

**Aktivitas Antipenuaan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Jumlah Fibroblas Kulit**

**Studi Eksperimental pada *Mus Musculus Balb/C* Terinduksi D-galaktosa**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat  
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

**Program Studi Pendidikan Dokter**



oleh :

**Muthmainnah K. Hamid**  
**13711154**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**  
**YOGYAKARTA**  
**2017**

**LEMBAR PENGESAHAN**

Naskah Publikasi

**AKTIVITAS ANTIPENUAAN EKSTRAK AIR DAUN KERSEN  
(*Muntingia calabura*) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS KULIT:**

**Studi Eksperimental pada**

***Mus musculus* Balb/c Terinduksi D-Galaktosa**

Disusun dan diajukan oleh:

Muthmainnah K. Hamid

13711154

Telah diseminarkan tanggal: 2 Maret 2017

Dan telah disetujui oleh:

Penguji

Pembimbing

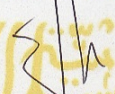
  
dr. Evy Sulistyoningrum, M.Sc

  
dr. Rosmelia, M.Kes, Sp. KK

Tanggal: Maret 2017

Tanggal: Maret 2017

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

  
dr. Erlina Marfianti, M.Sc., Sp.PD

Disahkan oleh:

Dekan Fakultas Kedokteran



  
dr. Linda Rosita, M.Kes, Sp.PK

## DAFTAR ISI

|                                                          |      |
|----------------------------------------------------------|------|
| HALAMAN JUDUL .....                                      | i    |
| LEMBAR PENGESAHAN.....                                   | ii   |
| DAFTAR ISI .....                                         | iii  |
| DAFTAR TABEL .....                                       | vi   |
| DAFTAR GAMBAR.....                                       | vii  |
| HALAMAN PERNYATAAN .....                                 | viii |
| KATA PENGANTAR .....                                     | ix   |
| INTISARI.....                                            | xi   |
| ABSTRACT .....                                           | xii  |
| BAB I:PENDAHULUAN                                        |      |
| 1.1. Latar Belakang .....                                | 1    |
| 1.2. Rumusan Masalah.....                                | 2    |
| 1.3. Tujuan Penelitian.....                              | 2    |
| 1.4. Manfaat Penelitian .....                            | 2    |
| 1.4.1. Teoritis .....                                    | 2    |
| 1.4.2. Praktis.....                                      | 3    |
| 1.5. Keaslian Penelitian .....                           | 4    |
| BAB 2:TINJAUAN PUSTAKA                                   |      |
| 2.1. Proses Penuaan .....                                | 6    |
| 2.2. Kulit.....                                          | 9    |
| 2.2.1. Fibroblas .....                                   | 11   |
| 2.2.2. Penuaan Fibroblas .....                           | 12   |
| 2.3. Hewan Model Penuaan dengan Induksi D-galaktosa..... | 13   |
| 2.4. Daun Kersen ( <i>Muntingia calabura</i> ) .....     | 14   |
| 2.4.1. Fitokimia.....                                    | 16   |
| 2.5. Vitamin C.....                                      | 17   |
| 2.6. Kerangka Teori.....                                 | 19   |
| 2.7. Kerangka Konsep Penelitian.....                     | 20   |
| 2.8. Hipotesis .....                                     | 20   |

### BAB 3:METODE PENELITIAN

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| 3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian .....                | 21 |
| 3.2. Waktu dan Tempat Penelitian .....                   | 21 |
| 3.3. Populasi dan Sampel Penelitian .....                | 21 |
| 3.3.1.Populasi Penelitian.....                           | 21 |
| 3.3.2.Sampel Penelitian .....                            | 21 |
| 3.4. Variabel Penelitian .....                           | 22 |
| 3.4.1.Variabel Terikat .....                             | 22 |
| 3.4.2.Variabel Bebas.....                                | 23 |
| 3.5. Definisi Operasional .....                          | 23 |
| 3.5.1.Ekstrak Air Daun Kersen .....                      | 23 |
| 3.5.2.Vitamin C .....                                    | 23 |
| 3.5.3.Gambaran Histologis Jumlah Fibroblas .....         | 24 |
| 3.6. Instrumen Penelitian .....                          | 24 |
| 3.6.1.Alat Penelitian .....                              | 24 |
| 3.6.2.Bahan Penelitian .....                             | 24 |
| 3.7. Alur Penelitian.....                                | 25 |
| 3.7.1.Persiapan Hewan Coba .....                         | 25 |
| 3.7.2.Pengelompokan Hewan Coba.....                      | 25 |
| 3.7.3.Induksi Penuaan.....                               | 26 |
| 3.7.1.Pemberian Zat <i>Antiaging</i> .....               | 26 |
| 3.7.2.Terminasi.....                                     | 27 |
| 3.7.3.Pembuatan dan Pengamatan Preparat Mikroskopis..... | 27 |
| 3.8. Analisis Data .....                                 | 27 |
| 3.9. Etika Penelitian .....                              | 28 |

### BAB 4:HASIL DAN PEMBAHASAN

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.1. Hasil Penelitian .....                                             | 29 |
| 4.1.1.Hasil Pengamatan Berat Badan dan Kadar MDA Plasma<br>Mencit ..... | 29 |
| 4.1.2. Hasil Pengamatan Jumlah Fibroblas Kulit Mencit .....             | 30 |
| 4.2. Pembahasan.....                                                    | 33 |

BAB 5: SIMPULAN DAN SARAN

|                      |    |
|----------------------|----|
| 4.1. Simpulan .....  | 36 |
| 4.2. Saran .....     | 36 |
| DAFTAR PUSTAKA ..... | 37 |
| LAMPIRAN .....       | 40 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 1. Keaslian Penelitian.....                                  | 4  |
| Tabel 2. Fitokimia Kersen.....                                     | 16 |
| Tabel 3. Rerata Berat Badan Mingguan Hewan Coba.....               | 29 |
| Tabel 4. Karakteristik hewan coba sebelum diberikan perlakuan..... | 30 |
| Tabel 5. Hasil Uji <i>One-way</i> ANOVA.....                       | 32 |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| Gambar 1. Mekanisme faktor penyebab penuaan .....       | 7  |
| Gambar 2. Patologi <i>Reactive Oxygen Species</i> ..... | 8  |
| Gambar 3. Struktur kulit .....                          | 11 |
| Gambar 4. Fibroblas .....                               | 12 |
| Gambar 5. <i>Muntingia calabura</i> .....               | 15 |
| Gambar 6. Kerangka Teori.....                           | 19 |
| Gambar 7. Kerangka Konsep .....                         | 20 |
| Gambar 8. Gambaran histologi fibroblas dermis .....     | 31 |
| Gambar 9. Rerata jumlah fibroblas antarkelompok.....    | 32 |

## HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah dengan judul Aktivitas Antipenuaan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Jumlah Fibroblas Kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa ini tidak terdapat Karya Tulis Ilmiah yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat Karya Tulis Ilmiah atau penelitian yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dijadikan referensi dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 15 Maret 2017



Muthmainnah K. Hamid

## KATA PENGANTAR

*Assalamualaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillah* rabbil'alam, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberi rahmat dan karunia-Nya sehingga karya tulis ilmiah (KTI) yang berjudul Aktivitas Antipenuaan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Jumlah Fibroblas Kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa dapat diselesaikan dengan lancar. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan kami Nabi Muhammad SAW yang telah membawa umatnya dari alam jahiliyah menuju alam islamiyah yang terang benderang penuh ilmu pengetahuan.

