. In this review, we focus on the neuroprotective properties of astaxanthin and explore the underlying mechanisms to counteract neurological diseases. This study systematically reviewed randomized control trials through ProQuest, EBSCOHost, PubMed, and Google Scholar published from 2012 to 2022 regarding the benefits of ASX and the management of dementia through ASX supplementation. As many as 207 subjects of 4 randomized control trials were reviewed. All trials are appraised through the ROB-2 tool. Although no clear and direct mechanism for cognitive improvement by Astaxanthin activity in the body systems, the encouragement of Astaxanthin supplementation should be considered as the elderly with dementia may give benefit for improving the cognitive function.

Keywords: *astaxanthin, cognitive impairment, dementia, geriatric*

Pendahuluan

Penurunan fungsi fisiologis, individu lanjut usia (lansia) rentan terhadap degenerasi fungsi organ salah satunya demensia. [1] Demensia adalah penyakit neurodegeneratif yang banyak dijumpai pada lansia, dapat disebabkan oleh salah satunya Alzheimer, demensia *Lewy bodies*, *Frontotemporal lobar degeneration* (FTLD) [2], serta cedera serebrovaskular. [3,4] Gangguan kognitif dapat terjadi bahkan dalam 1 bulan setelah kejadian stroke [5] dan risikonya dapat meningkat oleh karena beberapa faktor seperti demografis [6]–[10], vaskular [9], [11]–[15], biomarker inflamasi [16], gaya hidup [3] [17], gambaran radiologis lesi [18]–[20], serta gangguan kognitif sebelumnya. [7] [21]

Domain kognitif yang terdampak pada demensia dapat ditandai dari gejala gangguan memori, bahasa, orientasi, perhatian, dan fungsi eksekutif [5], [22] Mekanisme yang menyebabkan gangguan domain kognitif adalah akibat gangguan homeostasis molekular, disfungsi mitokondria, stress oksidatif serta neuroinflamasi memberi sumbangsih pada proses neurodegenerasi. [23]

Banyak senyawa telah ditelaah fungsinya sebagai anti-oksidan yang berfungsi untuk perbaikan fungsi neuron [24], [25] Hal ini didasarkan teori kerusakan otak terjadi karena stres oksidatif. [26] Kapasitas fungsi anti-oksidatif berkurang seiring dengan bertambahnya usia. [27] Suplementasi anti oksidan sering kali diperlukan.

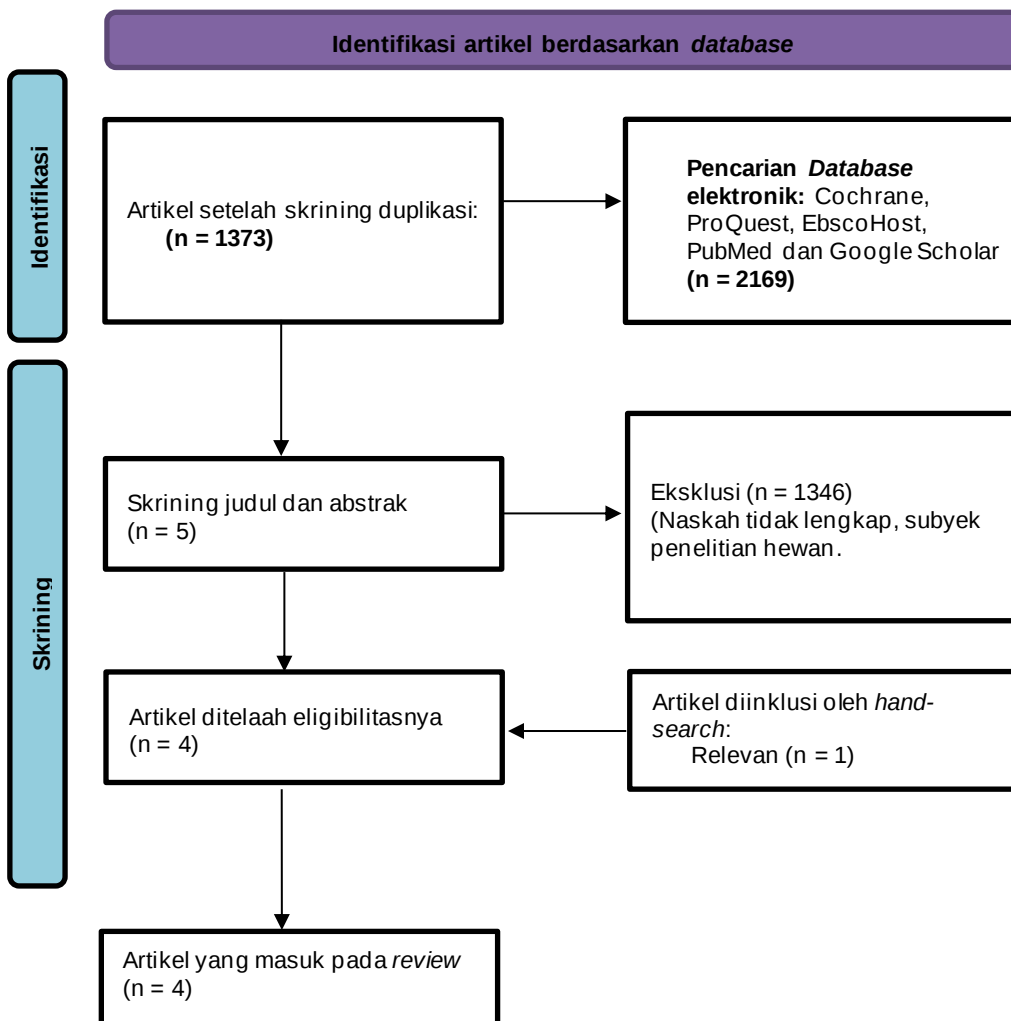
Astaxanthin (ASX) adalah karotenoid yang berfungsi sebagai anti-tumor, kardioprotektif, dan neuroprotektif. [28] ASX dapat ditemukan pada ragi, alga, lobster, dan salmon. Penelitian

sebelumnya menemukan ASX memiliki efek antioksidan kuat. [29] Manfaat biologis dari ASX lebih tinggi dibandingkan dengan karotenoid lain seperti lutein, likopen, alfa-karoten dan beta-karoten. [30] ASX memiliki efek antioksidan dengan menurunkan stress oksidatif dengan menghambat mendiator inflamasi dan *reactive oxygen species* (ROS). [31] Berbagai studi mengenai manfaat ASX terhadap gangguan kognitif yaitu demensi vaskular dan Alzheimer telah diteliti sebelumnya, namun terbatas [32] [33] Oleh sebab itu, kajian sistematis ini bertujuan untuk menelaah literatur mengenai suplementasi ASX dan hubungannya dengan demensia.

Metode

Penelusuran pustaka sistematis untuk melaporkan literatur mengenai insidensi, evaluasi diagnostik dan implementasi klinis pada afasia pasca stroke melalui *PubMed*, *Google Scholar*, *ProQuest*, *EBSCOHost*, dan *Cochrane*. Literatur yang diikutsertakan untuk dikaji dibatasi dalam kurun waktu publikasi yaitu Juni 2012 hingga Juni 2022 dengan bahasa Inggris, merupakan studi acak terkendali (*randomized control trial*), memuat evaluasi dan intervensi suplementasi Astaxanthin terhadap demensia pada individu paruh baya hingga lansia.

Kriteria eksklusi studi berupa: naskah tidak lengkap dan studi pada hewan. Ditetapkan pertanyaan penelitian yaitu: apakah suplementasi Astaxanthin bermanfaat untuk memperbaiki gangguan kognitif pada lansia dengan demensia? Dari pertanyaan penelitian tersebut, ditetapkan tujuan dan PICO sebagai berikut P: lansia dengan demensia, tidak mempertimbangkan etiologi, I: suplementasi Astaxanthin, C: placebo, dan O: perbaikan gejala demensi diukur secara obyektif dan/ atau subyektif; serta keamanan konsumsi.



Gambar 1. Alur pencarian literatur melalui berbagai *database* dilaporkan sesuai PRISMA[34]

Kata kunci yang dipakai menggunakan kombinasi dari 'Astaxanthin' atau 'Carotenoid' dan 'elderly' dan 'cognitive impairment' atau 'dementia'. Penulis juga menelusuri daftar referensi kemudian melakukan pelacakan manual (*hand-searching*) untuk mendapatkan literatur lain dengan bahasan yang sama. Pelaporan studi pustaka sesuai dengan *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses* (PRISMA) [34] (Gambar 1).

Pencarian pustaka dilakukan oleh dua penulis. Kumpulan pustaka ditelaah secara independen oleh penulis pertama dan kedua. Bila ada ketidaksepakatan, diperlukan keputusan dari penulis ketiga melalui metode konsensus. Penelitian akan diekstraksi datanya dan ditabulasi. Hasil ekstraksi data terdapat pada tabel 1. Hasil pustaka akan ditelaah kritis (*critical appraisal*) menggunakan *ROB 2 tool* untuk studi *randomized control trial* oleh penulis kedua dan pertama. Hasil telaah kritis terdapat pada tabel 2.

Tabel 1. Studi mengenai pengaruh Astaxanthin pada gangguan kognitif

Tahun, Penulis	Subyek	Periode Intervensi	Intervensi	Luaran
2012, Katagiri <i>et al</i> [35]	96 subyek berusia 45 – 64 tahun	12 minggu	Suplementasi ASX (6 atau 12 mg/ hari)	Nilai memori <i>CogHealth battery</i> dan GMLT mengalami perbaikan dibandingkan dengan <i>baseline</i> namun tidak signifikan secara statistik
2018, Hayashi <i>et al</i> [36]	54 subyek berusia 45 - 64 tahun	8 minggu	Suplementasi ASX (8 mg/ hari)	Ada perbaikan pada fungsi memori jangka menengah, memory 5 <i>minutes + cued</i> , kefasihan verbal, dan <i>Stroop test</i> , namun tidak spesifik pada subyek dengan usia >55 tahun
2018, Ito <i>et al</i> [37]	21 subyek berusia 30 - 60 tahun	12 minggu	Suplementasi ASX turunan <i>Haematococcus pluvialis</i> , (6 mg/ hari), Sesamin turunan dari <i>Sesamum indicum</i> (10 mg/ hari)	Ada perbaikan pada kecepatan psikomotor dan pemrosesan menurut ADAS-Cog dibandingkan dengan kelompok kontrol, namun terdapat perbaikan dibandingkan dengan <i>baseline</i> nilai kognitif menurut instrumen CNSVS (<i>Cognitrax</i>)
2020, Sekikawa <i>et al</i> [38]	36 subyek berusia 40-70	12 minggu	Suplementasi ASX (9 mg/ hari) dan Tocotrienol (50 mg/ hari)	Fungsi memori menunjukkan perbaikan pada subjek berdasar instrumen CNSVS (<i>Cognitrax</i>) dibandingkan dengan kelompok kontrol

Singkatan: ADAS-Cog: *Alzheimer Disease Assessment Scale-Cognitive subscale*; CDT: *Clock Drawing Test*; CNSVS: *Central Nervous System Vital Signs*; GMLT: *Groton Maze Learning Test*; RCT: *Randomized Control Trial*

Hasil dan Pembahasan

Ada 4 studi RCT yang dilakukan di Jepang dan Italia, merangkum 207 subjek lansia. Luaran utama studi yang ditelaah yaitu perbaikan fungsi kognitif.

Tabel 2. *Critical Appraisal* menggunakan ROB-2 Tool pada studi RCT

	Semua subyek (kelompok terapi & kontrol)	Semua subyek (kelompok terapi & kontrol) acak?	Semua luaran dilaporkan?	Alokasi subyek tersamarkan?	Kemaknaan statistik/ klinis dipertimbangkan?	Tindakan terapi dapat diterapkan?	Semua subyek dipertimbangkan dalam kesimpulan?
Katagiri [35]	(+)	(+)	(?)	(+)	(+)	(+)	(+)
Hayashi [36]	(+)	(?)	(+)	(?)	(+)	(+)	(+)
Ito [37]	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Sekikawa [38]	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Keterangan: (+): Ya; (-): Tidak; (?): Kurang jelas

Diskusi

Ada 4 studi RCT yang dilakukan di Jepang dan Italia, merangkum 207 subjek berusia paruh baya hingga lansia dengan intervensi suplementasi Astaxanthin (ASX). Seluruh studi adalah dengan suplementasi ASX via diet (*oral intake*). Luaran utama studi yang ditelaah adalah perbaikan fungsi kognitif. Keempat studi konsisten menunjukkan ada terdapat perbaikan fungsi kognitif dibandingkan dengan kelompok kontrol maupun *baseline*.

ASX adalah carotenoid xanthophyll yang memiliki efek antioksidan poten dibandingkan dengan senyawa lain. Studi terdahulu menjelaskan peran ASX dalam menghambat stress oksidatif, inflamasi, dan neuroprotektif. Salah satu kelebihan ASX adalah senyawa ini dapat menembus sawar darah otak. [38] Asupan karotenoid di negara Eropa memiliki rerata 1,2 – 2 mol/L per individu serta 1,2 – 2,5 mol/L per individu di Amerika Serikat. [39] Belum terdapat studi yang menjabarkan secara detail mengenai kadar ASX pada negara berkembang terutama Indonesia.

Manfaat ASX sebagai anti-oksidan dapat berperan penting dalam pencegahan cedera akibat stress oksidatif. Pada penelitian yang dilakukan Katagiri *et al* pada pasien lansia berusia 50-69 tahun yang mengeluhkan gangguan kognitif seperti gampang lupa, menunjukkan pemberian suplementasi ASX dosis tinggi (12mg) menunjukkan perbaikan signifikan dalam tes CogHealth dalam waktu merespons pasien dalam 12 minggu pemakaian. [32] Studi lain oleh Hayashi *et al* yang pada pasien berusia 45-64 tahun menunjukkan pemberian suplementasi menghasilkan perbaikan signifikan pada kelompok ASX dibandingkan plasebo dalam tes “recall kata setelah 5 menit” pada pasien dibawah 55 tahun.

Studi lain pada efek pemberian ASX dari *H. pluvialis* terhadap fungsi kognisi subjek dewasa sehat yang mengalami kepikunan ringan yang diberikan ASX 9 mg per hari selama 12

minggu. Penelitian menunjukkan perbaikan signifikan pada perubahan skor pada gabungan domain memori pada *Cognitrax* dan juga gejala subjektif ingatan linguistik.

Peran ASX dalam studi-studi yang telah dilakukan menunjukkan kapasitasnya dalam menangkal kerusakan oksidatif dengan beberapa mekanisme seperti eliminasi dari oksigen dan radikal yang menyebabkan stress oksidatif, menghambat peroksidasi dari lemak, dan pengaturan ekspresi gen terkait stress oksidatif. [38] Penurunan dari fungsi kognitif telah lama ini dikaitkan dengan kerusakan sel oleh stress oksidatif.

Inflamasi berperan pada fungsi sistem saraf pusat baik pada kerusakan akut maupun degeneratif kronis. [31] Manfaat ASX terhadap VAD pada oklusi arteri komunis unilateral (LUCCAO) telah dilaksanakan pada model tikus. [32] Pemberian ASX terbukti menurunkan tingkat sitokin pro-inflamatorik IL-1 β dan meningkatkan ekspresi IL-4 pada hipokampus serta korteks prefrontal. [32] Penambahan ASX untuk pencegahan preemtif cedera kepala (TBI) selama 2 minggu memperbaiki gejala neuromotorik dan kognitif pasca TBI. [40] Hal itu dijelaskan kemampuan ASX untuk menembus *Blood-Brain-Barrier* (BBB) dan berpotensi untuk meningkatkan respons jaringan serebral terutama pada keadaan stress yang dimanifestasikan dalam peningkatan regulasi *Neurotropic Brain Derived Factor* (BDNF) dan *cAMP response element-binding protein* (CREB). [41]

Pada penyakit Alzheimer, kerusakan akibat stress oksidatif ini akan menimbulkan penumpukan dari beta amyloid (AB) pada area hipokampus. Penambahan usia berdampak eliminasi dari AB oleh enzim-enzim neprylisin dan sel fagosit menurun. [38] Peran antioksidan yang poten pada usia muda ditengarai perlu demi mencegah penurunan fungsi kognitif. [42] ASX mampu mengurangi kadar fosfolipid peroksidasi dalam sel darah merah. [43] Pencegahan peningkatan kadar fosfolipid peroksidasi dan juga penumpukan AB pada pemberian ASX diharapkan dapat memperbaiki asupan oksigen ke otak dan mencegah terjadinya dementia maupun Alzheimer. [36]

Fosfatidilinositol 3-kinase-Akt (PI3K/Akt) *signaling pathway* yang berfungsi sebagai pengatur metabolisme, proliferasi, ketahanan sel [44] terinduksi pada fungsi anti-apoptotik dari ASX [45]. Berbagai penelitian terdahulu tidak menjumpai adanya efek samping yang signifikan khususnya dalam beberapa studi yang melibatkan kelompok umur diatas 50 tahun. [35] [37] [38] [46]

Kesimpulan

Bukti uji klinis terbatas memperlihatkan manfaat ASX pada fungsi kognitif, dimana mekanisme utamanya adalah neuroprotektan untuk mencegah berbagai penyakit terkait stress oksidatif dan kerusakan neuron.