Karya Tulis Ilmiah ini dibuat untuk memenuhi salah satu syarat kelulusan dalam memperoleh gelar Sarjana Strata 1 (S1) pada Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Dalam penulisan karya tulis ilmiah ini tak terlepas dari kemudahan maupun kesulitan dan hambatan. Untuk itu penulis ingin memberikan ucapan terimakasih dan apresiasi yang sebesar-besarnya kepada:

1. dr. Linda Rosita, M. Kes, Sp.PK., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan dr. Erlina Marfianti, M.Sc., Sp.PD., selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
2. dr. Rosmelia, M. Kes, Sp. KK. dan dr. Evy Sulistyoningrum, M.Sc., selaku pembimbing dan penguji yang telah memberikan bimbingan, masukan, motivasi dan kesabarannya dalam penyusunan karya tulis ini. Terimakasih untuk segala ilmu yang telah diberikan.
3. dr. Titis Nurmasitah, M. Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik. Terimakasih atas segala masukan dan saran selama menjalani proses pendidikan.
4. Ayahanda dan Ibunda tercinta, Mas'ud K. Hamid, SE. dan Raina Kadullah, SE. yang telah memberikan pengorbanan dan dukungan demi tercapainya cita-cita ananda untuk menjadi seorang dokter. Terimakasih untuk seluruh kasih sayang, motivasi, nasihat, dan doa yang tak pernah

putus diberikan.

5. Kakak-kakakku tersayang Mafriyani K. Hamid, Akbar Setiawan, Laila Sabrina K. Hamid, dan Sri Anggun Mutya. Terimakasih untuk selalu ada memberikan semangat, doa dan motivasi dalam menyelesaikan segala urusan akademik.
6. Keluarga besar Hamid, Kadullah, Suroso dan Supardi untuk segala do'a dan dukungannya selama ini.
7. Saudara Gema Rezki Maulana yang selalu menemani dan memberikan dukungan dalam segala hal terutama dalam menjalani proses pendidikan.
8. Sahabat-sahabat terkasih, Wulan Sari Tias Nuraini, Cempaka Jaga Paramudita, Barbarani Satriyani Hayyu, Nabila Rachmi Nuzulia Badami, Athaya Hanin Nabilah Fahsa, Hajar Admira, Aqmarina Firda Izzaturahmi, Dellarious Benefit Yubaidi, M. Roydh Prenadenta P., Jamilah Aulia, Nur Fitriyani dan Atika Putri Paranadia, yang selalu memberi *support* serta bantuan dan saling *sharing* segala suka maupun kesulitan selama menjalani proses perkuliahan di UII. Sukses untuk kita semua dan semoga tetap saling silaturahmi sampai kapanpun.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyusun karya tulis ilmiah ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan serta kesalahan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, maka dari itu penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya dan sangat mengharapkan segala bentuk kritik dan masukan yang membangun demi perbaikan karya tulis ilmiah ini. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembacanya dan menjadi bahan wawasan untuk kita semua, *Allahuma amin*.

*Wassalamualaikum Wr. Wb.*

Yogyakarta, 15Maret 2017

Muthmainnah K. Hamid

**AKTIVITAS ANTIPENUAAN EKSTRAK AIR DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) TERHADAP JUMLAH FIBROBLAS KULIT :**  
**Studi Eksperimental pada *Mus Musculus Balb/C* Terinduksi D-galaktosa**

**INTISARI**

**Latar Belakang :** Penuaan merupakan proses alami yang terjadi secara akumulatif sejak awal kehidupan. Proses penuaan tampak pada lapisan terluar tubuh yaitu kulit. Salah satu teori dasar penuaan adalah melalui mekanisme stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan sel fibroblas kulit. Antioksidan eksternal dibutuhkan untuk membantu kerja antioksidan internal dalam mencegah proses penuaan. Daun kersen (*Muntingia calabura*) merupakan salah satu tanaman yang memiliki kandungan antioksidan dan dinilai mampu memberikan efek antipenuaan kulit.

**Tujuan Penelitian :** Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) terhadap jumlah sel fibroblas kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa.

**Metode Penelitian :** Jenis penelitian adalah eksperimental murni rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*) dengan subjek *Mus musculus Balb/c* yang dibagi kedalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol sehat (K1), kelompok model penuaan terinduksi D-galaktosa (K2) dan kelompok penuaan terinduksi D-galaktosa dengan perlakuan selama 4 minggu berupa sonde ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) dosis 35mg/kgBB (P1), ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) dosis 70mg/kgBB (P2) dan vitamin C dosis 28mg/kgBB(P3). Induksi penuaan dilakukan selama 6 minggu, kemudian dikonfirmasi dengan menghitung kadar MDA plasma.

**Hasil :** Jumlah fibroblas pada kelompok penuaan dengan perlakuan berupa sonde ekstrak air daun kersen dosis 70mg/kgBB(P2) dan vitamin C dosis 28mg/kgBB (P3) lebih tinggi dibandingkan kelompok penuaan (K2) yang tidak mendapatkan perlakuan (jumlah fibroblas P2=24.3500, P3=19.9500 dibanding K2=13.1500; p=0.000 dan p=0.015).

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura*) berpengaruh terhadap jumlah fibroblas kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa.

**Kata Kunci :** *Muntingia calabura*, D-galaktosa, Penuaan, Jumlah Fibroblas.

**ANTIAGING ACTIVITY OF JAMAICAN CHERRY (*Muntingia calabura*)  
LEAVES AQUEOUS EXTRACT ON SKIN FIBROBLAST NUMBER:  
An experimental study on *Mus Musculus Balb/C* induced by D-galactose**

**ABSTRACT**

**Background :** Aging is a natural process which occurred since the beginning of life. Aging is visible on the skin which was the outermost layer of the body. One of the aging theory is oxidative stress which cause the damage of cell such as fibroblast. The body needs external antioxidant to optimize the internal antioxidant in antiaging process. The Jamaican Cherry (*Muntingia calabura*) leaf has the antioxidants that capable of providing the anti-aging effects.

**Objective :** To know the effect of *Muntingia calabura* leaf aqueous extract to the number of skin fibroblasts induced by D-galactose.

**Methods :** This was an experimental research with completely randomized design. The subjects were *Mus musculus Balb/c* which divided into 5 groups, the control group K1, the aging group induced by D-galactose (K2), the treatment group which induced by D-galactose then given with antiaging such as *Muntingia calabura* leaf aqueous extract 35mg/kgBB(P1), *Muntingia calabura* leaf aqueous extract 70mg/kgBB(P2), and vitamin C 28mg/kgBB(P3).

**Result :** The fibroblast number on the treatment group given with *Muntingia calabura* leaf aqueous extract 70mg/kgBB (P2) and vitamin C 28mg/kgBB (P3) were higher than the aging group (K2) without any treatment (the fibroblast number P2=24.3500, P3=19.9500 than K2=13.1500 ; p=0.000 and p=0.015).

**Conclusion :** *Muntingia calabura* leaf aqueous extract influenced the number of skin fibroblast in the *Mus musculus Balb/c* induced by D-galactose.

**Keywords :** *Muntingia calabura*, D-galactose, Aging, Number of Fibroblasts.

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar Belakang**

Penuaan merupakan proses alami yang terjadi secara akumulatif sejak awal kehidupan (Datta,*et al.*, 2011). Ada berbagai teori yang mencoba menjelaskan mekanisme penuaan. Salah satu teori yang banyak dijadikan dasar penuaan adalah melalui mekanisme stress oksidatif (Mohammadirad, *et al.*, 2013). Stres oksidatif disebabkan oleh ketidakseimbangan antara pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan didalam tubuh. ROS mengandung radikal bebas dan hidrogen peroksida yang dapat menumpuk didalam sel dan menyebabkan kerusakan (Ye, *et al.*, 2014).

Kulit merupakan lapisan terluar tubuh yang paling tampak ketika terjadi penuaan. Penuaan kulit merupakan proses biologis yang dapat menyebabkan perubahan baik secara struktural maupun fungsional (Zhang, *et al.*, 2014). Proses penuaan kulit dapat dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik terdiri dari genetik, hormonal, dan proses metabolisme. Faktor ekstrinsik diantaranya paparan sinar, polusi, dan zat-zat kimia (Ganceviciene, *et al.*, 2012). Perubahan struktural pada kulit seperti atrofi dermis, peningkatan melanosit, penurunan jumlah kolagen, elastisitas, dan lapisan lemak subkutan memberikan efek yang dapat diamati yaitu perubahan warna kulit, kekasaran, dan timbulnya garis halus pada kulit (Zhang, *et al.*, 2014).

Kulit memiliki mekanisme perlindungan alami terhadap kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Mekanisme tersebut diperankan oleh antioksidan intrinsik yang terdapat dalam tubuh. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa antioksidan eksternal juga terbukti dapat membantu dalam proses antipenuaan (Ye, *et al.*, 2014). Berbagai penelitian telah membahas tentang aktivitas antioksidan, salah satunya adalah vitamin C atau asam askorbat. Asam askorbat sendiri merupakan antioksidan golongan nonenzimatik yang efektif menyingkirkan radikal bebas (Barros, *et al.*, 2011). Aktivitas antioksidan juga terdapat pada beberapa tanaman salah satunya adalah *Muntingia calabura*.

Tanaman ini dikenal dengan nama kersen atau talok di Indonesia. Tanaman kersen memiliki fungsi adaptasi yang baik sehingga dapat tumbuh dimana saja tanpa mengenal musim. Hal inilah yang menyebabkan tanaman ini mudah didapatkan bahkan ditempat yang tandus sekalipun (Pramono dan Santoso, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Ramadas, *et al.*, (2015) menunjukkan bahwa tanaman *Muntingia calabura* mengandung substansi diantaranya asam askorbat, flavonoid, dan alfa tokoferol yang memiliki aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan ekstrak daun *Muntingia calabura* secara in vitro dilaporkan oleh Kolar, *et al.*, (2011) dan Aruna, *et al.*, (2013). Aktivitas antioksidan yang dimiliki *M. calabura* ini diyakini mampu menangkal radikal bebas sehingga dapat mencegah penuaan pada kulit. Penelitian mengenai daun *M. calabura* secara in vivo di Indonesia masih sangat minim. Hal inilah yang mendorong peneliti untuk meneliti lebih jauh mengenai manfaat daun *M. calabura* secara in vivo khususnya pengaruh terhadap proses penuaan dengan mengamati jumlah sel fibroblas dermis kulit.

## **1.2.Rumusan Masalah**

Apakah pemberian ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) berpengaruh terhadap jumlah sel fibroblas kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa?

## **1.3.Tujuan Penelitian**

Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) terhadap jumlah sel fibroblas kulit *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa.

## **1.4.Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Teoritis**

Menambah khasanah ilmu pengetahuan mengenai khasiat daun kersen (*Muntingia calabura*) dalam pencegahan penuaan kulit.

#### 1.4.2. Praktis

a. Bagi masyarakat

Memberi informasi mengenai manfaat daun kersen (*Muntingia calabura*) sebagai obat antipenuaan.

b. Bagi Industri obat

Hasil penelitian dapat dijadikan masukan dalam pengembangan obat-obatan untuk mencegah penuaan kulit.

c. Bagi peneliti

Mengetahui efektivitas ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura*) sebagai obat antipenuaan. Selain itu diharapkan dapat meningkatkan pengalaman serta pengetahuan dalam melakukan penelitian ilmiah dari peneliti.

d. Bagi penelitian lanjutan

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai dasar informasi bagi pengembangan penelitian selanjutnya, terutama untuk uji klinis.

### 1.5.Keaslian Penelitian

**Tabel 1. Keaslian Penelitian**

| No. | Judul                                                                                                                                                                          | Penulis                   | Perbedaan                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                                                                                                                                                                                |                           | Penelitian sebelumnya                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Penelitian yang akan dilakukan                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 1.  | <i>In Vivo</i> Antioxidant and Anti-Skin-Aging Activities of Ethyl Acetate Extraction from <i>Idesia polycarpa</i> Defatted Fruit Residue in Aging Mice Induced by D-galactose | Ye, <i>et al.</i> , 2014  | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak <i>Idesia polycarpa</i></li> <li>-Induksi D-galaktosa dengan cara induksi subkutan selama 6 minggu</li> <li>-Mengamati kolagen, elastin, dan kandungan pelembab secara kuantitatif</li> </ul>                                                                                                                                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak air daun <i>Muntingia calabura</i></li> <li>-Induksi D-galaktosa dengan cara sonde oral selama 6 minggu</li> <li>-Mengamati morfologi sel fibroblas secara kuantitatif</li> </ul>                                                                                            |
| 2.  | Effects of Dimethylaminoethanol and Compound Amino Acid on D-galactose Induced Skin Aging Model of Rat                                                                         | Liu, <i>et al.</i> , 2014 | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan dimetilaminoetanol dan senyawa asam amino sebagai zat <i>antiaging</i></li> <li>-Induksi D-galaktosa dengan cara induksi subkutan selama 18 hari kemudian diberikan secara bersamaan dengan dimetilaminoetanol dan senyawa asam amino selama 24 hari</li> <li>-Mengamati ketebalan epidermis kulit</li> <li>-Menggunakan tikus wistar</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak air daun <i>Muntingia calabura</i></li> <li>-Induksi D-galaktosa dengan cara sonde oral selama 6 minggu kemudian diinduksi ekstrak <i>M calabura</i> selama 4 minggu</li> <li>-Mengamati morfologi sel fibroblas</li> <li>-Menggunakan <i>Mus Musculus Balb/C</i></li> </ul> |