Daftar Pustaka

- [1] Z. Arvanitakis, R.C. Shah, D.A Bennett "Diagnosis and Management of Dementia: Review.," *JAMA*, vol. 322, no. 16, pp. 1589–1599, 2019, doi: 10.1001/jama.2019.4782.
- [2] A. Lau, I. Beheshti, M. Modirrousta, T. A. Kolesar, A. L. Goertzen, and J. H. Ko, "Alzheimer's disease-related metabolic pattern in diverse forms of neurodegenerative diseases," *Diagnostics*, vol. 11, no. 11, Nov. 2021, doi: 10.3390/DIAGNOSTICS11112023.
- [3] R. T. Pinzon, R. D. L. Sanyasi, and S. Totting, "The prevalence and determinant factors of post-stroke cognitive impairment," *Asian Pacific J. Heal. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 78–83, 2018, doi: 10.21276/apjhs.2018.5.1.17.

- [4] S. Seshadri, A. Economos, and C. Wright, *Vascular Dementia and Cognitive Impairment*, Sixth Edit., vol. 01. 2015.
- [5] Z. Mohamed Fuad, H. Mahadzir, S. Z. Syed Zakaria, and N. Mohamed Ibrahim, "Frequency of Cognitive Impairment Among Malaysian Elderly Patients Following First Ischaemic Stroke—A Case Control Study," *Front. Public Heal.*, vol. 8, no. November, pp. 2–8, 2020, doi: 10.3389/fpubh.2020.577940.
- [6] O. J. Gannon, L. S. Robison, A. J. Custozzo, and K. L. Zuloaga, "Sex differences in risk factors for vascular contributions to cognitive impairment & dementia," *Neurochem. Int.*, vol. 127, pp. 38–55, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.neuint.2018.11.014.
- [7] E. Y. H. Tang et al., "Longitudinal effect of stroke on cognition: A systematic review," *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 7, no. 2, 2018, doi: 10.1161/JAHA.117.006443.
- [8] J. H. Sun, L. Tan, and J. T. Yu, "Post-stroke cognitive impairment: Epidemiology, mechanisms and management," *Ann. Transl. Med.*, vol. 2, no. 8, 2014, doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.08.05.
- [9] W. Srithumsuk et al., "The importance of stroke as a risk factor of cognitive decline in community dwelling older and oldest peoples: The SONIC study," *BMC Geriatr.*, vol. 20, no. 1, pp. 1–10, 2020, doi: 10.1186/s12877-020-1423-5.
- [10] J. M. Farfel et al., "Very low levels of education and cognitive reserve: a clinicopathologic study," *Neurology*, vol. 81, no. 7, pp. 650–657, Aug. 2013, doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a08f1b.
- [11] S. Tumiwa, F. Pinzon, R. T. Adisaputro, "Hubungan Hipertensi Dengan Gangguan Fungsi Kognitif Pada Pasien Post-Stroke Iskemik Di Rs Bethesda Association Between Hypertension With Cognitive Impairment On Post-Stroke Ischemic Patient In Bethesda Hospital," *J. Keokteran Yars.*, vol. 25, no. 3, pp. 135–144, 2017.
- [12] W. S. Aronow, "Hypertension and cognitive impairment," *Ann. Transl. Med.*, vol. 5, no. 12, p. 259, Jun. 2017, doi: 10.21037/atm.2017.03.99.
- [13] E. Y. H. Tang et al., "Assessing the Predictive Validity of Simple Dementia Risk Models in Harmonized Stroke Cohorts," *Stroke*, no. July, pp. 2095–2102, 2020, doi: 10.1161/STROKEAHA.120.027473.
- [14] P. van Vliet, "Cholesterol and late-life cognitive decline," *J. Alzheimers. Dis.*, vol. 30 Suppl 2, pp. S147–62, 2012, doi: 10.3233/JAD-2011-111028.
- [15] F. I. Fitri and A. S. Rambe, "Correlation between hypertension and cognitive function in elderly," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 125, no. 1, 2018, doi: 10.1088/1755-1315/125/1/012177.
- [16] M. Danovska and D. Peychinska, "Post-Stroke Cognitive Impairment – Phenomenology and Prognostic Factors," *J. IMAB - Annu. Proceeding (Scientific Pap.)*, vol. 18, 3, no. 2012, pp. 290–297, 2012, doi: 10.5272/jimab.2012183.290.
- [17] M. K. Scullin and D. L. Bliwise, "Sleep, cognition, and normal aging: integrating a half century of multidisciplinary research," *Perspect. Psychol. Sci.*, vol. 10, no. 1, pp. 97–137, Jan. 2015, doi: 10.1177/1745691614556680.
- [18] C. Laredo et al., "Prognostic Significance of Infarct Size and Location: The Case of Insular Stroke," *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-27883-3.
- [19] T. S. Chaudhari, R. Verma, R. K. Garg, M. K. Singh, H. S. Malhotra, and P. K. Sharma, "Clinico-radiological predictors of vascular cognitive impairment (VCI) in patients with stroke: A prospective observational study," *J. Neurol. Sci.*, vol. 340, no. 1–2, pp. 150–158, 2014, doi: 10.1016/j.jns.2014.03.018.
- [20] R. O. Boletimi, M. A. H. N. Kembuan, and J. M. Pertiwi, "Gambaran Fungsi Kognitif Pasien Pasca Stroke," *Med. Scope J.*, vol. 2, no. 2, pp. 66–72, 2021.
- [21] P. M. Rist et al., "Baseline cognitive function, recurrent stroke, and risk of dementia in patients with stroke," *Stroke*, vol. 44, no. 7, pp. 1790–1795, Jul. 2013, doi:

- 10.1161/STROKEAHA.111.680728.
- [22] S. Duong, T. Patel, and F. Chang, "Dementia: What pharmacists need to know.," *Can. Pharm. J. (Ott)*, vol. 150, no. 2, pp. 118–129, 2017, doi: 10.1177/1715163517690745.
 - [23] B. Grimmig, S. H. Kim, K. Nash, P. C. Bickford, and R. Douglas Shytle, "Neuroprotective mechanisms of astaxanthin: a potential therapeutic role in preserving cognitive function in age and neurodegeneration," *GeroScience*, vol. 39, no. 1, pp. 19–32, 2017, doi: 10.1007/s11357-017-9958-x.
 - [24] S. Davinelli, S. Ali, V. Solfrizzi, G. Scapagnini, and G. Corbi, "Carotenoids and cognitive outcomes: A meta-analysis of randomized intervention trials," *Antioxidants*, vol. 10, no. 2, pp. 1–13, 2021, doi: 10.3390/antiox10020223.
 - [25] E. E. Devore, J. H. Kang, M. J. Stampfer, and F. Grodstein, "The association of antioxidants and cognition in the Nurses' Health Study," *Am. J. Epidemiol.*, vol. 177, no. 1, pp. 33–41, 2013, doi: 10.1093/aje/kws202.
 - [26] B. L. Tan, M. E. Norhaizan, W. P. P. Liew, and H. S. Rahman, "Antioxidant and oxidative stress: A mutual interplay in age-related diseases," *Front. Pharmacol.*, vol. 9, no. OCT, pp. 1–28, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.01162.
 - [27] P. Maurya, P. Kumar, S. Nagotu, S. Chand, and D. P. Chandra, "Multi-target detection of oxidative stress biomarkers in quercetin and myricetin treated human red blood cells," *RSC Adv.*, vol. 6, pp. 53195–53202, May 2016, doi: 10.1039/C6RA05121A.
 - [28] A. Donoso, J. González-Durán, A. A. Muñoz, P. A. González, and C. Agurto-Muñoz, "Therapeutic uses of natural astaxanthin: An evidence-based review focused on human clinical trials," *Pharmacol. Res.*, vol. 166, no. January, 2021, doi: 10.1016/j.phrs.2021.105479.
 - [29] S. H. Kim and H. Kim, "Inhibitory Effect of Astaxanthin on Oxidative Stress-Induced Mitochondrial Dysfunction-A Mini-Review.," *Nutrients*, vol. 10, no. 9, Aug. 2018, doi: 10.3390/nu10091137.
 - [30] R. R. Ambati, S. M. Phang, S. Ravi, and R. G. Aswathanarayana, "Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications--a review.," *Mar. Drugs*, vol. 12, no. 1, pp. 128–152, Jan. 2014, doi: 10.3390/md12010128.
 - [31] H. Wu *et al.*, "Astaxanthin as a Potential Neuroprotective Agent for Neurological Diseases.," *Mar. Drugs*, vol. 13, no. 9, pp. 5750–5766, Sep. 2015, doi: 10.3390/md13095750.
 - [32] N. Zhu *et al.*, "Astaxanthin protects cognitive function of vascular dementia," *Behav. Brain Funct.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–10, 2020, doi: 10.1186/s12993-020-00172-8.
 - [33] V. Balendra and S. K. Singh, "Therapeutic potential of astaxanthin and superoxide dismutase in Alzheimer's disease," *Open Biol.*, vol. 11, no. 6, pp. 1–11, 2021, doi: 10.1098/rsob.210013.
 - [34] Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, and Mulrow CD, "The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews," *BMJ*, vol. 372, no. n71, 2021, doi: 10.1136/bmj.n71.
 - [35] M. Katagiri, A. Satoh, S. Tsuji, and T. Shirasawa, "Effects of astaxanthin-rich Haematococcus pluvialis extract on cognitive function: A randomised, double-blind, placebo-controlled study," *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 51, no. 2, pp. 102–107, 2012, doi: 10.3164/jcbtn.D-11-00017.
 - [36] M. Hayashi, T. Ishibashi, and T. Maoka, "Effect of astaxanthin-rich extract derived from Paracoccus carotinifaciens on cognitive function in middle-aged and older individuals," *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 62, no. 2, pp. 195–205, 2018, doi: 10.3164/jcbtn.17-100.
 - [37] N. Ito, H. Saito, S. Seki, F. Ueda, and T. Asada, "Effects of Composite Supplement Containing Astaxanthin and Sesamin on Cognitive Functions in People with Mild Cognitive Impairment: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial," *J. Alzheimer's Dis.*, vol. 62, no. 4, pp. 1767–1775, 2018, doi: 10.3233/JAD-170969.

- [38] T. Sekikawa, Y. Kizawa, Y. Li, and T. Takara, "Cognitive function improvement with astaxanthin and tocotrienol intake: a randomized, double-blind, placebo-controlled study," *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 67, no. 3, pp. 307–316, 2020, doi: 10.3164/jcbtn.19-116.
- [39] V. Böhm *et al.*, "From carotenoid intake to carotenoid blood and tissue concentrations - implications for dietary intake recommendations," doi: 10.1093/nutrit/nuaa008.
- [40] C. Fleischmann, E. Shohami, V. Trembovler, Y. Heled, and M. Horowitz, "Cognitive Effects of Astaxanthin Pretreatment on Recovery From Traumatic Brain Injury," *Front. Neurol.*, vol. 11, no. October, 2020, doi: 10.3389/fneur.2020.00999.
- [41] S. Fakhri, L. Dargahi, F. Abbaszadeh, and M. Jorjani, "Astaxanthin attenuates neuroinflammation contributed to the neuropathic pain and motor dysfunction following compression spinal cord injury," *Brain Res. Bull.*, vol. 143, pp. 217–224, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2018.09.011>.
- [42] L. Arwin and J. N. Pratiwi, "Peran Neuroprotektor Astaxanthin Dalam Pencegahan the Role of Neuroprotector Astaxanthin Against Alzheimer Disease," *J. Ilmu Keperawatan Jiwa*, vol. 3, no. 1, pp. 47–52, 2020.
- [43] T. Miyazawa *et al.*, "Ingestion of Chlorella reduced the oxidation of erythrocyte membrane lipids in senior Japanese subjects.," *J. Oleo Sci.*, vol. 62, no. 11, pp. 873–881, 2013, doi: 10.5650/jos.62.873.
- [44] J.-Y. Lin *et al.*, "Swimming exercise stimulates IGF1/PI3K/Akt and AMPK/SIRT1/PGC1 α survival signaling to suppress apoptosis and inflammation in aging hippocampus," *Aging (alban NY)*, vol. 12, no. 8, p. 6852, 2020.
- [45] X.-S. Zhang *et al.*, "Astaxanthin alleviates early brain injury following subarachnoid hemorrhage in rats: possible involvement of Akt/bad signaling.," *Mar. Drugs*, vol. 12, no. 8, pp. 4291–4310, Jul. 2014, doi: 10.3390/md12084291.
- [46] M. Yoshida, T. Hayashi, K. Fujii, H. Ishiura, S. Tsuji, and Y. Sakurai, "Selective impairment of On-reading (Chinese-style pronunciation) in alexia with agraphia for kanji due to subcortical hemorrhage in the left posterior middle temporal gyrus," *Neurocase*, pp. 220–226, 2020, doi: 10.1080/13554794.2020.1788608.

Astaxanthin and Anti-Aging Strategy for Neuropathic Pain in Elderly:

From Bench to Clinical Evidences

Rizaldy Taslim Pinzon^{1,3}, Theressia Handayani¹, Esdras Pramudita^{2,3}

¹Bethesda Hospital, Yogyakarta, Indonesia

²Panti Rapih Hospital, Yogyakarta, Indonesia

³Duta Wacana Christian University, Yogyakarta, Indonesia

Corresponding Author: Theressia Handayani; email: theressdr@gmail.com

Abstract

Neuropathic pain in elderly is a challenging condition to treat. It is related with degeneration and deficiencies, and could be resistant to treatment with commonly adjuvant analgesics. Recent management strategies fail to achieve adequate pain reduction in a high proportion of patients. The previous studies showed that only less than 50% patients can achieve good pain control with standard treatment. The available treatment only focus in the symptom control, and do not interfere the progressing damage of the nerve. Astaxanthin is a very potent anti-oxidant. The benefit has been proven in several condition in elderly. In this review we discuss about the potential use of Astaxanthin for the add on treatment of painful neuropathy.

Key words: neuropathic pain, astaxanthin, treatment

Introduction

Neuropathic pain related with aging is the leading cause of physical disability and impairment in elderly. [1] An appropriate management for certain neuropathic pain condition (for example: central post stroke pain and chemotherapy induced peripheral neuropathic pain) is challenging. In most cases, this chronic pain condition is managed with palliative measures that focus on pain reduction. [2][3] There were high proportion of elderly patients in whom these treatments do not provide adequate pain relief. [4] The previous reviews also showed that treatments which can stop or reversing the progressing process are limited. [5]

Slowing and stopping the disease progression and symptom reduction are the ultimate goal for chronic pain treatment. The most common drugs for the treatment of this condition are tricyclic anti-depressant and gabapentinoid. This treatment regiments have been associated with significant adverse reactions. [4] Previous studies showed that significant proportion of elderly patients cannot tolerate with the side effects. [2]

There is still high need for effective pain treatment in elderly. [2] It is therefore apparent that there are unmet needs in neuropathic pain management. The unmet needs especially in either the safety of treatment options and the ability of therapies to disease modification. The insufficient treatment of comorbid conditions; incorrect understanding or selection of treatment options; and the use of incorrect outcomes measures are the common reasons of inadequate pain control. [2]

Anti-aging strategies aim to mitigate, delay and reverse aging-associated diseases, thereby improving quality of life and reducing the burden of age-related pathologies. [6] The natural dietary antioxidant supplementation offers substantial pharmacological and therapeutic effects against various disease conditions. Astaxanthin is one such natural carotenoid with superior antioxidant activity than other carotenoids, as well as well as vitamins C and E, and additionally, it is known to exhibit a plethora of pharmacological effects. [7]

This narrative review aimed to discuss the unmet needs in the pharmacological management of neuropathic pain in elderly. We discuss the potential role of Astaxanthin as an add on pharmacological treatment for painful neuropathy related with.

Method

We systematically search the works and reviews about Astaxanthin for the treatment of various neuropathic condition in elderly population. The keywords: elderly, neuropathic pain, oxidative stress, astaxanthin, neuropathy. We mainly focus on the studies with either in animal model of painful neuropathic pain condition and Randomized Controlled Trial Design. The studies with the available full text and published in English/ Indonesian language will be review further. We make a systematic table for explain our review.

Discussion

Painful neuropathic condition in elderly define as pain that originates from a lesion or dysfunction of the peripheral or central nervous system. [1] Despite recent advances and understanding in the identification of pain-generating mechanisms, elderly with neuropathic pain are challenging to manage. The available systemic drug therapies provide only about half pain reduction in elderly patients. Many patients faced unwanted adverse effects, such as drowsiness and dizziness, and the need for multiple daily dosing. [2]

The significant impact on physical, emotional, and economic of poorly controlled neuropathic pain in elderly is well recorded. [8][9][10] Elderly patients with inadequately managed centralized (neuropathic) pain often exhibit a common behaviour problem. Elderly patients with chronic pain who are not receiving adequate pain control often will present ahead of their scheduled appointments, frequent visit to emergency rooms, and see more than one physician. [8][10] These patients often have poor social life and poor quality of life. [9]

Some past reviews on neuropathic pain in elderly indicate that only a small proportion of patients have an adequate response to systemic therapy. [4] Only about one-third of painful neuropathic pain elderly patients had significant pain reduction. [2] In majority cases, complete pain relief cannot be achieved. Improvement of life quality, sleep, social activities and ability to join social activities were impossible. [2][4] The systemic drug management can't prevent the progressing damage of the nerve related with degeneration.

The Astaxanthin is a very powerful anti-oxidant. [11] Astaxanthin was found in marine organisms. This review showed that some works have proved that adding astaxanthin is very promising for relieving certain neuropathic pain condition in elderly. The previous studies mainly focus in painful diabetic neuropathy model.

Previous studies found that astaxanthin reduces the oxidative stress caused by hyperglycaemia in pancreatic β -cells and improves glucose and serum insulin levels in diabetes. [11] Furthermore, it has been suggested that astaxanthin is a potential therapeutic agent against atherosclerotic cardiovascular disease. [12]

In human mesangial cells, astaxanthin prevented the high-glucose exposure-induced elevated ROS production in the mitochondria. Astaxanthin may have a protective effect against diabetic neuropathy by modulating oxidative stress, inflammation, and apoptosis by quenching free radicals. [13] Astaxanthin can interfere the elevated concentrations of plasma glucose and oxidative stress, inflammation, and advanced glycation end products (AGEs). [13][14]

Recent review that focus on the studies that conducted on type 1 and type 2 DM animal models showed that either orally or parenterally administrated astaxanthin improves insulin resistance and insulin secretion; reduces hyperglycaemia; and exerts protective effects against neuropathy. [14] Owing to its ability to cross the blood-brain barrier, astaxanthin has received attention for its protective effects against neurological disorders, including Alzheimer's disease, Parkinson's disease, amyotrophic lateral sclerosis, cerebral ischemia/reperfusion, subarachnoid haemorrhage, traumatic brain injury, spinal cord injury, cognitive impairment and neuropathic pain. [13][14]

Table 1. Astaxanthin in the treatment model of neuropathic pain

Author	Model	Dosage	Biomarker	Finding
Sharma <i>et al</i> [7]	Rat C6 glial cells; Adult male Sprague Dawley rats	5 and 10 mg/kg	ROS	Significantly attenuate biochemical alterations with the decreased oxidative stress
Jiang <i>et al</i> [15]	Chronic constriction injury (CCI) mice	80 mg/kg	IL-1 β , IL-6 and TNF- α	Exert therapeutic effects on thermal hyperalgesia
Fakhri <i>et al</i> [16]	Adult male Wistar rats [1] S. Fakhri, L. Dargahi, F. Abbaszadeh, and M. Jorjani, "Astaxanthin attenuates neuroinflammation contributed to the neuropathic pain and motor dysfunction following compression spinal cord injury," <i>Brain Res. Bull.</i> , vol. 143, pp. 217–224, 2018, doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.09.011.	10 μ L of 0.2 mM	NR2B, p-p38MAPK and TNF- α	Decrease the expression of inflammatory mediators (NR2B and p-p38MAPK) and inflammatory cytokine TNF- α
Fakhri <i>et al</i> [17]	Spinal cord injury (SCI) rats	-	ERK1/2, AKT	Decrease mechanical and thermal pain through the inhibition of ERK1/2 and the activation of AKT

Table 2. The clinical studies of astaxanthin for neuropathic pain

Author	Method	Subjects	Finding
MacDermid <i>et al</i> [18]	Randomized Controlled Trial	63 patients with Carpal Tunnel Syndrome	No difference in pain reduction with add-on astaxanthin
Latumahina <i>et al</i> [19]	Randomized Controlled Trial	36 subjects with painful diabetic neuropathy	There was a significant reduction in pain on both therapy groups ($p=0.000$), where the pain scale reduction in the astaxanthin group was higher but not significant (2.45 ± 2.02 vs 2.37 ± 2.38 , $p>0.05$)

In the study of 63 patients with Carpal Tunnel Syndrome, astaxanthin as an adjunct in conservative management of CTS has not been proven beneficial. There was a reduction in symptoms as measured by the SSS over the course of treatment in both groups ($p = 0.002$), but no differences between the groups ($p = 0.18$). The Disability of Arm, Shoulder and Hand

questionnaire and the Short Form 36-item Health Survey showed no effects over time or between treatment groups. [18]

The study from Latumahina [19] is a randomized, open label, controlled group with 8 weeks of follow up that conducted on 36 subjects with painful diabetic neuropathy. This study showed that there was a significant reduction in pain on both therapy groups ($p=0,000$), where the pain scale reduction in the intervention group was higher than the control group (2.45 ± 2.02 vs 2.37 ± 2.38), but there was no significant difference on statistical analysis between the two treatment groups ($p=0,692$).

Further studies with larger elderly subjects are needed to confirm the benefit effects of astaxanthin. Astaxanthin has shown very promising result in neuropathy and pain in the animal model, but were not confirmed in the clinical studies yet. Future trials that consist of larger, higher quality RCTs that specifically examine the role of astaxanthin as an adjunctive treatments for neuropathic pain patients are warranted.

Conclusion

The results of our review showed that there are gap in the pharmacological treatment in neuropathic pain. Astaxanthin showed very promising in the animal models for treating neuropathy condition. Future research should consist of larger, higher quality RCTs that specifically examine the role of astaxanthin as an adjunctive treatments for neuropathic pain patients.

Disclosure

The authors report no conflicts of interest in this work.

References

- [1] N. Murphy, C. Karlin-Zysman, and S. Anandan, "Management of Chronic Pain in the Elderly: A Review of Current and Upcoming Novel Therapeutics," *Am. J. Ther.*, vol. 25, pp. e36–e43, Jan. 2018, doi: 10.1097/MJT.0000000000000659.
- [2] S. Giovannini *et al.*, "Neuropathic pain in the elderly," *Diagnostics*, vol. 11, no. 4, pp. 1–19, 2021, doi: 10.3390/diagnostics11040613.
- [3] B. Parsons *et al.*, "Economic and humanistic burden of post-trauma and post-surgical neuropathic pain among adults in the United States," *J. Pain Res.*, vol. 6, pp. 459–469, 2013, doi: 10.2147/jpr.s44939.
- [4] D. C. Rosenberger, V. Blechschmidt, H. Timmerman, A. Wolff, and R. D. Treede, *Challenges of neuropathic pain: focus on diabetic neuropathy*, vol. 127, no. 4. Springer Vienna, 2020.
- [5] N. Attal, M. Lanteri-Minet, B. Laurent, J. Fermanian, and D. Bouhassira, "The specific disease burden of neuropathic pain: results of a French nationwide survey.," *Pain*, vol. 152, no. 12, pp. 2836–2843, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.pain.2011.09.014.
- [6] K. A. Radzun *et al.*, "Anti-inflammatory Effects of Astaxanthin Extracted from Microalgae *Hematococcus pluvialis* and Combinations with Palm Tocotrienol Rich-Fraction in RAW 264.7 Macrophages," *Pharmacogn. J.*, vol. 14, no. 1, pp. 205–215, 2022, doi: 10.5530/pj.2022.14.26.
- [7] K. Sharma *et al.*, "Astaxanthin ameliorates behavioral and biochemical alterations in in-vitro and in-vivo model of neuropathic pain," *Neurosci. Lett.*, vol. 674, pp. 162–170, May 2018, doi: 10.1016/J.NEULET.2018.03.030.
- [8] P. C. Langley, C. Van Litsenburg, J. C. Cappelleri, and D. Carroll, "The burden associated with neuropathic pain in Western Europe," *J. Med. Econ.*, vol. 16, no. 1, pp. 85–95, 2013, doi: 10.3111/13696998.2012.729548.
- [9] A. Berger, A. Sadosky, E. Dukes, J. Edelsberg, and G. Oster, "Clinical characteristics and patterns of healthcare utilization in patients with painful neuropathic disorders in UK general practice: A retrospective cohort study," *BMC Neurol.*, vol. 12, 2012, doi: 10.1186/1471-2377-12-8.
- [10] A. Sadosky *et al.*, "Burden of illness associated with painful diabetic peripheral neuropathy among adults seeking treatment in the US: Results from a retrospective

- chart review and cross-sectional survey," *Diabetes, Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.*, vol. 6, pp. 79–92, 2013, doi: 10.2147/DMSO.S37415.
- [11] J. K. Liu, "Antiaging agents: safe interventions to slow aging and healthy life span extension," *Nat. Products Bioprospect.*, vol. 12, no. 1, 2022, doi: 10.1007/s13659-022-00339-y.
 - [12] S. Wang and X. Qi, "The Putative Role of Astaxanthin in Neuroinflammation Modulation: Mechanisms and Therapeutic Potential," *Front. Pharmacol.*, vol. 13, no. June, pp. 1–20, 2022, doi: 10.3389/fphar.2022.916653.
 - [13] P. Si and C. Zhu, "Biological and neurological activities of astaxanthin (Review)," *Mol. Med. Rep.*, vol. 26, no. 4, 2022, doi: 10.3892/mmr.2022.12816.
 - [14] R. Landon, V. Gueguen, H. Petite, D. Letourneur, G. Pavon-Djavid, and F. Anagnostou, "Impact of Astaxanthin on Diabetes Pathogenesis and Chronic Complications," *Mar. Drugs*, vol. 18, no. 7, pp. 1–21, 2020, doi: 10.3390/md18070357.
 - [15] X. Jiang *et al.*, "Chronic trans-astaxanthin treatment exerts antihyperalgesic effect and corrects co-morbid depressive like behaviors in mice with chronic pain.," *Neurosci. Lett.*, vol. 662, pp. 36–43, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.neulet.2017.09.064.
 - [16] S. Fakhri, L. Dargahi, F. Abbaszadeh, and M. Jorjani, "Astaxanthin attenuates neuroinflammation contributed to the neuropathic pain and motor dysfunction following compression spinal cord injury," *Brain Res. Bull.*, vol. 143, pp. 217–224, 2018, doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.09.011.
 - [17] S. Fakhri, L. Dargahi, F. Abbaszadeh, and M. Jorjani, "Effects of astaxanthin on sensory-motor function in a compression model of spinal cord injury: Involvement of ERK and AKT signalling pathway," *Eur. J. Pain (United Kingdom)*, vol. 23, no. 4, pp. 750–764, 2019, doi: 10.1002/ejp.1342.
 - [18] J. C. MacDermid, J. I. Vincent, B. S. Gan, and R. Grewal, "A blinded placebo-controlled randomized trial on the use of astaxanthin as an adjunct to splinting in the treatment of carpal tunnel syndrome," *Hand*, vol. 7, no. 1, pp. 1–9, 2012, doi: 10.1007/s11552-011-9381-1.
 - [19] Latumahina, PK, Pinzon RT, Pramudita EA, Reduction of pain scale in painful diabetic neuropathy patients with additional astaxanthin therapy at Bethesda hospital Yogyakarta, thesis, Duta Wacana Christian University School of Medicine, 2021

PENINGKATAN SEL FIBROBLAS PADA *WOUND HEALING* LUKA SAYAT TIKUS JANTAN (*Rattus norvegicus*) DIABETES MELITUS DENGAN PEMBERIAN ALOIN

¹Ade Teti Vani

Program Studi Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Baiturrahmah
Padang, Indonesia

Email: adetativani@fk.unbrah.ac.id*

²Lismawati, ³Nadia Purnama Dewi, ⁴Dessy Abdullah, ⁵Meta Zuliyati Oktora, ⁶Cindy Arlita

^{2,3,4,5}Program Studi Kedokteran, ⁶Mahasiswa Program Studi Kedokteran

^{2,3,4,5,6}Fakultas Kedokteran, Universitas Baiturrahmah

Padang, Indonesia

lismawati.rasyid01@gmail.com, nadiapurnamadewi@fk.unbrah.ac.id,

dessyabdullah@fk.unbrah.ac.id, metazuliyatioktora@fk.unbrah.ac.id,

cindyarlita27@gmail.com

Abstrak- Proses penyembuhan luka pada kulit diabetesi mengalami perlambatan oleh karena disfungsi fibroblas. Aloin meningkatkan ekspresi fibroblas yang dapat mempercepat proses *wound healing* pada penderita Diabetes Melitus (DM). Tujuan penelitian yaitu untuk mengetahui efek peningkatan sel fibroblas pada *wound healing* luka sayat tikus jantan DM dengan pemberian aloin. Metode penelitian menggunakan prinsip *true experimental* dengan pendekatan *post-test serial only control group design*. Perlakuan berupa luka sayat pada tikus. Kelompok penelitian menggunakan 4 kelompok dengan control negative berupa tikus sehat, control positif berupa tikus DM. kelompok perlakuan 1 berupa tikus DM yang diberi aloin 1,25 mg/kgBB dan perlakuan 2 berupa tikus DM yang diberi aloin 2,5 mg/kgBB. Ekspresi fibroblas dihitung pada hari ke-7 dan hari ke-14. Analisis bivariat menggunakan uji Friedman yang dilanjutkan dengan uji *Post-Hoc Wilcoxon*. Hasil penelitian yaitu terdapat peningkatan fibroblas signifikan pada kelompok perlakuan yang diberi aloin dengan dosis 1,25 mg/kgBB dan dosis 2,5 mg/kgBB. Kesimpulan yaitu Aloin mempercepat *wound healing* luka sayat pada tikus DM dengan mekanisme peningkatan ekspresi fibroblas dengan dosis minimal 1,25 mg/KgBB. Saran penelitian yaitu pemeriksaan re-epitelisasi dan kepadatan kolagen dermis pada *wound healing* luka sayat tikus DM yang diberi aloin pada penelitian selanjutnya.

Kata Kunci: Fibroblas; *wound healing*, aloin, diabetes melitus

I. PENDAHULUAN

Kulit diabetesi mengalami gangguan fungsi fibroblas dan keratinosit dermal akibat penumpukan Reactive Oxygen Species (ROS). Penumpukan ROS mengakibatkan sel stress oksidatif yang mengaktifkan sitokin pro inflamasi persisten, aktivasi enzim matriks metalloproteinase dan penurunan matriks ekstraseluler. Perlambatan migrasi fibroblas mengakibatkan perlambatan angiogenesis, angiogenesis dan sistesis kolagen. Penurunan deposit serat kolagen menyebabkan tertundanya proses *wound healing* yang berakibat luka kronis atau perburukan luka[1], [2].

Khamaisi et al, 2016 menyatakan bahwa terjadi perlambatan migrasi dan penurunan fungsi fibroblas pada kulit diabetes yang mengalami luka dibandingkan kulit yang sehat[3]. Ibuki et al, 2018 menyatakan bahwa wanita Jepang diabetesi mengalami obesitas dan penuaan dini. Penuaan dini yang diamati adalah peningkatan *Advanced Glycation End* (AGEs), penurunan hidrasi stratum korneum, peningkatan *transepidermal waterloss* dan penurunan kepadatan kolagen. Penuaan dini yang terjadi pada diabetes menjadi faktor resiko untuk perlambatan *wound healing*[4].

Aloin adalah senyawa aktif golongan antrakuinon yang ditemukan pada Aloe vera. Aloin bersifat antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan[5], [6]. Renuga et al, 2019 menyatakan bahwa senyawa aloin adalah senyawa antioksidan yang berfungsi sebagai *soothing gel* yang bersifat mempertahankan kelembaban dan barrier kulit, serta mempercepat penyembuhan luka[7]. Liu et al, 2015 menyatakan bahwa aloin sebagai proteksi fibroblas dari kerusakan

akibat pemanasan dengan mekanisme menekan ROS dan aktivasi glutathione serta enzim *Super Oxide Dismutase* (SOD).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, peneliti ingin melihat efek aloin terhadap peningkatan fibroblas pada proses *wound healing* diabetes. Tujuan penelitian adalah mengetahui jumlah ekspresi fibroblas hari ke-7 dan hari ke-14 dengan pemberian aloin, serta mengetahui efektivitas pemberian aloin terhadap peningkatan jumlah ekspresi fibroblas pada proses *wound healing*.

II. METODE

Penelitian bersifat *true experimental laboratoris* dengan prinsip *post-test serial only control group* design. Populasi penelitian adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) diabetes melitus (DM) dengan pemberian *Streptozocin* (STZ), umur 3 bulan dengan berat badan 150–200 gram. Penelitian ini menggunakan teknik pengambilan sampel *Simple Random Sampling*. Penelitian terdiri atas 4 kelompok, yaitu kontrol negatif (K (-)), kontrol positif (K (+)), Perlakuan 1 (P1) dan Perlakuan 2 (P2). K (-) menggunakan tikus sehat tanpa induksi STZ dan terapi luka dengan NaCl 0,9%. K (+) menggunakan tikus DM dengan pemberian STZ dan terapi luka dengan NaCl 0,9%. P1 menggunakan tikus DM dengan pemberian STZ dan terapi luka dengan aloin dosis 1,25 mg/kgBB. P2 menggunakan tikus DM dengan pemberian STZ dan terapi luka dengan aloin dosis 2,5 mg/kgBB.