| No. | Judul                                                                                                                       | Penulis                            | Perbedaan                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                      |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|     |                                                                                                                             |                                    | Penelitian sebelumnya                                                                                                                                                                                                  | Penelitian yang akan dilakukan                                                                                                                                                       |
| 3.  | Anti-Aging Effects of Some Selected Iranian Folk Medicinal Herbs-Biochemical Evidences                                      | Mohammadirad, <i>et al.</i> , 2013 | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan obat-obatan herbal di Iran sebagai zat <i>antiaging</i></li> <li>-Mengamati marker pro-inflamasi, radikal bebas, dan hormon androgen secara kuantitatif</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak air daun <i>Muntingia calabura</i></li> <li>-Mengamati morfologi sel fibroblas</li> </ul>                                |
| 4   | Leaves Extract of Muntingia calabura Protects Against Gastric Ulcer Induced by Ethanol in Sprague-Dawley Rats               | Ibrahim, <i>et al.</i> , 2012      | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Perlakuan dengan induksi ethanol</li> <li>-Menggunakan tikus Sprague-Dawley</li> <li>-Mengamati ulserasi gaster</li> </ul>                                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Perlakuan dengan induksi D-galaktosa</li> <li>-Menggunakan <i>Mus Musculus Balb/C</i></li> <li>-Mengamati morfologi sel fibroblas</li> </ul> |
| 5   | Antinociceptive Activity of Methanolic Extract of Muntingia Calabura Leaves: Further Elucidation of The Possible Mechanisms | Zakariza, <i>et al.</i> , 2014     | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak metanol <i>M calabura</i></li> <li>-Menggunakan tikus <i>Rattus novergicus</i></li> <li>-Uji Antinociceptive</li> </ul>                                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>-Menggunakan ekstrak air <i>M calabura</i></li> <li>-Menggunakan tikus galur Sprague Dawley</li> <li>-Uji Antipenuaan</li> </ul>              |

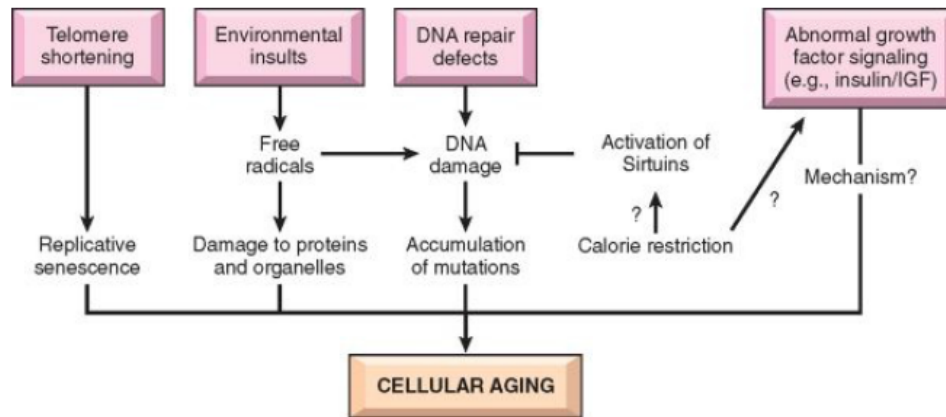
## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1. Proses Penuaan**

Proses penuaan atau *aging* adalah proses biologi yang dapat memicu perubahan pada organ tubuh baik secara struktural maupun secara fungsional (Zhang, *et al.*, 2014). Penurunan fungsi akibat proses penuaan dapat meningkatkan kerentanan terhadap berbagai kondisi patologis seperti kanker, penyakit kardiovaskular dan degeneratif hingga dapat merujuk kepada kematian (López-otín, *et al.*, 2013). Proses penuaan akan terjadi pada seluruh organ tubuh, termasuk hepar, jantung, kulit, paru-paru, ginjal, ovarium dan otak (Yaar & Gilchrest, 2007).

Salah satu teori yang mendukung proses penuaan adalah teori stress oksidatif sel (Mohammadirad, *et al.*, 2013). Penumpukan spesies oksigen reaktif (ROS) atau radikal bebas dapat mencederai sel, jaringan, hingga mengganggu fungsi dari berbagai sistem organ. Hal ini akan memberikan manifestasi terhadap penuaan bahkan kematian sel prematur (Mohammadirad, *et al.*, 2013).

Penuaan dapat dipengaruhi oleh faktor intrinsik berupa genetik, kapasitas somatis, dan komposisi serta faktor ekstrinsik berupa gaya hidup, nutrisi, dan lingkungan (Brink, *et al.*, 2009). Salah satu contoh faktor intrinsik yang dapat menginduksi penuaan adalah adanya penyakit genetik, seperti sindrom progeroid dengan tanda-tanda klinis penuaan. Faktor intrinsik lain dikaitkan dengan adanya alel polimorfisme tertentu yang berpengaruh terhadap umur manusia. Selain faktor internal, mekanisme penuaan juga dipengaruhi oleh faktor epigenetik seperti lingkungan sekitar termasuk asupan nutrisi (Fortunel dan Asselineau, 2008). Penuaan ekstrinsik (Gambar 1) sangat terkait dengan kualitas dan aktivitas hidup seseorang yang terpapar langsung dengan lingkungan luar. Hal ini tidak lepas dari mekanisme respon adaptasi terhadap stres. Kurangnya respon adaptasi terhadap paparan luar merupakan prinsip utama penuaan ekstrinsik (Tigges, *et al.*, 2014).

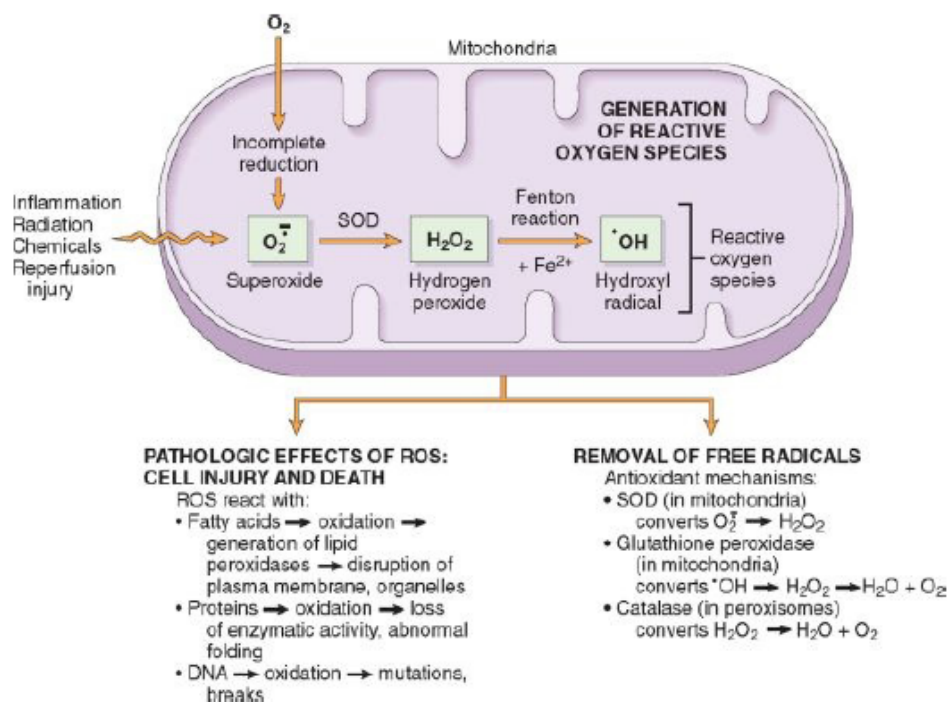


**Gambar 1. Mekanisme faktor penyebab penuaan.** Faktor ekstrinsik terutama radikal bebas menjadi salah satu penyebab rusaknya protein dan organel sel (Robbins dan Cotran, 2012).