Aloin didapatkan dari ekstraksi etanol Aloe vera. Sebanyak 80 kg Aloe vera basah diekstraksi dan *menghasilkan* kandungan aloin sebesar 0,113 %. Analisis aloin menggunakan Teknik HPLC. Setelah ekstraksi aloin, penelitian dilanjutkan dengan adaptasi tikus selama 1 minggu, yang dilanjutkan dengan induksi STZ dengan dosis 55 mg/kg BB. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-4 dan ke-11 pasca injeksi. Tikus dinyatakan DM apabila kadar glukosa darah > 150 mg/dL.

Pembuatan luka dilakukan dengan melakukan sayatan sebesar 20mm x 10mm x 4 mm. Sayatan *dilakukan* sesudah tikus dimandikan dan bulu dicukur bersih. Pemberian ekstrak aloin dan NaCl 0,9% dilakukan sekali sehari. Pengambilan preparat dilakukan pada hari ke 7 dan hari ke 14 untuk menghitung ekspresi fibroblas.

Fibroblas dihitung dengan melihat 3 lapang pandang dengan area pinggir-tengah-pinggir preparat. Kemudian dilakukan penghitungan rerata fibroblas. Analisis ekspresi fibroblas dilakukan dengan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui distribusi data. Uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk yang terbukti data terdistribusi tidak normal. Uji homogenitas menggunakan *Test of Homogeneity of Variances* yang terbukti data tidak homogen. Selanjutnya dilakukan uji non parametrik Friedman yang dilanjutkan dengan uji Post-Hoc Wilcoxon. Hipotesis penelitian yaitu pemberian aloin meningkatkan ekspresi sel fibroblas pada *wound healing* luka sayat tikus jantan (*Rattus norvegicus*) diabetes mellitus.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pemulihan luka meliputi penutupan luka pada permukaan, penutupan pembuluh darah yang terkoyak, regenerasi dari sel-sel perifer serta penggantian jaringan otot oleh serabut kolagen. Proses penyembuhan luka di kelompokkan dalam empat fase yaitu fase homeostasis, fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase remodeling. Apabila terjadi luka, maka fungsi-fungsi dari kulit tidak dapat berjalan seperti yang seharusnya[8]. Fibroblas berperan penting pada fase proliferasi. fibroblas bergerak aktif menuju jaringan yang rusak, mensintesis kolagen dan menghasilkan jaringan granulasi untuk kembali menyatukan jaringan luka[9]. Fibroblas merupakan sel utama dalam mekanisme penyembuhan luka. Fibroblas bermigrasi ke area luka dan berproliferasi secara aktif. Jumlah sel fibroblas mulai mengalami peningkatan pada hari ke-3 dan terus meningkat pada hari ke-5 sampai mencapai puncaknya hari ke 7 serta menjadi sel yang dominan. Pada hari ke-14 pemulihan luka sudah memasuki fase remodeling. Proses remodeling membentuk jaringan dengan ukuran, bentuk, dan kekuatan yang optimal [10], [11].

Ekspresi Fibroblas Hari ke-7

Penghitungan ekspresi fibroblas hari ke-7 memperlihatkan ekspresi tertinggi pada kelompok K (-), yaitu tikus sehat. Kelompok tikus DM mengalami perlambatan ekspresi fibroblas. Hiperglikemia menyebabkan disfungsi fibroblas, yaitu gangguan pembentukan miofibroblas, kerusakan matriks ekstraseluler serta hipoksia jaringan. Kerusakan berlanjut hingga apoptosis fibroblas yang menyebabkan penundaan penyembuhan luka dan luka menjadi kronis[12], [13]. Wang et al, 2019 menyatakan bahwa pada penyembuhan luka diabetes terdapat disregulasi *Transforming Growth Factor-β* (TGF-β) yang berakibat lemahnya kontraktile fibroblas, perlambatan perubahan fibroblas ke miofibroblas dan penundaan re-epitelisasi[14]. Ekspresi fibroblas hari ke-7 terlihat pada tabel 1.

Tabel 1. Ekspresi fibroblas pada hari ke-7

Kelompok	N	Mean±Std.Dev	Nilai Min	Nilai Max
K -	6	25,17±5,307	20	33
K +	6	6,83±2,137	4	9
P1	6	9,50±1,871	10	13
P2	6	14,33±4,320	4	21

Pemberian aloin pada kelompok perlakuan memperlihatkan ekspresi fibroblas yang lebih banyak dibandingkan dengan pemberian NaCl 0.9% bahkan dengan dosis 2,5 mg/kgBB nilai ekspresi fibroblas mencapai ekspresi fibroblas pada tikus normal. aloin dapat meningkatkan angiogenesis dan proliferasi fibroblas dengan menginduksi ekspresi faktor pertumbuhan epidermal, sehingga mempercepat penyembuhan luka. Selain itu, aloin juga membuat serat kolagen kulit lebih teratur setelah penyembuhan fibroblas sehingga mengurangi pembentukan bekas luka, aloin juga menghambat respons inflamasi[15], [16].

Ekspresi Fibroblas Hari ke-14

Pada hari ke-14, kulit normal sudah memasuki fase remodeling yang ditandai dengan penurunan ekspresi fibroblas. Pada kulit diabetesi masih terjadi peningkatan ekspresi fibroblas. Hal ini terlihat pada kelompok K (+) dan perlakuan, dimana ekspresi fibroblas pada kelompok yang diberi aloin lebih tinggi daripada kelompok perlakuan yang diberikan NaCl 0,9%. Hasil ekspresi fibroblas terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Ekspresi Fibroblas Pada Hari ke-14

Kelompok	N	Mean±Std.Dev	Nilai Min	Nilai Max
K-	6	8,67±2,338	5	12
K+	6	12,00±1,549	10	14
P1	6	17,00±3,578	12	22
P2	6	20,17±3,189	15	24

Ekspresi fibroblas tertinggi didapatkan pada kelompok pemberian aloin dengan dosis 2,5 mg/kgBB. Akan tetapi, kedua dosis aloin memperlihatkan ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok tikus DM yang diberi NaCl 0,9%. Berdasarkan penelitian ini, terlihat bahwa aloin meningkatkan ekspresi fibroblas pada penyembuhan luka diabetes. Proses re-epitelisasi dengan migrasi dan proliferasi fibroblas mempunyai peran penting dalam proses penyembuhan normal. Pada diabetesi, terjadi penurunan *growth factor* sehingga pada hari ke 7 sel fibroblas masih sedikit dan akan terus meningkat sampai puncak hari 14. Fibroblas berdiferensiasi menjadi miofibroblas serta terlihat pembentukan kolagen yang menandakan mulainya tahapan penyembuhan[17].

Proses penyembuhan luka mengalami gangguan pada pasien diabetes. Gangguan penyembuhan luka yang berhubungan dengan diabetes disebabkan oleh multiple kompleks yaitu penurunan *growth factor*, produksi sitokin, disfungsi endotel, gangguan sel inflamasi serta berkurangnya migrasi dan proliferasi fibroblas[18].

Peningkatan Ekspresi Fibroblas dengan Pemberian Aloin

Penyembuhan luka sayat dengan pemberian aloin memperlihatkan peningkatan fibroblas dengan pemberian dua dosis aloin, dimana peningkatan ekspresi fibroblas terbesar didapat dengan pemberian dosis 1,25 mg/KgBB. Hasil peningkatan ekspresi fibroblas terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Analisis Bivariat Ekspresi Fibroblas

Kelompok	N	Uji Normalitas Shapiro-wilk	Uji Homogenitas	Uji Friedman	Uji Wilcoxon
K- H7	6	0,270	0,012	0,000	
K+ H7	6	0,331			
P1 H7	6	0,80			
P2 H7	6	0,434			
K- H14	6	0,896			
K+ H14	6	0,456			
P1 H14	6	0,974			0,027
P2 H14	6	0,653			0,043

Pada uji bivariat didapatkan nilai $P < 0,05$ sehingga dapat dinyatakan bahwa hipotesis penelitian diterima. Hasil analisis statistik menyatakan bahwa pemberian aloin meningkatkan ekspresi fibroblas pada *wound healing* luka sayat tikus DM. selanjutnya uji Wilcoxon menyatakan bahwa kedua konsentrasi aloin meningkatkan ekspresi fibroblas secara signifikan. Selanjutnya jika dibandingkan kemaknaan antara kedua dosis, maka didapatkan dosis 1,25 mg/KgBB lebih bermakna untuk peningkatan ekspresi fibroblas *wound healing*. Penelitian Donkor et al, 2020 menyatakan bahwa aloin dengan dosis 2,5 mg/kgBB yang diformulasi dalam sediaan salep menunjukkan penghambatan pertumbuhan infeksi pada kulit, mempercepat penyembuhan luka, dan menekan pertumbuhan mikroorganisme patogen kulit[19]. Berbeda dengan Penelitian lainnya yang menggunakan dosis lebih rendah, Seyed et al, 2017 menyatakan bahwa aloin konsentrasi 5% atau konsentrasi dosis rendah paling efektif untuk penggunaan percepatan *wound healing* secara topical dibanding konsentrasi 10%[20].

Pada penelitian ini, tidak terlihat tanda toksisitas dermis. Toksisitas dermis ditandai dengan degenerasi kolagen, sel fibroblas atipikal ataupun apoptosis sel, dan degenerasi matriks. Berdasarkan gambaran histologi dermis pada penelitian, dosis 2,5 mg/KgBB bukanlah dosis toksik aloin pemberian topical.

Penelitian lainnya, Li et al, 2017 menyatakan bahwa pemberian aloin untuk mempercepat penyembuhan luka sangat efektif, melalui mekanisme percepatan migrasi fibroblas, meningkatkan proliferasi fibroblas dan sel endothelial, mendorong re-epitelisasi, dan percepatan pembentukan kolagen yang teratur dan rapat. Berdasarkan penelitian ini dapat diperkirakan, dosis aloin 2,5 mg/KgBB efektif untuk percepatan penyembuhan luka, sehingga pada hari ke-14, kulit tikus DM telah memasuki tahap remodeling, sehingga telah terjadi penurunan ekspresi fibroblas[21]. Fase remodeling dapat terlihat jika pemeriksaan gambaran histologi mencakup re-epitelisasi serta kepadatan kolagen. Pemeriksaan ini tidak dilakukan pada penelitian ini, yang menjadi kelemahan penelitian serta sebaiknya diperiksa pada penelitian selanjutnya.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan peneltian ini adalah pemberian aloin meningkatkan ekspresi sel fibroblas pada *wound healing* luka sayat tikus jantan (*rattus norvegicus*) diabetes melitus dengan dosis minimal sebesar 1,25 mg/KgBB. Penelitian selanjutnya hendaknya melihat re-epitelisasi dan kepadatan kolagen luka sayat pada pemberian aloin agar mengetahui laju peningkatan fibroblast serta percepatan fase remodeling pada luka sayat tikus jantan DM.

UCAPAN TERIMA KASIH

DR. Utriweni Mukhaiyar, S.Si, M.Si
dr. Annisa Lidra Maribeth, MKM

DAFTAR PUSTAKA

- [1] A. Labib, J. Rosen, and G. Yosipovitch, "Skin Manifestations of Diabetes Mellitus," *Endotext*, Apr. 2022, Accessed: Jan. 23, 2023. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK481900/>.
- [2] Y. Zheng, S. H. Ley, and F. B. Hu, "Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 14, no. 2, pp. 88–98, 2018, doi: 10.1038/nrendo.2017.151.
- [3] M. Khamaisi *et al.*, "PKC δ inhibition normalizes the wound-healing capacity of diabetic human fibroblasts," *J. Clin. Invest.*, vol. 126, no. 3, pp. 837–853, Mar. 2016, doi: 10.1172/JCI82788.
- [4] A. Ibuki *et al.*, "Aging-like physiological changes in the skin of Japanese obese diabetic patients," *SAGE Open Med.*, vol. 6, p. 2050312118756666, Jan. 2018, doi: 10.1177/2050312118756662.
- [5] R. Bista, A. Ghimire, and S. Subedi, "Phytochemicals and Antioxidant Activities of Aloe Vera (Aloe Barbadensis)," *J. Nutr. Sci. Heal. Diet*, vol. 1, no. 1, Jun. 2020, doi: 10.47890/JNSHD/2020/RBISTA/10243803.
- [6] ade teti Vani, *GEL ALOE VERA - Google Play Books*, 1st ed. Indramayu: Adab, 2022.
- [7] G. Renuga, "Formulation of Moisturizer Aloin from Aloe Vera Plant as Cosmetic Skin Protective Medicine," *Int. J. Res. Appl. Sci. Eng. Technol.*, vol. 7, no. 2, pp. 410–411, Feb. 2019, doi: 10.22214/IJRASET.2019.2053.
- [8] S. A. Gunawan, I. Berata, and I. Wirata, "Histopatologi Kulit pada Kesembuhan Luka Insisi Tikus Putih Pasca Pemberian Extracellular Matrix (ECM) yang Berasal dari Vesica Urinaria Babi," *Indones. Med. Veterinus*, vol. 8, no. 3, pp. 313–324, 2019, doi: 10.19087/imv.2019.8.3.313.
- [9] A. D. D. ANNISA, "EFEK GEL EKSTRAK LIDAH BUAYA (Aloe vera) TERHADAP JUMLAH SEL FIBROBLAS UNIVERSITAS SUMATERA UTARA," 2019.
- [10] M. A. HARAHAHAP, "PENGARUH PEMBERIAN GEL EKSTRAK DAUN PIRDOT (Saurauia vulcani, Korth) 5% DAN 7% TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA SOKET PASCA PENCABUTAN GIGI TIKUS PUTIH GALUR WISTAR (Rattus novergicus).Fakultas kedokteran gigi universitas sumatera utara medan 2020," 2020.
- [11] N. Primadina, A. Basori, and D. S. Perdanakusuma, "Proses Penyembuhan Luka Ditinjau dari Aspek Mekanisme Seluler dan Molekuler," *Qanun Med. - Med. J. Fac. Med. Muhammadiyah Surabaya*, vol. 3, no. 1, pp. 31–35, 2019, doi: 10.30651/jqm.v3i1.2198.
- [12] R. Wan, J. P. Weissman, K. Grundman, L. Lang, D. J. Grybowski, and R. D. Galiano, "Diabetic wound healing: The impact of diabetes on myofibroblast activity and its potential therapeutic treatments," *Wound Repair Regen.*, vol. 29, no. 4, pp. 573–581, Jul. 2021, doi: 10.1111/WRR.12954.
- [13] L. M. Morton and T. J. Phillips, "Wound healing and treating wounds: Differential diagnosis and evaluation of chronic wounds," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 74, no. 4, pp. 589–605, Apr. 2016, doi: 10.1016/J.JAAD.2015.08.068.
- [14] X. T. Wang, C. C. McKeever, P. Vonu, C. Patterson, and P. Y. Liu, "Dynamic Histological Events and Molecular Changes in Excisional Wound Healing of Diabetic DB/DB Mice," *J. Surg. Res.*, vol. 238, pp. 186–197, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.JSS.2019.01.048.
- [15] J. vera: A. M. P. U. in S. W. H. Liang, L. Cui, J. Li, S. Guan, K. Zhang, and J. Li, "Aloe vera: A Medicinal Plant Used in Skin Wound Healing," *Tissue Eng. - Part B Rev.*, vol. 27, no. 5, pp. 455–474, 2021, doi: 10.1089/ten.teb.2020.0236.
- [16] W. Li *et al.*, "Sandwich structure Aloin-PVP/Aloin-PVP-PLA/PLA as a wound dressing to accelerate wound healing," *RSC Adv.*, vol. 12, no. 42, p. 27300, Sep. 2022, doi: 10.1039/D2RA02320B.
- [17] Hidayat.dkk, "EFFECT OF TOPICAL ZnSO₄ 1 % ON THE MMP-9 EXPRESSIONS AND THE NUMBER OF FIBROBLAST IN TRAUMATIC ULCER HEALING OF DIABETES MELITUS WISTAR RATS Diabetes mellitus is the worldwide metabolic disease and lead to higher mortality in every years around the globe," vol. 2, no. 2, pp. 163–171, 2018.