Penuaan sel menyebabkan kerusakan sel yang akumulatif (Robin dan Kumar, 2012). Perubahan struktural dan biokimiawi pada penuaan sel terjadi akibat berkurangnya fosforilasi oksidatif oleh mitokondria, sintesis asam nukleat, protein struktural dan enzimatis, reseptor sel dan faktor transkripsi. Sel yang mengalami penuaan memperlihatkan penurunan kemampuan dalam menyerap nutrisi dan memperbaiki kerusakan kromosom. Proses penuaan juga mengakibatkan perubahan pada morfologi sel. Hal ini ditandai dengan perubahan nukleus menjadi ireguler dan berlobus, mitokondria menjadi pleomorfik dan bervakuol, berkurangnya retikulum endoplasma, serta distorsi aparatus golgi. Tanda lainnya adalah terjadi akumulasi pigmen lipofusin (produk peroksidasi lemak serta tanda kerusakan oksidatif) serta peningkatan produk-produk glikasi akhir (*advanced glycation end products*) yang terbentuk dari glikosilasi non enzimatis (Robin dan Kumar, 2012).

Rentang usia sel ditentukan oleh keseimbangan antara kerusakan sel akibat proses-proses metabolik yang terjadi dalam sel dan respon molekuler penyeimbang yang dapat memperbaiki kerusakan (Robin dan Kumar, 2012). Hewan bertubuh kecil umumnya memiliki rentang usia yang lebih singkat dan laju metabolisme yang lebih tinggi sehingga disimpulkan bahwa umur suatu spesies dibatasi oleh konsumsi metabolik total seumur hidup (Wang, *et al.*, 2012).

Salah satu produk metabolisme normal adalah ROS (Gambar 2). Produk sampingan dari fosforilasi oksidatif ini menyebabkan modifikasi kovalen protein, lemak dan asam nukelat. Jumlah kerusakan oksidatif yang meningkat seiring pertambahan usia organisme merupakan komponen penting pada hewan, dan akumulasi lipofusin di sel yang menua merupakan petunjuk adanya kerusakan tersebut (Robin dan Kumar, 2012).



**Gambar 2. Patologi Reactive Oxygen Species.** Akumulasi dari produk glikasi akhir dapat menyebabkan peroksidase lipid, degradasi protein dan kerusakan DNA (Robin dan Kumar, 2012).

López-Otín, *et al.*, (2013) membagi karakteristik penuaan berdasarkan penanda yang terjadi di dalam sel. Karakteristik tersebut dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu penanda kerusakan primer, sekunder (antagonistik) dan integratif. Ketiga penanda tersebut saling terkait dan mempengaruhi satu sama lain. Penanda kerusakan primer ditandai dengan terjadinya kerusakan yang terjadi pada DNA sel. Beberapa contoh diantaranya adalah terjadinya instabilitas genom, pemendekan telomer, perubahan epigenetik, hilangnya prosteostasis, aneuploidi

kromosom dan mutasi DNA mitokondria. Proses-proses tersebut dapat memicu kerusakan sel. Penanda kerusakan sekunder (antagonistik) terjadi oleh karena proses fisiologis yang dipacu oleh terdapatnya penanda kerusakan primer. Penanda ini dapat berupa *deregulated nutrien-sensing*, disfungsi mitokondria dan penuaan sel (*cellular senescence*). Penanda sekunder mempunyai efek berlawanan tergantung dari intensitasnya. Pada jumlah yang rendah, proses ini mempunyai efek menguntungkan, namun pada jumlah yang tinggi mereka menjadi destruktif. Salah satu contoh keadaan ini adalah terdapatnya ROS pada jumlah yang rendah berfungsi sebagai mediator *signaling* dan pertahanan sel, namun jika berlebihan akan menyebabkan kerusakan sel. Penanda integratif muncul ketika akumulasi kerusakan yang diakibatkan penanda primer maupun penanda antagonistik tidak dapat dikompensasi lagi oleh mekanisme homeostatik jaringan. Penanda integratif ini dapat berdampak pada kesalahan homeostasis dan gangguan fungsi jaringan (López-otín, *et al.*, 2013).

## 2.2. Kulit

Kulit atau dikenal sebagai membran kutaneus merupakan organ yang melapisi bagian terluar dari tubuh dan merupakan organ terbesar baik dari luas permukaan maupun beratnya. Struktur kulit pada umumnya dibagi menjadi 2 lapisan (Gambar 3). Lapisan terluar yang tipis disebut epidermis. Epidermis tersusun atas sel epitel skuamous berlapis terkeratinisasi. Lapisan yang lebih dalam disebut dermis. Lapisan ini lebih tebal dibandingkan epidermis dan tersusun oleh jaringan ikat kuat berupa kolagen dan serat-serat elastin. Lapisan dermis didominasi oleh sel fibroblas, adiposit dan makrofag. Komponen lain yang ada pada lapisan dermis diantaranya pembuluh darah, saraf, kelenjar, dan folikel rambut (Tortora dan Derrickson, 2009).

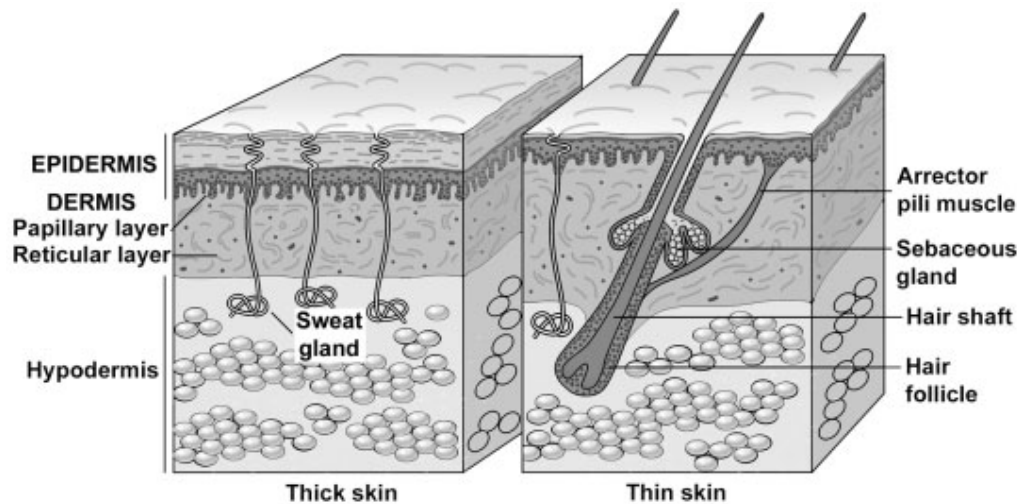
Kulit memiliki beberapa fungsi yaitu sebagai termoregulator, blood reservoir, fungsi proteksi, ekskresi, dan sebagai penghasil vitamin D (Tortora dan Derrickson, 2009). Kulit sebagai termoregulator dijalankan melalui 2 mekanisme yaitu dengan pelepasan panas melalui permukaannya dan pengaturan aliran darah dibagian dermis. Peningkatan suhu tubuh seperti saat berolahraga

akan meningkatkan produksi keringat oleh kelenjar ekrin di kulit. Pelepasan keringat ini akan membantu menurunkan suhu tubuh. Perubahan lainnya adalah pembuluh darah dibagian dermis akan mengalami dilatasi sehingga meningkatkan aliran darah. Hal ini juga membantu kerja kulit dalam menurunkan suhu tubuh. Sebaliknya, disaat suhu lingkungan turun, kulit akan memberikan respon berupa penurunan produksi keringat oleh kelenjar ekrin dan pembuluh darah didermis akan mengalami konstiksi. Hal ini akan membantu tubuh dalam penyimpanan panas (Tortora dan Derrickson, 2009).

Kulit sebagai *blood reservoir* adalah sebagai tempat bagi pembuluh darah yang membawa 8-10% dari total darah orang dewasa pada keadaan istirahat. Fungsi ketiga adalah proteksi. Kulit memberikan perlindungan terhadap tubuh melalui beberapa mekanisme. Keratin bekerja melindungi jaringan dibawahnya dari mikroba, abrasi, panas, dan bahan kimia. Granula lamellar juga melepas lemak yang menghambat evaporasi air dari permukaan kulit. Komponen penting lainnya adalah keringat yang berfungsi menjaga kulit dan rambut tetap lembab dan tidak kering, serta mengandung bahan bakterisidal yang dapat membunuh bakteri. Pigmen melanin juga ikut serta dalam menjalankan fungsi proteksi yaitu melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar UV. Sel-sel yang ada pada kulit menjalankan fungsinya dalam hal sistem imun. Fungsi lainnya adalah fungsi sensasi kutan (Tortora dan Derrickson, 2009).

Kulit merupakan salah satu organ yang representatif untuk mempelajari proses penuaan pada manusia. Hal ini karena banyak komponen kulit yang dipengaruhi oleh proses penuaan dan mudah untuk diakses. Perubahan yang terjadi akibat penuaan terlihat dari tanda-tanda klinis berupa kulit kering, keriput, dan perubahan warna atau pigmentasi. Gambaran histologis pada epidermis yang menua adalah berkurangnya ketebalan lapisan epidermis, sementara dermis mengalami penurunan sintesis matriks ekstraseluler beserta komponen utamanya berupa kolagen dan serat-serat elastis lainnya seperti proteoglikan dan glikosaminoglikan. Penelitian menunjukkan faktor-faktor eksternal yang bersifat destrukatif dapat mempengaruhi gambaran histologi baik epidermis yang terlihat

dari penurunan sintesis keratinosit maupun bagian dermis yang mengalami penurunan dalam sintesis fibroblastnya (Fortunel dan Asselineau, 2008).

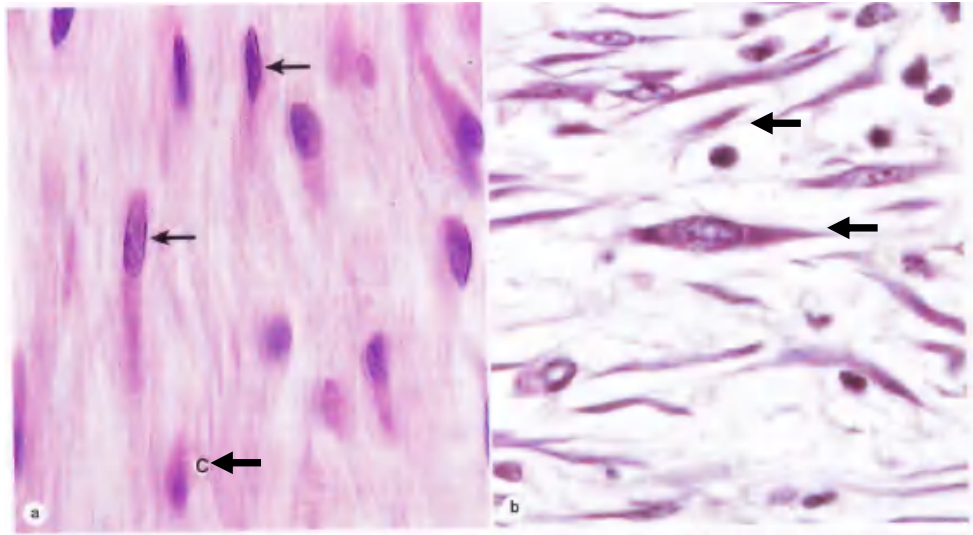


**Gambar 3. Struktur kulit.** Kulit terdiri dari lapisan epidermis, dermis dan hipodermis/subkutan (Digital Histology John Wile & Sons, Inc, 2004).

### 2.2.1. Fibroblas

Fibroblas merupakan salah satu sel yang menyusun jaringan ikat dilapisan dermis kulit (Eroschenko, 2010). Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang tidak berdiferensiasi. Sel ini mensintesis beberapa materi penyusun matrikekstraseluler berupa kolagen, serat elastin, glikosaminoglikan, proteoglikan dan glikoprotein multiadhesif (Junqueira, 2007).

Fibroblas dibagi kedalam dua bentuk berdasarkan tahapan aktivitas yang dialaminya. Istilah fibroblas sendiri merupakan fibroblas dengan aktivitas sintesis yang tinggi. Fibroblas yang inaktif biasa dikenal dengan istilah fibrosit. Kedua bentuk sel ini berbeda secara morfologinya (gambar 4). Fibroblas memiliki bentuk gelondong dengan inti aktif yang besar dan sitoplasma eosinofilik, sedangkan fibroblas inaktif atau fibrosit memiliki ukuran yang lebih kecil dibanding fibroblast, dengan inti yang kurang mencolok. (Junqueira, 2007).



**Gambar 4. Fibroblas.**Jaringan ikat dengan berkas kolagen paralel yang sedang dibentuk. a) Sel Fibroblas b) Fibroblas aktif dan inaktif (Junquiera, 2007).

### 2.2.2. Penuaan Fibroblas

Proses penuaan pada kulit ditandai dengan berbagai perubahan baik yang bersifat fungsional maupun struktural, salah satunya adalah penurunan kapasitas pertumbuhan fibroblas. Penurunan proliferasi fibroblas dapat mempengaruhi fungsinya dalam sintesis kolagen dan penurunan *matrix-degrading metalloproteinases* (MMPs). Hal ini dikarenakan fibroblas dermal mengalami kerusakan yang akumulatif sehingga mengarah kepada disfungsi sel. Disfungsi fibroblas beserta matriks ekstraseluler dermal akan memberikan tanda klinis penuaan seperti kerutan pada kulit. Tanda klinis tersebut membuat fibroblas dianggap sebagai obyek yang sesuai dalam mengamati proses penuaan pada tingkat seluler (Tigges, *et al.*, 2014).