- [18] F. W. Liu, F. C. Liu, Y. R. Wang, H. I. Tsai, and H. P. Yu, "Aloin Protects Skin Fibroblasts from Heat Stress-Induced Oxidative Stress Damage by Regulating the Oxidative Defense System," *PLoS One*, vol. 10, no. 12, p. e0143528, Dec. 2015, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0143528.
- [19] A. Donkor, M. Ntiamoah, and N. Kuubabongnaa, "Akses terbuka Evaluasi potensi anti infeksi salep aloin A dan aloin yang diformulasi Terisolasi dari Aloe barbadensis Miller," pp. 1–8, 2020.
- [20] K. Vijayaraghavan, J. Rajkumar, and M. A. Seyed, "Efficacy of Chromolaena odorata leaf extracts for the healing of rat excision wounds," *Vet. Med. (Praha)*, vol. 62, no. 10, pp. 565–578, 2017, doi: 10.17221/161/2016-VETMED.
- [21] L. J. Li *et al.*, "Evaluation of efficacy of aloin in treating acute trauma in vitro and in vivo," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 88, pp. 1211–1219, Apr. 2017, doi: 10.1016/J.BIOPHA.2017.01.174.

PEMBERIAN GEL SERISIN 10% MENINGKATKAN HIDRASI KULIT TIKUS (*Rattus norvegicus*) WISTAR JANTAN YANG DIPAPAR SINAR UVB

Fitria Agustina
Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
fitria.agustina@student.unud.ac.id

Abstrak

Pada konsep *Anti-Aging Medicine*, proses penuaan dapat ditunda, diperlambat, bahkan dikembalikan ke kondisi kesehatan awal seperti pada usia fisiologis muda dan sehat. Penuaan pada kulit yang disebabkan paparan sinar ultraviolet dikenal dengan istilah *photoaging* dengan fenotip seperti kerutan, pigmentasi tidak teratur, kekeringan kulit, dan penurunan ketebalan dermis. *Transepidermal water loss* (TEWL) yang berlebihan dan berkurangnya kemampuan kulit mengikat air (*skin capacitance*) adalah salah satu penyebab kulit kering pada kondisi *photoaging*. Saat ini berbagai macam bahan baku diteliti karena memiliki potensi sangat besar untuk mencegah kulit kering akibat *photoaging*, antara lain serisin. Serisin merupakan produk sampingan yang tidak digunakan dari industri tekstil yaitu air limbah *degumming* dari kokon ulat sutera. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah gel serisin 10% dapat meningkatkan hidrasi kulit tikus yang dipapar sinar UVB dengan melakukan pengukuran TEWL dan *skin capacitance*. Dilakukan uji eksperimental pemberian gel serisin 10% pada 40 ekor tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar sinar UVB. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kontrol, UVB, UVB dengan gel dasar, dan UVB dengan gel serisin 10%. Perlakuan dilakukan selama 4 minggu dan diakhir studi dilakukan pemeriksaan hidrasi kulit dengan mengukur TEWL (Tewameter® TM300) dan *skin capacitance* (Corneometer® CM825). Hasil penelitian, pada kelompok UVB dengan gel serisin 10% didapatkan, TEWL yang lebih rendah (6,05 vs 11,23 vs 10,48 g/m²/h; $p < 0,001$) dan *skin capacitance* yang lebih tinggi (41,57 vs 20,11 vs 30,69 AU; $p < 0,001$) jika dibandingkan dengan kelompok UVB dan UVB dengan gel dasar. Namun jika dibandingkan dengan kelompok kontrol tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian gel serisin 10% meningkatkan hidrasi kulit tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan yang dipapar sinar UVB. Penelitian ini harus dilanjutkan ke tahap penelitian uji klinis untuk membuktikan efek gel serisin 10% terhadap hidrasi kulit pada manusia untuk mencegah dan mengatasi *photoaging*.

Kata kunci: anti aging medicine, photoaging, serisin, TEWL, skin capacitance

PEMBERIAN EKSTRAK AIR BUNGA TELANG (*Clitoria ternatea* L.) MENYEBABKAN FUNGSI MEMORI LEBIH BAIK DAN KADAR *BRAIN-DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR* (BDNF) LEBIH TINGGI PADA TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI D-GALAKTOSA

¹Putri Yekti Budi Asih
Program Studi Magister Ilmu Biomedik Anti-Aging Medicine
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Bali, Indonesia

*Email: putriyekti87@yahoo.co.id

²I Putu Eka Widyadharma, ³I Gusti Ayu Artini
²Departemen Neurologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Bali, Indonesia

Email: eka.widyadharma@unud.ac.id

³Departemen Farmakologi dan Terapi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Bali, Indonesia

Email: ayuartini@unud.ac.id

ABSTRAK

Latar belakang: Kemampuan fungsional otak akan mengalami penurunan yang progresif akibat proses penuaan, salah satunya penurunan fungsi memori. Ekstrak air bunga telang (BT) dengan kadar antosianin yang tinggi, berpotensi menyebabkan fungsi memori yang lebih baik dan kadar BDNF yang lebih tinggi. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak air BT pada tikus wistar yang diinduksi D-galaktosa memiliki efek neuroprotektif. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian *randomized posttest-only control group design*, menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria eligibilitas, diacak menjadi 5 kelompok. P1 diberi *aquadest* (kontrol negatif), P2 (donepezil 3mg/kgBB) sebagai kontrol positif, P3 (ekstrak air BT 100mg/kgBB), P4 (200mg/kgBB), dan P5 (400mg/kgBB), setiap hari selama 9 minggu. D-galaktosa (100mg/kgBB) diberikan setiap hari untuk semua kelompok selama 8 minggu. **Hasil:** Rerata fungsi memori pada P3 ($50.35 \pm 9.996\%$), P4 ($51.13 \pm 13.155\%$), dan P5 ($53.26 \pm 18.287\%$) secara signifikan lebih baik dibandingkan P1. Rerata kadar BDNF pada P3 ($1.648 \pm 0.378 \text{ ng/ml}$), P4 ($1.808 \pm 0.504 \text{ ng/ml}$), dan P5 ($1.931 \pm 0.636 \text{ ng/ml}$), lebih tinggi dibandingkan P1. Uji Post Hoc membuktikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara P3, P4, dan P5 jika dibandingkan dengan P1, namun tidak ada perbedaan yang signifikan antara P3, P4 dan P5. **Kesimpulan:** Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak air BT pada dosis 100mg/kgBB menyebabkan kadar BDNF lebih tinggi dan fungsi memori lebih baik pada tikus wistar yang diinduksi D-galaktosa. **Saran:** Perlu penelitian lebih lanjut pada ekstrak air BT terkait potensi antosianin dalam menekan apoptosis dan respon inflamasi, serta penelitian dengan dosis lebih rendah dari 100mg/kgBB untuk mengetahui dosis efektif yang paling efisien dalam memberikan efek neuroprotektif.

Kata Kunci: BDNF, D-galaktosa, ekstrak air bunga telang

PENDAHULUAN

Akibat proses penuaan, komponen dalam tubuh manusia tidak lagi mengalami perkembangan dan cenderung menurun. Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi yang pesat memberikan dampak positif dan dapat dijadikan dasar untuk mengatasi proses penuaan yang selanjutnya berdampak pada peningkatan usia harapan hidup seseorang yang merupakan salah satu indikator utama kualitas kesehatan manusia [1]. Seperti sistem organ lainnya, kemampuan fungsional otak menurun secara progresif seiring bertambahnya usia, bermanifestasi sebagai penurunan fungsi kognitif, pembelajaran, dan memori. Selama penuaan, penurunan ini terjadi di beberapa domain termasuk fungsi eksekutif, memori kerja, dan memori episodik [2]. Perubahan ini memainkan peran penting dalam penyakit yang berkaitan dengan usia, seperti Demensia Alzheimer (DA), yang merupakan salah satu penyakit neurodegeneratif yang paling umum [3].

Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) adalah faktor neurotropik yang berperan penting dalam kelangsungan hidup neuron, mendukung pembentukan, perkembangan, mempertahankan keberadaan neuron, berpartisipasi dalam plastisitas neuron yang penting untuk fungsi belajar dan memori, dan sebagai neurotransmitter modulator [4,5]. Xu dkk. (2021) menunjukkan keterkaitan jalur pensinyalan BDNF dengan fungsi pembelajaran dan memori. BDNF berikatan dengan reseptor spesifiknya, yaitu *tyrosine kinase B* (TrkB) untuk meningkatkan pembelajaran, kinerja memori, dan berpartisipasi dalam pertumbuhan, diferensiasi, dan perbaikan neuron [6]. Penurunan kadar BDNF dikaitkan dengan peradangan saraf, fosforilasi protein Tau, akumulasi *amyloid β* , dan apoptosis neuron. Menariknya, peningkatan kadar BDNF telah terbukti mengurangi gangguan neurologis, kehilangan saraf, degenerasi sinaptik, dan defisit perilaku [7]. Beberapa penelitian lain juga menunjukkan bahwa penurunan kadar BDNF juga dapat mengakibatkan penurunan kemampuan belajar, gangguan memori, dan berhubungan dengan penyakit neurodegeneratif [5].

Model hewan untuk demensia dapat diklasifikasikan berdasarkan mekanisme spontan, induksi kimiawi, transgenik, dan lain-lain. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa pemberian D-galaktosa pada hewan percobaan dapat menginduksi penuaan otak dengan meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan *advanced glycation end products* (AGE), yang menyebabkan defisit kognitif (memori dan gangguan belajar), disfungsi mitokondria, degenerasi neuron, apoptosis neuron, penurunan produksi ATP, penurunan enzim antioksidan dan tingkat BDNF, astrosit dan mikroglia teraktivasi, dan menyebabkan neuroinflamasi [8]–[10]. Produksi ROS yang berlebihan telah terbukti terlibat dalam perkembangan berbagai penyakit neurodegeneratif. Dalam kondisi fisiologis, konsentrasi ROS dapat dikendalikan oleh antioksidan, yang dapat diproduksi secara endogen atau diperoleh dari asupan makanan. Namun, jika paparan stres oksidatif melebihi konsentrasi antioksidan endogen dalam tubuh, maka diperlukan asupan antioksidan yang salah satunya berasal dari bahan alami [11]. Beberapa kompleks fitokimia, seperti flavonoid, dengan fungsi antioksidan telah diidentifikasi sebagai agen terapi potensial untuk mencegah gangguan neurodegeneratif [12,13]. Mekanisme neuroprotektif dari flavonoid diduga berlangsung melalui beberapa mekanisme antara lain supresi peroksidasi lipid, inhibisi mediator inflamasi, modulasi ekspresi gen dan peningkatan aktivitas enzim antioksidan [13,14]. Salah satu golongan flavonoid yang banyak terdapat pada tumbuhan adalah antosianin, yang memperbaiki berbagai efek negatif dari proses yang terlibat dalam neurodegenerasi [15]. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa antosianin mampu melintasi sawar darah otak, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa ini dapat memediasi efek neuroprotektif secara langsung di sistem saraf pusat di mana terjadi apoptosis neuron [16].

Bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) telah banyak diteliti dan memiliki kandungan flavonoid, khususnya antosianin dalam kadar yang tinggi [17]. Kandungan antosianin ekstrak air bunga telang yang dibudidayakan di Bali adalah 141,21 mg/100 gram. Beberapa studi *in vivo* dan *in vitro* telah menunjukkan bahwa antosianin menghambat stres oksidatif yang dihasilkan pada penyakit neurodegeneratif dengan memberikan efek neuroprotektif [18]–[20]. Studi *in vivo* membuktikan bahwa ekstrak dari semua bagian tanaman bunga telang melindungi sel saraf dari cedera, meningkatkan memori episodik dalam kondisi stres dengan secara signifikan mengurangi autofagi, melindungi kerusakan sel saraf dengan mempertahankan jalur perbaikan kerusakan DNA selektif dan mengurangi ROS, serta menghambat apoptosis [21]. Studi *in vivo* lainnya menggunakan ekstrak akar dan seluruh bagian tanaman bunga telang menunjukkan peningkatan fungsi memori pada hewan percobaan [21,22]. Penelitian menggunakan ekstrak hidroalkohol bunga telang (pada dosis 100, 300, dan 500 mg/kg, p.o.) pada tikus wistar jantan yang diinduksi *Streptozotocin intra-cerebroventrikular* (STZ), menunjukkan bahwa ekstrak tanaman ini mampu mengurangi stres oksidatif, aktivitas penghambat kolinesterase, dan ekspresi *rho kinase* sehingga berpotensi untuk pengobatan defisit kognitif dan gangguan terkait memori [23].

Hingga saat ini, masih belum banyak penelitian mengenai manfaat peningkatan fungsi memori ekstrak bunga telang terutama bagian kelopaknya yang menghubungkan efek antioksidan, anti inflamasi, anti apoptosis dan neuroprotektif yang dapat menyebabkan peningkatan kadar BDNF. Sedangkan kelopak bunganya berwarna ungu kebiruan, menandakan bahwa bagian ini mengandung antosianin yang berpotensi tinggi untuk memicu fungsi memori yang lebih baik. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa pemberian ekstrak air bunga telang secara oral pada tikus wistar

yang diinduksi D-galaktosa, kemudian mengevaluasi fungsi memorinya dengan uji *Y-maze* dan memeriksa kadar BDNF dengan ELISA.

METODE

Rancangan dan Sampel Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan *animal model* dengan rancangan *randomized post-test only control group design*.

Sampel penelitian adalah 30 ekor tikus wistar jantan, umur 12-14 minggu, dengan berat 150-200gram, dipelihara di Laboratorium Biomedik Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Udayana yang memenuhi kriteria eligibilitas, kemudian sampel dibagi menjadi 5 kelompok secara acak dengan teknik *random allocation* menjadi 5 kelompok. P1 diberi *aquadest* (kontrol negatif), P2 diberi donepezil 3mg/kgBB (kontrol positif), P3 diberi perlakuan ekstrak air bunga telang dengan dosis 100mg/kgBB, P4 (200mg/kgBB), dan P5 (400mg/kgBB), setiap hari selama 9 minggu. Semua kelompok diinduksi D-galaktosa 100mg/kgBB i.p., sekali sehari, selama 8 minggu.

Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan, antara lain: ekstrak air bunga telang yang dibuat dengan metode maserasi kemudian ditambah sam sitrat hingga mencapai pH 4,5 agar antosianin stabil, makanan pellet BR-1A dalam bentuk konsentrat, donepezil, *aquadest*, D-galaktosa, kit pemeriksaan, alkohol 70%, dan ketamin HCl. Sedangkan alat yang digunakan dalam penelitian ini, meliputi: kandang tikus beserta kelengkapan pemberian makanan dan minuman, timbangan, sarung tangan, *sput*, *needle* steril, *scalpel*, sonde, *Y-maze*, kamera digital untuk merekam, tisu, dan *stopwatch*.

Prosedur Penelitian

Penilaian fungsi memori dilakukan menggunakan uji *Y-maze* dengan menghitung alternasi spontan yang dinyatakan dalam satuan persen. Tikus percobaan dibiarkan menjelajahi tiga lengan *Y-maze* selama 5 menit [24]. Uji *Y-maze* dilakukan pada malam hari di hari ke-70.

Setelah uji *Y-maze* selesai, tikus percobaan *dieuthanasia* dengan ketamin 100mg/kgBB melalui injeksi intraperitoneal. Jaringan otak tikus diambil dengan cara pembedahan kranium, kemudian dimasukkan dalam pot plastik yang telah diisi larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) sebanyak 0,5 ml. Setelah itu dilakukan pemeriksaan kadar BDNF pada jaringan otak dengan menggunakan ELISA.

Analisis Data

Semua data dianalisis dengan menggunakan program statistik SPSS 25 *for windows*. Analisis deskriptif dilakukan terhadap umur dan berat badan tikus percobaan, untuk melihat gambaran karakteristik dasar dari subjek penelitian pada lima kelompok. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro Wilk*, dan *Levene's test* untuk mengetahui homogenitas data antar kelompok. Kemudian dilakukan uji parametrik dengan *one-way ANOVA* untuk membandingkan apakah terjadi peningkatan kadar BDNF dan fungsi memori, dan hasil interpretasi didapatkan bahwa setidaknya satu kelompok memiliki rata-rata perbedaan statistik dari kelompok lainnya, kemudian dilanjutkan dengan melakukan tes *Post Hoc Bonferroni* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Selama penelitian tidak ditemukan tikus percobaan yang mati dan tidak terjadi kerusakan jaringan pada saat pengiriman sampel, sehingga jumlah sampel memenuhi kriteria penelitian.

Pengaruh Ekstrak Air Bunga Telang terhadap Fungsi Memori dan Kadar BDNF

Hasil analisis *one-way ANOVA* pada Tabel 1 menunjukkan bahwa ekstrak air bunga telang menyebabkan rerata fungsi memori dan kadar BDNF pada kelompok P3, P4, dan P5 memiliki nilai yang lebih tinggi dibandingkan P1 (kontrol negatif). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air bunga telang selama 9 minggu menyebabkan fungsi memori yang lebih baik dan kadar BDNF lebih tinggi pada tikus wistar yang diinduksi D-galaktosa. Hasil analisis uji parametrik dengan nilai signifikansi 0,04 pada fungsi memori dan 0,001 pada kadar BDNF ($p < 0,05$), sehingga dapat diinterpretasikan bahwa paling tidak satu kelompok memiliki rata-rata fungsi memori dan kadar BDNF yang berbeda secara statistik dengan kelompok lainnya.