Penuaan fibroblas sering dikaitkan dengan fenomena penurunan produksi faktor pertumbuhan. *Platelet derived growth factor* (PDGF) merupakan faktor pertumbuhan yang utama bagi fibroblas. PDGF akan berikatan dengan salah satu atau kedua reseptor PDGF-a dan PDGF-b. Ikatan antara ligan dan reseptor akan menginduksi berbagai jalur

pengiriman sinyal, diantaranya mitogen-activated protein (MAP), Phosphatidylinositol-3 (PI3) kinase/Akt, dan Janus kinase. Saat proses penuaan terjadi, aktivitas pengiriman sinyal melalui berbagai jalur diatas akan mengalami penurunan sehingga berdampak pada penurunan proliferasi fibroblas. Fibroblas kulit mengalami penuaan melalui berbagai mekanisme diantaranya kerusakan DNA, pemendekan telomer, gangguan pada pengolahan *post-transcriptional pra-mRNA*, alterasi epigenetik, hilangnya proteostasis, serta kerusakan dan disfungsi dari mitokondria (Tigges, *et al.*, 2014).

### **2.3. Hewan Model Penuaan dengan Induksi D-galaktosa**

Hewan model penuaan dapat diinduksi oleh berbagai perlakuan. Beberapa perlakuan tersebut antara lain induksi sinar UV, induksi berbagai zat kimia seperti D-galaktosa dan kombinasi diantaranya (Dianasari, 2014). Salah satu cara yang efektif dalam menginduksi penuaan dan mampu memberi gambaran patologi pada sel fibroblas adalah pemberian zat D-galaktosa (Ye, *et al.*, 2014). D-galaktosa telah digunakan dalam penelitian secara *in vivo* untuk menginduksi pembentukan stress oksidatif menyerupai proses penuaan alami yang terjadi pada mencit (Wang, *et al.*, 2012).

D-galaktosa merupakan nutrien fisiologis dan gula pereduksi yang bereaksi dengan gugus amin bebas pada asam amino atau protein untuk membentuk AGEs melalui reaksi glikasi. Kelebihan suplai D-galaktosa dapat menyebabkan pembentukan ROS melalui metabolisme oksidatif (Parameshwaran, *et al.*, 2010).

Pengaruh D-galaktosa terhadap proses penuaan bisa dilihat berdasarkan 2 aspek yaitu dosis dan lama pemberian. Pemberian D-galaktosa dosis rendah dapat dikompensasi tubuh dengan cara memetabolismenya. Hal ini tidak terjadi pada pemberian D-galaktosa dosis tinggi (Wang, *et al.* 2012), karena D-galaktosa dosis tinggi akan berubah menjadi aldosa dan hidroperoksida dengan bantuan enzim galaktosa oksidase. Proses ini dapat memicu produksi radikal bebas (Mohammadirad, *et al.* 2013). Sementara itu, pemberian D-galaktosa dalam jangka waktu tertentu akan meningkatkan kadar galaktosa dalam sel secara *in*

vivo. Galaktosa ini akan diubah menjadi galaktikol dengan bantuan enzim aldose reduktase. Galaktikol tidak dapat dimetabolisme oleh tubuh dan dapat menumpuk. Hal ini akan mengubah tekanan osmotik sel, mengakibatkan sel membengkak. Selanjutnya, sel dapat mengalami kerusakan dan akhirnya merujuk pada penuaan (Ye et al. 2014). Paparan D-galaktosa kronis juga dilaporkan dapat menurunkan fungsi kognitif dan kemampuan motorik yang serupa dengan gejala penuaan. Oleh karena itu, induksi D-galaktosa dianggap sesuai sebagai bahan yang mempercepat penuaan (Parameshwaran, *et al.* 2010).

Pemberian D-galaktosa dapat menginduksi penuaan tubuh secara menyeluruh dan mereduksi berbagai organ (Parameshwaran, *et al.*, 2010). Galaktosa lebih efektif berperan sebagai agen glikasi dibandingkan dengan glukosa. Hal ini dikarenakan penambahan galaktosa pada diet dapat menyebabkan penuaan dini yang khas yang melibatkan apoptosis melalui jaras mitokondria (Lu, *et al.*, 2010). Ye, *et al.*, (2014) melaporkan bahwa pemberian D-galaktosa selama 42 hari dapat menyebabkan perubahan gambaran morfologi sel fibroblast kulit. Kelompok perlakuan menunjukan perubahan pada dermis berupa penurunan pembentukan sel fibroblas. Hal ini membuktikan bahwa D-galaktosa mampu memberi gambaran patologis pada sel fibroblas.

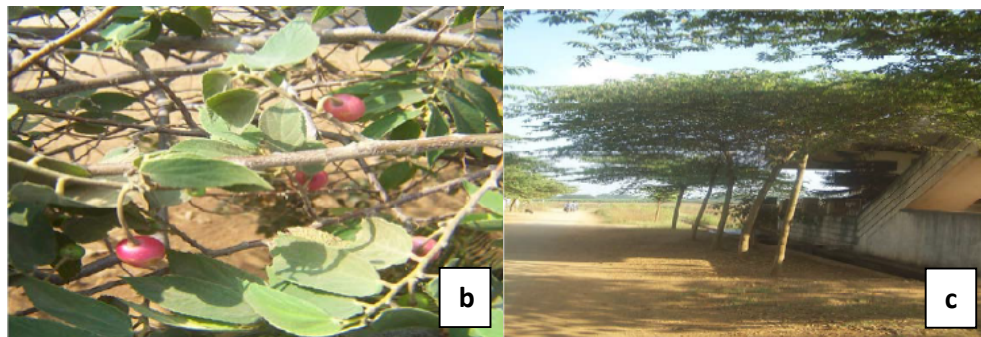
#### **2.4. Daun Kersen (*Muntingia calabura*)**

*Muntingia calabura* merupakan tanaman yang dikenal diseluruh dunia dengan nama *Jamaican Cherry*, di Malaysia dikenal dengan nama kerukup siam (Mahmood, *et al.*, 2014) dan di Indonesia dikenal dengan nama kersen atau talok. Tanaman ini berasal dari Mexico, Amerika Selatan, dan Amerika Tengah. Selain itu, tanaman ini juga tumbuh di daerah-daerah tropis seperti India, Malaysia, Indonesia, dan Filipina (Mahmood, *et al.*, 2014). Taksonomi atau klasifikasi tanaman kersen adalah sebagai berikut:

|            |                                         |
|------------|-----------------------------------------|
| Kingdom    | : Plantae (Tumbuhan)                    |
| Subkingdom | : Tracheobionta                         |
| Divisi     | : Spermatophyta (Tumbuhan biji)         |
| Subdivisi  | : Angiospermae (Tumbuhan biji tertutup) |

|          |                                                 |
|----------|-------------------------------------------------|
| Kelas    | : Dicotyledoneae (Tumbuhan biji belah/ dikotil) |
| Subkelas | : Dialypetalae                                  |
| Ordo     | : Malvales / Columniferae                       |
| Famili   | : Elaeocarpaceae                                |
| Genus    | : Muntingia                                     |
| Spesies  | : <i>Muntingia calabura</i> L.                  |

Kersen (*Muntingia calabura*) merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan cepat dan memiliki bentuk pohon yang ramping (Gambar 5). Ketinggian pohon dapat mencapai 7,5-12 m, disertai cabang yang tumbuh horizontal. Daun kersen berbentuk lonjong dengan bagian pangkal atas berwarna hijau gelap, sedangkan permukaan bawah daun berwarna coklat atau abu-abu dengan bulu-bulu halus (Mahmood, *et al.*, 2014). Buah kersen matang berwarna merah serta bunga kuntum berwarna putih (Kosasih, 2013).