Tabel 1. Perbedaan Fungsi Memori dan Kadar BDNF pada Kelima Kelompok

Variabel	Kelompok	n	Rerata±SB	CI 95%		p
				Lower	Upper	
Fungsi Memori (%)	P1	6	28,53±8,224	19,89	37,16	0,04*
	P2	6	56,61±8,351	47,84	65,37	
	P3	6	50,35±9,996	39,85	60,84	
	P4	6	51,13±13,155	37,32	64,93	
	P5	6	53,26±18,287	34,07	72,45	
Kadar BDNF (ng/ml)	P1	6	0,765±0,39	0,35	1,17	0,001*
	P2	6	2,009±0,495	1,48	2,52	
	P3	6	1,648±0,378	1,25	2,04	
	P4	6	1,808±0,504	1,27	2,33	
	P5	6	1,931±0,636	1,26	2,59	

n = jumlah sampel; SB = simpang baku; CI = *confident interval*; p = nilai signifikansi; * = signifikan secara statistik

Kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Bonferroni*, untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dan hasilnya menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan P3, P4, dan P5 jika dibandingkan dengan P1, namun tidak ditemukan perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan P2. Selain itu juga tidak ditemukan perbedaan yang bermakna pada ketiga kelompok perlakuan P3, P4 dan P5.

Kandungan antosianin pada ekstrak air bunga telang terbukti efektif menyebabkan fungsi memori lebih baik pada tikus wistar yang diinduksi D-galaktosa. Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Chen *et al.* (2019) bahwa antosianin mampu memperbaiki gangguan memori yang diinduksi D-galaktosa dengan mengurangi jumlah reseptor AGE, menekan stres oksidatif, mikrogliosis, astrositosis, mencegah terjadinya apoptosis neuron, mengurangi ekspresi berlebih NF- κ B, IL-1 β , dan TNF- α , serta menurunkan aktivasi JNK *pathway* dan kaspase-3, yang pada akhirnya meningkatkan fungsi memori [25]–[27].

Pemberian ekstrak air bunga telang dalam penelitian ini juga menyebabkan kadar BDNF lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang hanya mendapat *aquadest*. Hal ini menunjukkan bahwa kandungan antosianin yang terdapat pada ekstrak air bunga telang efektif dalam meningkatkan kadar BDNF. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Widyastuti *et al.* (2022) membuktikan bahwa kandungan antosianin yang terdapat pada ekstrak air ubi jalar ungu menyebabkan kadar BDNF lebih tinggi pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol pada tikus yang diinduksi D-galaktosa [28]. Rendeiro *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa pemberian antosianin menghasilkan peningkatan memori kerja spasial dan kadar BDNF pada tikus umur 18 bulan [29]. Peran antosianin dalam meningkatkan kadar BDNF berkaitan dengan reseptor TrkB pada permukaan sel neuron. Jalur pensinyalan BDNF melalui reseptor TrkB penting untuk perkembangan dan fungsi memori otak [30]. Studi lain juga menunjukkan bahwa pemberian antosianin dari kembang kol ungu secara signifikan meningkatkan neurotransmitter monoamine, menghambat *monoamine oxidase* (MAO) di otak, meningkatkan ekspresi reseptor TrkB, sehingga memediasi jalur pensinyalan BDNF, dan memicu neurogenesis serta perkembangan dendrit di hipokampus [31].

KESIMPULAN

Pada penelitian ini diperoleh hasil yang membuktikan bahwa pemberian ekstrak air bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) dengan dosis 100mg/kgBB pada tikus wistar yang diinduksi D-galaktosa memiliki efek neuroprotektif, dinilai dari kadar BDNF yang lebih tinggi, sehingga mengakibatkan fungsi memori lebih baik. Namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap peran antosianin dari ekstrak air bunga telang terkait efek dalam menekan apoptosis, menghambat respon inflamasi, menekan produksi amyloid β , serta penelitian dengan dosis lebih rendah dari 100mg/kgBB untuk mengetahui dosis efektif yang paling efisien dalam memberikan efek neuroproteksi.

Conflict of Interest

Seluruh peneliti menyatakan tidak ada konflik kepentingan terkait dengan penelitian ini.

Persetujuan etik

Penelitian ini telah disetujui oleh komisi etik penelitian Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana (no. B/193/UN14.2.9/PT.01.04/2022).

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini, perkenankan penulis untuk mengungkapkan rasa terima kasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya kepada Dr. dr. I Putu Eka Widyadharma, S.Ked, M.Sc, Sp.S(K), dan Dr. dr. I Gusti Ayu Artini, M.Sc yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, masukan, dan saran kepada penulis. Ucapan serupa juga penulis haturkan kepada Rektor Universitas Udayana, Prof. Dr. Ir. I Nyoman Gde Antara, M.Eng., IPU, Dr. dr. Komang Januartha Putra Pinatih, M.Kes selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Profesor Dr. dr. Wimpie I. Pangkahila, Sp.And-KSAAM, Dr. dr. I Made Muliarta, M.Kes selaku Koordinator Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, beserta seluruh jajaran tenaga kependidikan, atas fasilitas, sarana dan prasarana, izin, kesempatan dan bantuan yang diberikan. Ungkapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada Dr. dr. Ketut Widyastuti, Sp.N(K), Dr.dr. I Made Krisna Dinata, M.Erg, dan Dr. dr. Ida Ayu Ika Wahyuniari, S.Ked, M.Kes, yang telah memberikan masukan, saran, dan koreksi yang membangun, sehingga penelitian ini dapat berlangsung dan laporan hasil penelitian terwujud sedemikian rupa.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] W. Pangkahila, *Anti-Aging Medicine: Tetap Muda dan Sehat*. Jakarta: PT. Kompas Media Nusantara, 2019.
- [2] M. P. Mattson and T. V. Arumugam, "Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States," *Cell Metab.*, vol. 27, no. 6, pp. 1176–1199, 2018, doi: 10.1016/j.cmet.2018.05.011.
- [3] W. Wang, F. Zhao, X. Ma, G. Perry, and X. Zhu, "Mitochondria Dysfunction In The Pathogenesis Of Alzheimer's Disease: Recent Advances," *Mol. Neurodegener.*, vol. 15, no. 1, pp. 1–22, 2020, doi: 10.1186/s13024-020-00376-6.
- [4] S. Bathina and U. N. Das, "Brain-Derived Neurotrophic Factor And Its Clinical Implications," *Arch. Med. Sci.*, vol. 11, no. 6, pp. 1164–1178, 2015, doi: 10.5114/aoms.2015.56342.
- [5] N. Mudjihartini, "Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) dan Proses Penuaan: Sebuah Tinjauan," *J. Biomedika dan Kesehat.*, vol. 4, no. 3, pp. 120–129, 2021, doi: 10.18051/jbiomedkes.2021.v4.120-129.
- [6] L. Xu *et al.*, "Moderate Exercise Combined With Enriched Environment Enhances Learning And Memory Through BDNF/TrkB Signaling Pathway In Rats," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 18, no. 16, 2021, doi: 10.3390/ijerph18168283.
- [7] K. F. Azman and R. Zakaria, "Recent Advances on the Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Neurodegenerative Diseases," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, no. 12, 2022, doi: 10.3390/ijms23126827.
- [8] K. F. Azman and R. Zakaria, "D-Galactose-Induced Accelerated Aging Model: An Overview," *Biogerontology*, vol. 20, no. 6, pp. 763–782, 2019, doi: 10.1007/s10522-019-09837-y.
- [9] H. Li, L. Zheng, C. Chen, X. Liu, and W. Zhang, "Brain Senescence Caused by Elevated Levels of Reactive Metabolite Methylglyoxal on D-Galactose-Induced Aging Mice," *Front. Neurosci.*, vol. 13, pp. 1–11, 2019, doi: 10.3389/fnins.2019.01004.
- [10] K. Widyastuti, A. A. A. P. Laksmidewi, I. M. O. Adnyana, and D. P. G. P. Samatra, "Differences In Spatial Memory Impairment In Mice After Oral D-Galactose Administration And Intraperitoneal Injection," *Open Access Maced. J. Med. Sci.*, vol. 8, no. A, pp. 342–344, 2020, doi: 10.3889/oamjms.2020.4149.
- [11] Z. Liu *et al.*, "Role Of ROS And Nutritional Antioxidants In Human Diseases," *Front. Physiol.*, vol. 9, pp. 1–14, 2018, doi: 10.3389/fphys.2018.00477.
- [12] F. Limanaqi, F. Biagioni, F. Mastroiacovo, M. Polzella, G. Lazzeri, and F. Fornai, "Merging The Multi-Target Effects Of Phytochemicals In Neurodegeneration: From Oxidative Stress To Protein Aggregation And Inflammation," *Antioxidants*, vol. 9, no. 10, pp. 1–35, 2020, doi: 10.3390/antiox9101022.
- [13] D. Nuzzo *et al.*, "New Neuroprotective Effect Of Lemon Integroppectin On Neuronal Cellular Model," *Antioxidants*, vol. 10, no. 5, 2021, doi: 10.3390/antiox10050669.
- [14] K. B. Magalingam, A. K. Radhakrishnan, and N. Haleagrahara, "Protective Mechanisms of Flavonoids in Parkinson's Disease," *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2015, 2015, doi: 10.1155/2015/314560.
- [15] A. N. Winter and P. C. Bickford, "Anthocyanins And Their Metabolites As Therapeutic Agents For Neurodegenerative Disease," *Antioxidants*, vol. 8, no. 9, 2019, doi: 10.3390/antiox8090333.
- [16] A. Faria, N. Mateus, and C. Calhau, "Flavonoid Transport Across Blood-Brain Barrier: Implication For Their Direct Neuroprotective Actions," *Nutr. Aging*, vol. 1, no. 2, pp. 89–97, 2012, doi: 10.3233/NUA-2012-0005.
- [17] G. C. V. Gamage, Y. Y. Lim, and W. S. Choo, "Anthocyanins From Clitoria ternatea Flower: Biosynthesis, Extraction, Stability, Antioxidant Activity, and Applications," *Front. Plant Sci.*, vol. 12, pp. 1–17, 2021, doi: 10.3389/fpls.2021.792303.

- [18] S. A. Shah *et al.*, "Anthocyanins abrogate glutamate-induced AMPK activation, oxidative stress, neuroinflammation, and neurodegeneration in postnatal rat brain," *J. Neuroinflammation*, vol. 13, no. 1, pp. 1–16, 2016, doi: 10.1186/s12974-016-0752-y.
- [19] S. Subash, M. M. Essa, S. Al-Adawi, M. A. Memon, T. Manivasagam, and M. Akbar, "Neuroprotective Effects Of Berry Fruits On Neurodegenerative Diseases," *Neural Regen. Res.*, vol. 9, no. 16, pp. 1557–1566, 2014, doi: 10.4103/1673-5374.139483.
- [20] R. Ullah, M. Khan, S. A. Shah, K. Saeed, and M. O. Kim, "Natural Antioxidant Anthocyanins: A Hidden Therapeutic Candidate In Metabolic Disorders With Major Focus In Neurodegeneration," *Nutrients*, vol. 11, no. 6, pp. 1–32, 2019, doi: 10.3390/nu11061195.
- [21] K. S. Raghu *et al.*, "Age Dependent Neuroprotective Effects Of Medhya Rasayana Prepared From Clitoria ternatea Linn. In Stress Induced Rat Brain," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 197, pp. 173–183, 2017, doi: 10.1016/j.jep.2016.07.068.
- [22] T. Damodaran, B. W. L. Tan, P. Liao, S. Ramanathan, G. K. Lim, and Z. Hassan, "Clitoria ternatea L. Root Extract Ameliorated The Cognitive And Hippocampal Long-Term Potentiation Deficits Induced By Chronic Cerebral Hypoperfusion In The Rat," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 224, pp. 381–390, 2018, doi: 10.1016/j.jep.2018.06.020.
- [23] J. Mehla, M. Pahuja, P. Gupta, S. Dethe, A. Agarwal, and Y. K. Gupta, "Clitoria ternatea Ameliorated The Intracerebroventricularly Injected Streptozotocin Induced Cognitive Impairment In Rats: Behavioral And Biochemical Evidence," *Psychopharmacology (Berl)*, vol. 230, no. 4, pp. 589–605, 2013, doi: 10.1007/s00213-013-3185-7.
- [24] E. Prieur and N. Jadavji, "Assessing Spatial Working Memory Using the Spontaneous Alternation Y-maze Test in Aged Male Mice," *Bio-Protocol*, vol. 9, no. 3, pp. 1–10, 2019, doi: 10.21769/bioprotoc.3162.
- [25] S. Chen *et al.*, "Anthocyanins from Lycium ruthenicum Murr. Ameliorated d -Galactose-Induced Memory Impairment, Oxidative Stress, and Neuroinflammation in Adult Rats," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 67, no. 11, pp. 3140–3149, 2019, doi: 10.1021/acs.jafc.8b06402.
- [26] M. S. Khan, T. Ali, M. W. Kim, M. H. Jo, J. Il Chung, and M. O. Kim, "Anthocyanins Improve Hippocampus-Dependent Memory Function and Prevent Neurodegeneration via JNK/Akt/GSK3 β Signaling in LPS-Treated Adult Mice," *Mol. Neurobiol.*, vol. 56, no. 1, pp. 671–687, 2019, doi: 10.1007/s12035-018-1101-1.
- [27] S. U. Rehman, S. A. Shah, T. Ali, J. Il Chung, and M. O. Kim, "Anthocyanins Reversed D-Galactose-Induced Oxidative Stress and Neuroinflammation Mediated Cognitive Impairment in Adult Rats," *Mol. Neurobiol.*, vol. 54, no. 1, pp. 255–271, 2017, doi: 10.1007/s12035-015-9604-5.
- [28] K. Widyastuti, T. G. B. Mahadewa, D. N. Suprpta, and A. A. R. Sudewi, "Effect Of Providing Purple Sweet Potato Water Extract On Tumor Necrosis Factor-A Levels, Protein 53 Expression, Glial Fibrillary Acidic Protein Expression, Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels, And Spatial Working Memory In Rats With D-Galactose Induc," *Dement. Neuropsychol.*, vol. 16, no. 2, pp. 228–236, 2022, doi: 10.1590/1980-5764-dn-2021-0090.
- [29] C. Rendeiro *et al.*, "Dietary Levels of Pure Flavonoids Improve Spatial Memory Performance and Increase Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor," *PLoS One*, vol. 8, no. 5, pp. 1–9, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0063535.
- [30] J. Pradhan, P. G. Noakes, and M. C. Bellingham, "The Role of Altered BDNF/TrkB Signaling in Amyotrophic Lateral Sclerosis," *Front. Cell. Neurosci.*, vol. 13, no. August, pp. 1–16, 2019, doi: 10.3389/fncel.2019.00368.
- [31] J. L. Fang, Y. Luo, S. H. Jin, K. Yuan, and Y. Guo, "Ameliorative effect of anthocyanin on depression mice by increasing monoamine neurotransmitter and up-regulating BDNF expression," *J. Funct. Foods*, vol. 66, no. January, p. 103757, 2020, doi: 10.1016/j.jff.2019.103757.

BALINESE *TAPAI BREM* EXTRACT NANOEMULGELS INCREASED DERMAL COLLAGEN LEVELS OF UVB IRRADIATED FEMALE WISTAR RATS

¹Chrysanta Paramitha Karuniamaya
Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: chrysanta120102@gmail.com

²Wilson Halim, ³Octaviana Timorisa Aruan, ⁴Christopher William Leowinata, ⁵Sophie Acchariya Paramittha, ⁶Agung Wiwiek Indrayani, ⁷I Gusti Ayu Dewi Ratnayanti

²Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: wilsonhalim@student.unud.ac.id

³Program Studi Sarjana Keperawatan
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: octrsviarn@gmail.com

⁴Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: c.leowinata@gmail.com

⁵Program Studi Sarjana Kedokteran
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: sophieparamittha@gmail.com

⁶Departemen Farmakologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email: agungwiwiek@unud.ac.id

⁷Departemen Histologi
Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana
Denpasar, Indonesia
Email*: ratnayanti@unud.ac.id

Abstract

Indonesians have increased photoaging risks, yet anti-photoaging products are often inaccessible to lower-middle classes. Therefore, Balinese *brem* that contains anti-photoaging dermal collagen boosters, carried by nanoemulgel system to enhance its dermal absorption, is proposed as an alternative. Optimal *brem*'s type and concentration were explored to maximize *brem* nanoemulgel's anti-photoaging potency. NAD⁺ test showed that the optimal type was *tapai brem* extract as it had higher NAD⁺ level. Optimal concentration of *tapai brem* extract was determined through *in-vivo* collagen level test. Thirty-six Wistar rats were randomly allocated into nine groups: negative control (P0); 5% *brem* hydrogel (P1); 5% (P2), 10% (P3), 15% (P4), 20% (P5), 25% (P6), 30% (P7) *brem* nanoemulgels; positive control (P8). Topical preparations were applied twice daily for 28 days. UV was irradiated once in two days. Skin biopsies were stained with Picro Sirius Red for collagen level measurement. The normally distributed and homogenous data were analyzed using One-Way ANOVA and Post-Hoc LSD tests. *Brem* nanoemulgels were found to significantly increase rats' dermal collagen levels ($p < 0.05$). Nanoemulgel was more effective than hydrogel as P2 gained significantly higher collagen level compared to P0 ($p = 0.014$), contrary to P1 ($p = 0.271$). P6's collagen level was the highest (91.42%) and significantly higher than P0 ($p = 0.000$) and P8 ($p = 0.021$). However, the mean collagen differences between P6, P4, and P5 were insignificant ($p > 0.05$). Therefore, *brem* nanoemulgel has anti-photoaging

property by significantly enhancing collagen level, but further exploration of *brem*'s optimal concentration is necessary as three concentrations significantly increase collagen levels with insignificant difference amongst them.

Keywords: Anti-photoaging, Balinese *Brem*, Collagen Level, Fermentation, Nanoemulgel

1. INTRODUCTION

Individuals living in tropical countries, working outdoors, and smoking cigarettes have increased risks of photoaging. Indonesia is a tropical country with 81.3 million smokers. Indonesia is also an agrarian country with 37.1 million Indonesians working in agriculture sectors, for example as farmers who work outdoor.[1] Not only farmers, there are many other Indonesians who work outdoor. Therefore, a lot of Indonesians have increased risks of photoaging, which in turn increases the risk of various skin diseases and is associated with various psychological problems.[2] These problems emphasize the importance of using anti-photoaging skin care products.

Anti-photoaging products that are lately gaining popularity are fermented products because these products contain various antioxidants and anti-aging compounds with smaller molecular weights that are easier to be absorbed by the skin.[3] However, these products' costs are often inaccessible to the lower-middle classes, including many outdoor workers.[1] Thus, an affordable local fermented product, Balinese *brem*, is needed as an alternative.

Balinese *brem* is the result of glutinous rice fermentation that contains 91 mM of alpha hydroxy acids (AHA) and 2mM of succinic acid (SA), [4] which are known to increase dermal collagen levels.[5], [6] Glutinous rice as the raw material for *brem* also contains various phenolic compounds that can elevate dermal collagen levels.[7] A decrease in dermal collagen level causes skin aging in the form of wrinkles.[8] Therefore, Balinese *brem* is potential to exert anti-photoaging effect by boosting dermal collagen levels.

However, *brem*'s hydrophobic anti-photoaging compounds that are difficult to penetrate the skin, such as SA, require a delivery system that can enhance their absorption into the dermis. Nanoemulgel, a nanoemulsion and hydrogel combination, is able to maximize the penetration and absorption of hydrophobic compounds into the dermis. Nanoemulgels also enhance the solubility of *brem*'s hydrophilic compounds, such as AHA, hence elevating their levels that reach the dermis. Therefore, nanoemulgel is suitable to be used as *brem*'s preparation because it can carry both hydrophobic and hydrophilic substances in *brem*.[9]

To maximize the anti-photoaging properties of *brem* nanoemulgel, exploration of *brem*'s optimal type and concentration that provides the highest anti-photoaging capacity is needed. The optimal type will be determined through Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD⁺) test, while the optimal concentration will be determined through *in-vivo* collagen levels measurement. This research may serve as the beginning for developing a novel local anti-photoaging product that is affordable and supports Balinese's economics.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

The equipment and instrument used included blender, filter paper, rotary vacuum evaporator, milligram scale, micropipette, magnetic stirrer, UV/Visible spectrophotometer, pH strips, rats' cages and bottles, fixation cage, gilettes, UV meter, UVB lamp, 1 cc syringes, punch biopsy, object glass, Olympus CX41 microscope (Japan), Optilab Viewer 1.0 (Indonesia), Adobe Photoshop CS3, ImageJ, Microsoft Excel, and SPSS 25.0 for Windows. The materials used were *tapai brem* and young *brem* wine (Udiyana Firm), 96% ethanol, bentonite, isopropyl myristate (IPM), tween 80, propylene glycol (PG), carbopol, aquadest, triethanolamine (TEA), NAD⁺ assay kit (Abbexa), rats' food and drinks, AHA gel, mouse cocktail, phosphate buffered formalin (PBF) 10%, and Picro Sirius Red stain (Sigma Aldrich).

2.2. Methods

2.2.1. Preparation and NAD⁺ Tests of *Tapai Brem* Extract and *Brem* Filtrate

Tapai brem extract (TBE) is the extract of *tapai brem* (TB), which is *brem*'s glutinous rice that had been fermented with yeast for 4 days. TB was mixed with 96% ethanol, then

blended and macerated for 2 days. The macerated TB was filtered to produce a clear ethanolic extract solution, which was then evaporated to remove the alcohols. Meanwhile, *brem* filtrate (BF) is the purified young *brem* wine (YBW), which is wine produced from the pressing of TB. Bentonite was added to YBW and left to sit for 24 hours. After that, YBW was filtered to obtain a clear BF which was then sterilized. NAD⁺ tests were performed on TBE and BF using ELISA method to determine the optimal type of *brem* to be used in this research. As a result, NAD⁺ in TBE was found to be higher thus TBE was used in this study.

2.2.2. Preparation of Tapai Brem Extract Nanoemulgels

The preparation process of TBE nanoemulgels (NEG+TBE) was divided into the manufacture of TBE nanoemulsions (NE+TBE), manufacture of hydrogels (HDG), and incorporation of NE+TBE into HDG. NE+TBE were made using a formula presented by Karuniamaya et al. (2022) at The 2nd Asia Pacific Workshop and Conference on Molecular Medicine (APCMM) 2022. IPM, tween 80, and PG (1:9:1) were mixed and stirred for 1 hour at 500 rpm to form nanoemulsion (NE), then TBE was added in varying concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, and 30% (1% = 1 mg) and stirred for 30 minutes. HDG was prepared by mixing 1 gram of carbopol and 89 ml of aquadest for 30 minutes at 750 rpm. The NE+TBE that had been prepared was added to HDG and stirred for 30 minutes. Three drops of TEA were added and stirred to form NEG+TBE. Organoleptic and pH tests were performed to ensure the suitability of NEG+TBE for topical application. All NEG+TBEs were pale-yellow coloured, brem-like odoured, and thick textured with pH in the skin pH range, thus were in accordance with NEG's characteristics and applicable to the skin. Therefore, all NEG+TBEs were ready to be used in the *in-vivo* test.

2.2.3. Preparation of Animal Subjects

Female Wistar rats (*Rattus norvegicus*), aged 1-2 months with average body weights of 105 grams, were allocated randomly into 9 subject groups. In accordance with Federer's formula, the minimum sample for each group was 3. 10% or 1 sample per group was added to anticipate dropout, hence the total subjects were 36. The 9 subject groups included: a negative control group (P0), which was exposed to UVB without topical intervention; group 1 (P1), which was intervened with UVB exposure and hydrogel containing 5% TBE (HDG+TBE 5%) application; group 2, 3, 4, 5, 6, and 7 (P2, P3, P4, P5, P6, P7), which were exposed to UVB and given NEG+TBE 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, and 30% respectively; and a positive control group (P8), which was exposed to UVB and applied with AHA gel. The room used was adjusted to meet the requirements for rat's welfare. The rats went through acclimatization period of 7 days before intervention.

2.2.4. Intervention of Animal Subjects

The intervention lasted for 28 days. Before starting the intervention, a 2x2 cm square was plotted on each rat's back to mark the intervention area. The intervention areas were shaved regularly during the intervention period to retain optimal absorption rate. Aside from the negative control group (P0), every rat was given topical ointment twice daily with each dose of 0.2 ml. Then, all rats' intervention areas were exposed to UVB using TL lamp with a dose of 100 mJ/cm² and irradiation intensity of 100 mW/cm² for 100 seconds. UVB exposure was done every two days, namely on the 1st, 3rd, 5th, 7th, 9th, 11th, 13th, 15th, 17th, 19th, 21st, 23rd, 25th, and 27th day. On the 29th day, rats were euthanized using mouse cocktail and punch biopsy was done to take the rats' back skin samples. Biopsy samples were fixated with 10% PBF for a day. The euthanized rats were cremated.

2.2.5. Measurement of Rats' Dermal Collagen Levels

The samples were stained using Picro Sirius Red and viewed with 400x magnification using Olympus CX41 microscope (Japan) equipped with Optilab Viewer 1.0 (Indonesia). Three fields of view from each slide were photographed and processed with Adobe Photoshop CS3 to remove all components but bright red collagen pixels. ImageJ's "measure" function was used to calculate the collagen pixel area percentage.

2.2.6. Data Collection and Analysis

The collagen levels of each preparation were compiled as an excel table. Then, the average collagen levels of each preparation were analyzed descriptively and analytically using SPSS 25.0 for Windows. Shapiro-Wilk and Levene's Tests were conducted to

determine the data's distribution normality and homogeneity. The data was normally distributed and homogeneous ($p>0.05$). Therefore, One Way ANOVA Test was performed to assess the presence of groups with significantly different collagen levels ($p<0.05$), followed by Post Hoc LSD Test to identify those groups.

2.2.7. Conclusion Withdrawal

The conclusion was drawn based on the data analysis results. The first H0 of this research was that the application of Balinese *brem* nanoemulgel would not increase dermal collagen levels of Wistar rats significantly ($p>0.05$). The second H0 was that no Balinese *brem* concentration would be found as the most optimal in increasing dermal collagen levels of Wistar rats ($p>0.05$). Therefore, the first H1 of this research was that Balinese *brem* nanoemulgel would increase dermal collagen levels of Wistar rats significantly ($p<0.05$) and the second H1 was that one Balinese *brem* concentration would be found as the most optimal in increasing dermal collagen levels of Wistar rats ($p<0.05$).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Results of NAD⁺ Test on Tapai *Brem* Extract and *Brem* Filtrate

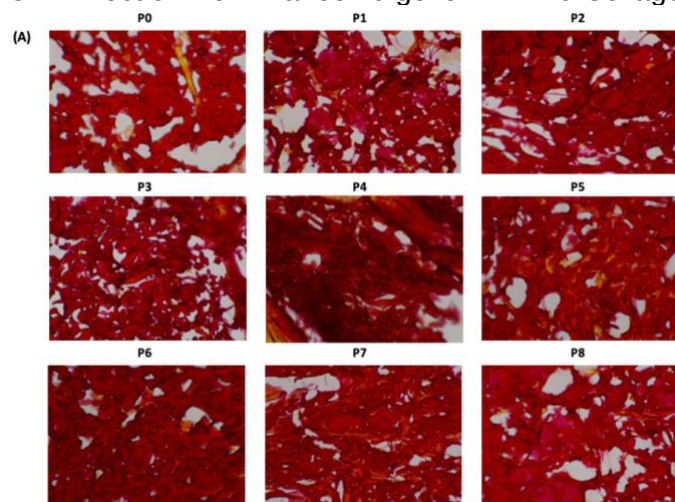
NAD⁺ test on TBE and BF was carried out to determine the type of *brem* with higher anti-photoaging potency that would result into a more effective *brem* NEG. Based on the NAD⁺ test, TBE was found to contain higher NAD⁺ level than BF (Table 1). The higher the NAD⁺ concentration in a sample, the higher the anti-aging capacity of the sample. NAD⁺ is a sirtuin cofactor that prevent aging through epigenetic DNA repair activity.[10] NAD⁺ also acts as poly-(ADP-ribose)-polymerase (PARPs) inhibitor. UV rays cause depletion of NAD⁺ which will reduce PARP-1 inhibition and DNA repair activity. This leads to the elevation of PARP-1 activity, which will further reduce NAD⁺ level, activate inflammatory responses, and suppress cellular immunity. All of these promote cell apoptosis, hence contributing to aging. Increase of the NAD⁺ pool will increase adenosine triphosphate (ATP) production, which enhances DNA repair mechanism. Contrary to it, the inflammatory response and suppression of immunity will decrease. These show that NAD⁺ will protect the skin from DNA damage and prevent skin aging.[11] Therefore, TBE was the type of *brem* with higher anti-photoaging potency hence was made into *brem* NEG that were applied in this study's *in-vivo* test.

Table 1. NAD⁺ test result on tapai brem extract and brem filtrate

No	Sample Code	NAD ⁺ (μmol/mL)
1	BF	0.042
2	TBE	4.972

Notes: BF = *Brem* Filtrate; TBE = *Tapai Brem* Extract

3.2. Effect of *Brem* Nanoemulgel on *In-Vivo* Collagen Levels



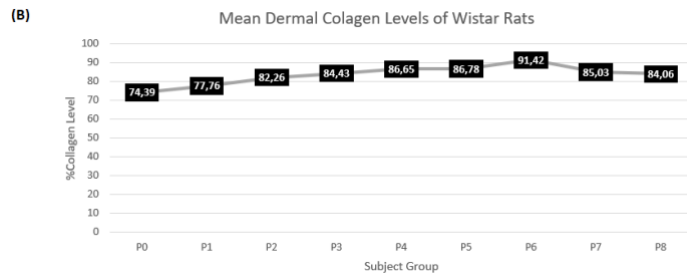


Figure 1. (A) Dermal histopathology of Wistar rats with Picro Sirius Red staining; (B) Percentage of dermal collagen levels in Wistar rats

Figure 1A shows rats' dermal histopathology images. Figure 1B shows the measured average collagen levels of each rat group. The negative control group (P0) was found to have the lowest percentage of collagen (74.39%). Meanwhile, the P6 group which received NEG+TBE 25% had the highest collagen level (91.42%). There was an increasing trend of dermal collagen level in accordance with the increase of TBE concentration from 5% to 25%, but then the level decreased in subjects applied with a TBE concentration of 30%, thus resulting in P6 having the highest level of collagen. Compared to the positive control group (P8) that had a collagen level of 84.06%, the P3, P4, P5, P6, and P7 groups were found to have higher percentages of collagen levels. The cause of the lower collagen levels in P7 group compared to P6 is unknown because there is no previous study that utilized brom as a dermal collagen booster. Theoretically, this might be caused by toxicity or negative feedback due to high dose. Further research is needed to determine the cause of the lower collagen levels in the NEG+TBE 30% group.

Table 2. Post-hoc LSD Test result on Wistar rats dermal collagen levels between control groups and P1-P7 groups

Subject Groups	Mean Difference	95% CI		Sig.
		Lower	Upper	
P0 vs P1	-3.373	-9.512	2.767	0.270
P0 vs P2	-7.873	-14.012	-1.733	0.014*
P0 vs P3	-10.043	-16.182	-3.903	0.002*
P0 vs P4	-12.260	-18.399	-6.120	0.000*
P0 vs P5	-12.393	-18.532	-6.253	0.000*
P0 vs P6	-17.040	-23.179	-10.901	0.000*
P0 vs P7	-10.643	-16.782	-4.503	0.001*
P0 vs P8	-9.675	-15.814	-3.536	0.003*
P8 vs P1	6.303	0.163	12.442	0.045*
P8 vs P2	1.803	-4.337	7.942	0.552
P8 vs P3	-0.368	-6.507	5.772	0.903
P8 vs P4	-2.585	-8.724	3.555	0.395
P8 vs P5	-2.718	-8.857	3.422	0.372
P8 vs P6	-7.365	-13.504	-1.226	0.021*
P8 vs P7	-0.968	-7.107	5.172	0.749

Note: *= significant mean difference ($p < 0.05$)

Table 3. Post-hoc LSD Test results on rats dermal collagen levels between P6 group and other groups

Subject Groups	Mean Difference	95% CI	Sig.
----------------	-----------------	--------	------

		Lower	Upper	
P6 vs P0	17.040	10.901	23.179	0.000*
P6 vs P1	13.668	7.528	19.807	0.000*
P6 vs P2	9.168	3.028	15.307	0.005*
P6 vs P3	6.998	0.858	13.137	0.027*
P6 vs P4	4.780	-1.359	10.920	0.122
P6 vs P5	4.648	-1.492	10.787	0.132
P6 vs P7	6.398	0.258	12.537	0.042*
P6 vs P8	7.365	1.226	13.504	0.021*

Note: *= significant mean difference ($p < 0.05$)

Based on the results of the Shapiro-Wilk and Levene's Tests, the collected collagen levels data were found to be normally distributed and homogeneous ($p > 0.05$). Therefore, data analysis was continued using One-Way ANOVA Test which showed that there was at least one group with a significant mean difference ($p = 0.000$). Based on the Post-Hoc LSD Test results (Table 2), it was found that NEG was more effective than HDG because P1 group that received HDG+TBE 5% did not have a significantly higher mean collagen level compared to P0 group ($p = 0.270$; 95% CI= -9.512 – 2.767), while P2 group that was applied with NEG+TBE 5% had a significantly higher mean collagen level compared to P0 group ($p = 0.014$; 95% CI= -14.012 – -1.733).

Furthermore, it was found that compared to P0 group, all P2, P3, P4, P5, P6, and P7 groups had significantly higher mean collagen levels ($p < 0.05$), indicating that the administration of NEG+TBE with all TBE concentration variants caused significant elevation of collagen levels (Table 2). Compared to P8 group, only P6 group had a significantly higher mean collagen level ($p = 0.021$; 95% CI= 1.226 – 13.504) (Table 3), hence only NEG+TBE 25% gave a significant increase in collagen levels compared to the positive control.

However, although the P6 group (NEG+TBE 25%) had the highest collagen level and was the only group that had a significant increase of collagen level compared to the P8 group ($p < 0.05$), a conclusion that 25% was the optimal concentration of TBE could not be made because the P6 group had no significant mean collagen level difference with P4 (NEG+TBE 15%) and P5 (NEG+TBE 20%) groups ($p > 0.05$) (Table 3). Therefore, further exploration of TBE's optimal concentration in NEG system should be carried out.

Nevertheless, despite the optimal concentration of TBE could not be determined, it can be confirmed from the results presented above that NEG+TBE are able to increase dermal collagen levels in rats. Furthermore, it can also be confirmed that increasing TBE's concentration up to 25% in NEG system will continue to elevate rats' dermal collagen levels. The effect of NEG+TBE on elevating dermal collagen levels may reduce clinical manifestations of skin aging that are caused by the degradation of collagen and inhibition of collagen synthesis due to UV radiation.[8] This collagen boosting effect is in accordance with the results of another *in-vitro* study which showed that the application of fermented rice could increase procollagen expression and decrease matrix metalloproteinase (MMP)-1 expression in fibroblasts, thereby elevating collagen levels.[12] This increase in collagen levels is influenced by the activity of TBE's anti-aging compounds, whose efficacy is maximized by the NEG drug delivery system.

NEG formula is suitable for Balinese *brem*, which contains a mixture of hydrophilic compounds, such as AHA, and hydrophobic compounds, such as SA, as the NE in NEG system is capable of carrying both hydrophilic and hydrophobic substances.[13] The NEG will prevent these compounds from enzymatic degradation and hydrolysis that can reduce drug efficacy. Nano-sized particles increase drug penetration by elevating the permeability and diffusibility of the preparation, hence enhancing the effectiveness of the formulation. A study found that the percentage of drug delivery to the skin in NEG preparations was higher than NE, namely $91.28 \pm 1.1\%$ and $78.91 \pm 1.1\%$ respectively.[14] Moreover, the results of a

research by Mao et al. (2019) showed that the morphology of NEG was more porous than HDG. This improves the adhesion space for extract and promotes a high drug motility, thus increasing the rate of drug release.[15] The results of this study are in accordance with our findings which showed that NEG preparation was more effective than HDG preparation because NEG containing 5% TBE was shown to significantly increase collagen levels ($p=0.014$), while HDG containing the exact same TBE concentration did not significantly increase collagen levels ($p=0.270$). The utilization of NEG that increase penetration, absorption, and efficacy of TBE's active substances will minimize the concentration of active substances needed to provide maximum efficacy, hence minimizing the possibility of side effects and toxicity due to excessive doses.

Two of the anti-aging compounds contained in *brem* are lactic acid (LA) and citric acid (CA) [4], which are classified as AHAs. AHA can reduce proinflammatory cytokines, induce the proliferation of collagen and procollagen and inhibit c-Fos expression and activator protein (AP)-1 induction.[5], [16] Therefore, AHAs can boost dermal collagen level, in line with the results of this study which proved that AHA-containing TBE can boost dermal collagen level. A study showed that the application of 25% AHA gel caused a 10.1% increase of collagen level compared to the negative control ($p<0.01$), while AHA at lower concentrations (8-15%) only increased collagen level by 5-6% ($p<0.05$), which indicates that an increase in AHA concentration leads to an increase in AHA efficacy.[17] This finding is consistent with the results of this study which showed that NEG containing 25% TBE gave the highest mean collagen level with a difference of 17.0% from the negative control group ($p=0.000$), and that the higher the concentration of TBE, the higher the elevation of dermal collagen levels in subjects.

However, another study showed that application of 25% LA or CA lotions twice daily for 6 months did not significantly increase dermal collagen levels.[18] This is in contrast to our results which showed that NEG containing 25% TBE provided a significant increase in collagen levels ($p=0.000$) after using NEG+TBE twice daily for 28 days. This shows that the application of 25% NEG+TBE is more effective than 25% AHA lotion, which may be influenced by the use of NEG system that has nano-sized particles, thus the active substances are able to reach dermis and elevate dermal collagen levels more effectively. Another possible factor is the wide variation of *brem*'s anti-aging compounds, which enables collagen increase through various mechanisms. This possibility can be seen by comparing the results of Narda et al. (2021) and this study. Both of the 25% AHA gel in Narda's study and 25% NEG+TBE in our study gave significantly higher mean collagen levels than the negative controls. However, the 25% AHA gel in Narda's study only increased the mean collagen level by 10.1%, [17] while the 25% NEG+TBE in this study increased the mean collagen level by 17.0%. Aside from the capability difference between gel and NEG, other *brem*'s anti photoaging compounds including SA and phenolic compounds are assumed to contribute in NEG+TBE's significant and higher increase of collagen levels results.

SA is *brem*'s other compound that can boost collagen levels. The administration of SA, hyaluronic acid (HA), and collagen combination for two weeks was shown to elevate collagen production.[19] Previous study demonstrated that the combination of sodium succinate and HA increased the formation of procollagen by activating SUCNR1 receptor, which promotes fibroblast proliferation, fibroblast growth factor (FGF)-2 expression, and transforming growth factor (TGF)- β 1 expression.[6] The study also showed that the application of either monosodium succinate or sodium succinate-HA combination preparation enhanced the expression of TGF- β 1 by 2-3 times and FGF2 by 200%, contrary to mono HA preparation.[6] Therefore, the study concluded that SA plays an important role in increasing procollagen and collagen. This is in accordance with the results of our study which showed that SA-containing NEG+TBE could increase collagen levels in rats' dermis.

Increased collagen levels in rats' dermis by Balinese NEG+TBE can also be driven by phenolic compounds contained in *brem*'s glutinous rice. Phenolic compounds that are potentially contained in *brem* include flavonoids and phenolic acids, which act as antioxidants to prevent collagen degradation.[7] A research showed that black glutinous rice had antioxidant activity of 92.10%.[20] One of the flavonoids that is potentially contained in

brem is anthocyanin because 1 gram of local black glutinous rice was found to contain 4.48 mg of anthocyanin.[21] Anthocyanins can reduce collagen degradation by decreasing ROS formation and lipid peroxidation, scavenging free radicals, and preventing MMPs overexpression. It can also inhibit collagen synthesis suppression, nuclear factor kappa-B (NF- κ B) and AP-1 translocations, and proinflammatory cytokines overexpression.[22] Thus, anthocyanins in *brem* can be one of the causes of increased rats' dermal collagen levels.

Meanwhile, phenolic acids that are most abundant in glutinous rice are protocatechuic (PCA), vanillic (VA), ellagic (EA), and ferulic (FA) acids with a total amount of about 159.59 ± 8.59 mg/kg.[7] VA was found to be capable of scavenging free radicals and inhibiting lipid peroxidation.[23] The administration of FA before UV radiation exposure was found to decrease ROS production and inhibit MMP gene expression.[24] Administration of 0.02% PCA succeeded to inhibit the secretion of MMP-1 and potentially increase collagen synthesis in fibroblasts.[25] EA was proven to reduce the elevation of ROS levels and suppress proMMP-2, with greater concentration causing greater effects.[26] This suggests that increased EA concentration enhances EA efficacy, which corresponds to the results of this study that the increase in TBE's concentration up to 25% is directly proportional to the increase in collagen level. These various studies which proved that phenolic acids are able to suppress collagen-degrading molecules indicate that phenolic acids present in *brem* can be one of the causes of increased rats' dermal collagen levels shown in this study.

4. CONCLUSION

Tapai brem extract was found to have a higher NAD⁺ level indicative of a higher anti-photoaging potency, thus was chosen as the type of *brem* used in *brem* nanoemulgel. The *in-vivo* dermal collagen level measurement results showed that *tapai brem* extract nanoemulgels successfully increased dermal collagen levels. Therefore, the first H0 of this study, which was *brem* nanoemulgels would not increase dermal collagen levels of Wistar rats significantly ($p > 0.05$), is rejected. However, the optimal concentration of *brem* is yet to be determined as although *brem*'s concentration of 25% was found to provide the highest increase in rats' dermal collagen levels ($p = 0.000$), *brem*'s concentrations of 15%, 20%, and 25% were found to have insignificant mean collagen level differences. Further research is needed to compare the effects of 15%, 20%, and 25% *brem* nanoemulgels on collagen levels so that the optimal concentration of *brem* can be known. If further research confirms that all three concentration variants do not give a significant difference in the collagen levels, the optimal concentration of Balinese *brem* in nanoemulgel topical preparation will be 15% because it is capable of exerting similar effect on collagen levels with lesser concentration. Further research regarding the toxicity of *brem* nanoemulgels can also be carried out.

ACKNOWLEDGMENTS

A word of gratitude is conveyed to Indonesian Ministry of Research, Technology, and Higher Education for the supporting grants according to the notice of decision numbered 2489/E2/KM.05.01/2022, Udayana University for the additional grants and support throughout the research process, and Udiyana Firm for providing *brem* that was used in *brem* nanoemulgels' manufacture.

REFERENCES

- [1] Direktorat Diseminasi Statistik, Ed., *Statistik Indonesia 2022*. Badan Pusat Statistik, 2022.
- [2] M. A. Gupta, "Aging Skin: Some Psychosomatic Aspects," *Textb. Aging Ski.*, pp. 1657–1674, 2017, doi: 10.1007/978-3-662-47398-6.
- [3] Mintel, "Mintel's Market Reports," 2021.
- [4] I. N. Sujaya, W. R. Aryanta, A. Yokota, K. Asano, and F. Tomita, "Biochemical and Sensorial Characteristics of Brem Bali," *Ann. Bogor.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–7, 2000.
- [5] S. C. Tang and J. H. Yang, "Dual effects of alpha-hydroxy acids on the skin," *Molecules*. 2018, doi: 10.3390/molecules23040863.
- [6] A. Turkevych, N. Derkach, A. Kupriyanova, L. Zubair, M. Turkevych, and D. Turkevych, "IMPROVING SKIN QUALITY WITH HYALURONIC AND SUCCINIC ACID," *Prime J.*,

- 2020.
- [7] W. Setyaningsih, N. Hidayah, I. E. Saputro, M. P. Lovillo, and C. G. Barroso, "Study of Glutinous and Non-Glutinous Rice (*Oryza Sativa*) Varieties on Their Antioxidant Compounds," 2015.
 - [8] M. Kim and H. J. Park, "Molecular Mechanisms of Skin Aging and Rejuvenation," *Intech*, vol. i, 2016, doi: <http://dx.doi.org/10.5772/57353>.
 - [9] P. Sengupta and B. Chatterjee, "Potential and future scope of nanoemulgel formulation for topical delivery of lipophilic drugs," *Int. J. Pharm.*, vol. 526, no. 1–2, pp. 353–365, 2017, doi: [10.1016/j.ijpharm.2017.04.068](https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.04.068).
 - [10] I. G. A. D. Ratnayanti and I. W. G. Sutadarma, "Nicotinamide Adenine Dinucleotide (NAD) Potential Target dalam Terapi Anti Penuaan," in *Seminar Nasional Sains dan Teknologi 2021*, 2021.
 - [11] L. Fania, C. Mazzanti, E. Campione, E. Candi, D. Abeni, and E. Dellambra, "Role of nicotinamide in genomic stability and skin cancer chemoprevention," *International Journal of Molecular Sciences*. 2019, doi: [10.3390/ijms20235946](https://doi.org/10.3390/ijms20235946).
 - [12] M. Y. Seo *et al.*, "Anti-aging effect of rice wine in cultured human fibroblasts and keratinocytes," *J. Biosci. Bioeng.*, vol. 107, no. 3, pp. 266–271, 2009, doi: [10.1016/j.jbiosc.2008.11.016](https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.11.016).
 - [13] I. A. Ahmed, M. A. Mikail, N. Zamakshshari, and A. S. H. Abdullah, "Natural anti-aging skincare: role and potential," *Biogerontology*, vol. 21, no. 3, pp. 293–310, 2020, doi: [10.1007/s10522-020-09865-z](https://doi.org/10.1007/s10522-020-09865-z).
 - [14] P. Sharma and M. Tailang, "Design, optimization, and evaluation of hydrogel of primaquine loaded nanoemulsion for malaria therapy," *Futur. J. Pharm. Sci.*, vol. 6, no. 1, 2020, doi: [10.1186/s43094-020-00035-z](https://doi.org/10.1186/s43094-020-00035-z).
 - [15] Y. Mao *et al.*, "Eprinomectin nanoemulgel for transdermal delivery against endoparasites and ectoparasites: preparation, in vitro and in vivo evaluation.," *Drug Deliv.*, vol. 26, no. 1, pp. 1104–1114, Dec. 2019, doi: [10.1080/10717544.2019.1682720](https://doi.org/10.1080/10717544.2019.1682720).
 - [16] B. Mbituyimana *et al.*, "Bacterial cellulose/glycolic acid/glycerol composite membrane as a system to deliver glycolic acid for anti-aging treatment," *J. Bioresour. Bioprod.*, vol. 6, no. 2, pp. 129–141, 2021, doi: [10.1016/j.jobab.2021.02.003](https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.02.003).
 - [17] M. Narda, C. Trullas, A. Brown, J. Piquero-Casals, C. Granger, and G. Fabbrocini, "Glycolic acid adjusted to pH 4 stimulates collagen production and epidermal renewal without affecting levels of proinflammatory TNF-alpha in human skin explants.," *J. Cosmet. Dermatol.*, vol. 20, no. 2, pp. 513–521, Feb. 2021, doi: [10.1111/jocd.13570](https://doi.org/10.1111/jocd.13570).
 - [18] C. M. Ditre *et al.*, "Effects of α -hydroxy acids on photoaged skin: A pilot clinical, histologic, and ultrastructural study," *J. Am. Acad. Dermatol.*, vol. 34, no. 2 I, pp. 187–195, 1996, doi: [10.1016/S0190-9622\(96\)80110-1](https://doi.org/10.1016/S0190-9622(96)80110-1).
 - [19] M. Borumand, "Combination treatment with hyaluronic acid, succinate, and collagen: A novel approach to skin rejuvenation," *J Clin Exp Dermatol Res*, vol. 6, no. 3, p. 75, 2015.
 - [20] A. Azis, M. Izzati, and S. Haryanti, "Aktivitas Antioksidan Dan Nilai Gizi Dari Beberapa Jenis Beras Dan Millet Sebagai Bahan Pangan Fungsional Indonesia," *J. Akad. Biol.*, vol. 4, no. 1, pp. 45–61, 2015.
 - [21] N. Suhartatik, M. Karyantina, and A. Mustofa, "Aktivitas Antioksidan dan Kadar Antosianin Beras Berwarna yang Beredar di DIY dan Sekitarnya," vol. 1, pp. 1–10, 2015.
 - [22] L. E. Rojo *et al.*, "Role of anthocyanins in skin aging and UV-induced skin damage," in *Anthocyanins in Health and Disease*, 2013.
 - [23] M. Contardi *et al.*, "Hydroxycinnamic acids and derivatives formulations for skin damages and disorders: A review," *Pharmaceutics*, vol. 13, no. 7, 2021, doi: [10.3390/pharmaceutics13070999](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070999).
 - [24] H. J. Hahn *et al.*, "Pretreatment of ferulic acid protects human dermal fibroblasts against ultraviolet a irradiation," *Ann. Dermatol.*, 2016, doi: [10.5021/ad.2016.28.6.740](https://doi.org/10.5021/ad.2016.28.6.740).
 - [25] S. Shin, S. H. Cho, D. Park, and E. Jung, "Anti-skin aging properties of protocatechuic acid in vitro and in vivo.," *J. Cosmet. Dermatol.*, vol. 19, no. 4, pp. 977–984, Apr. 2020, doi: [10.1111/jocd.13086](https://doi.org/10.1111/jocd.13086).

- [26] B. Baek, S. H. Lee, K. Kim, H.-W. Lim, and C.-J. Lim, "Ellagic acid plays a protective role against UV-B-induced oxidative stress by up-regulating antioxidant components in human dermal fibroblasts.," *Korean J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Korean Physiol. Soc. Korean Soc. Pharmacol.*, vol. 20, no. 3, pp. 269–277, May 2016, doi: 10.4196/kjpp.2016.20.3.269.



UNIVERSITAS UDAYANA
Medical Faculty
Udayana University

in collaboration with



National Symposium and Workshop
in Anti-Aging Medicine

(NASWAAM) 2023

The success of ANTI-AGING MEDICINE