**Gambar 5.** *Muntingia calabura*. Gambar (a) bunga, (b) buah dan daun, (c) pohon (R Birasal, 2014).

### 2.4.1. Fitokimia

Penelitian yang dilakukan Khan, *et al.*, (2015) menunjukkan ekstrak tanaman *Muntingia calabura* mengandung zat-zat bioaktif yang dapat meminimalisir efek dari kerusakan sel oleh radikal bebas (Tabel 2). Zat-zat berupa karbohidrat, protein, flavonoid, dan asam askorbat lebih dominan terkandung dalam ekstrak daun *Muntingia calabura* dibandingkan akar dan buah. Sementara itu, ekstrak buah *Muntingia calabura* dominan akan kandungan polifenol dibandingkan akar dan daun. Ekstrak akarnya sendiri kaya akan alfa tokoferol dibanding daun dan buahnya. Dengan mekanisme kerja yang saling berhubungan, seluruh senyawa ini akan dapat menghambat stress oksidatif dalam tubuh (Khan, *et al.*, 2015).

**Tabel 2. Fitokimia kersen.** Kandungan karbohidrat, protein, flavonoid dan klorofil paling tinggi terdapat pada daun (Khan, *et al.*, 2015).

|               | Akar<br>(mg/g) | Daun<br>(mg/g) | Buah<br>(mg/g) |
|---------------|----------------|----------------|----------------|
| Karbohidrat   | 138 ± 1.36     | 194.0 ± 1.44   | 65.33 ± 1.62   |
| Protein       | 2.63 ± 0.05    | 6.21 ± 0.11    | 2.11 ± 0.09    |
| Polifenol     | 14.06 ± 0.35   | 23.06 ± 1.55   | 29.03 ± 1.25   |
| Flavonoid     | 14.34 ± 0.01   | 42.61 ± 1.02   | 21.71 ± 0.31   |
| Asam Askorbat | 09.13 ± 0.04   | 11.21 ± 0.12   | 13.03 ± 0.03   |
| A-tokoferol   | 0.63 ± 0.02    | 0.41 ± 0.01    | 0.13 ± 0.01    |
| Klorofil      | 0.82 ± 0.01    | 79.12 ± 0.02   | 0.11 ± 0.01    |

Flavonoid adalah suatu antioksidan alam yang mempunyai aktivitas biologis yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil (Kuntorini, *et al.*, 2013). Senyawa fenol dan flavonoid berperan penting dalam pencegahan pembentukan radikal bebas. Senyawa fenol dalam daun *M. calabura* memiliki komponen anti radikal bebas. Reaksi peroksidasi lipid yang diinduksi oleh radikal bebas akan dihambat oleh

kemampuan donasi proton dari kelompok hidroksil yang terdapat di dalam komponen senyawa fenol (Narayanaswamy, 2011). Senyawa polifenol juga memiliki aktivitas antiglikasi melalui penghambatan *signaling* RAGEs, menghambat reaksi glikosidasi (Sadowska-Bartosz dan Bartosz, 2015). *M. calabura* juga mengandung saponin. Saponin dapat berperan dalam mencegah penuaan melalui aktivasi AKT/Forkhead box O3a dan jalur *Nuclear factor-erythroid 2-related factor-2*. Proses ini akan meningkatkan ekspresi dan fungsi enzim antioksidan seperti superoksida dismutase-2, katalase, glutathione reduktase, glutamat-sistein ligase, dan heme oksigenase-1 (Khan, *et al.*, 2015). *Muntingia calabura* juga mengandung asam askorbat. Asam askorbat atau vitamin C merupakan salah satu jenis antioksidan yang poten. Vitamin C terdiri dari 6 rantai karbon lakton yang disintesis dari glukosa di dalam hepar mamalia kecuali manusia, oleh karena manusia tidak mempunyai enzim glukonolakton oksidase yang dapat mensintesis asam askorbat dari glukosa (Dianasari, 2014).

## 2.5. Vitamin C

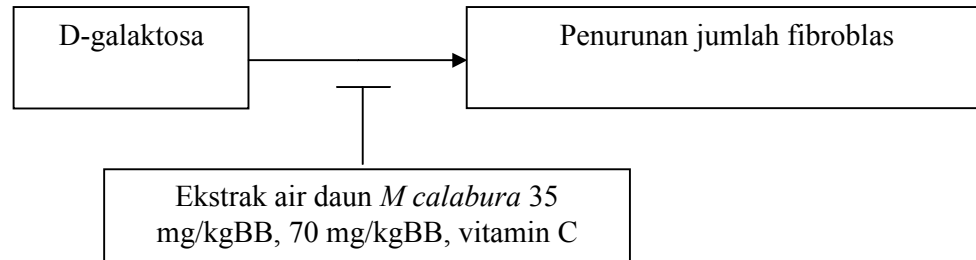
Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu antioksidan poten. Struktur Vitamin C tersusun atas 6 rantai karbon lakton yang disintesis dari glukosa di dalam hepar mamalia, kecuali manusia yang tidak mempunyai enzim glukonolakton oksidase untuk mensintesis asam askorbat dari glukosa (Dianasari, 2014). Vitamin C berfungsi sebagai reduktor kuat yang berpotensi merusak radikal bebas. Konsentrasi fisiologis vitamin C dapat menghilangkan radikal bebas dalam sel sehingga melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Fungsi antioksidan asam askorbat dikaitkan dengan kemampuannya untuk mengurangi potensi destruktif ROS dengan membentuk *Ascorbate Free Radical* (AFR) yang berfungsi sebagai donor satu-elektron. AFR kemudian direduksi kembali menjadi askorbat oleh NADH melalui NADPH reductase (Grosso *et al.*, 2013). Fungsi vitamin C terhadap kulit diantaranya merangsang morfogenesis barier epidermal dan proliferasi fibroblas, membantu sintesis DNA dan metabolisme mitokondria,

merangsang pembentukan membran plasma, mempercepat penutupan luka dan mengurangi kontraksi luka (Dianasari, 2014).

Vitamin C memiliki fungsi *cytoprotective* diantaranya mencegah terjadinya mutasi DNA yang disebabkan oleh oksidasi ROS, perlindungan terhadap kerusakan sel oleh mekanisme lipid peroksidase dan memperbaiki residu asam amino teroksidasi sehingga menjaga integritas protein (Grosso, *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan Ha, *at al.* (2015) menunjukkan vitamin C dapat meningkatkan fungsi fibroblas dermal dalam memproduksi kompoonen-komponen matriks ekstraseluler ( $P < 0.05$ ). Vitamin C merupakan kofaktor hidroksilase prolil dan lisil yang akan mengkatalisasi pembentukan hidroksiprolin dan hidroksisilin. Hidroksilasi prolil dan lisil akan mengatur apoptosis dan migrasi sel, metabolisme energi serta membantu proses angiogenesis (Dianasari, 2014).



## 2.7. Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

—→ : meningkatkan/memicu

—| : menghambat

**Gambar 7. Kerangka Konsep**

## 2.8. Hipotesis

Pemberian ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura*) berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada proses penuaan *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa.

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni rancangan acak lengkap (*Completely Randomized Design*).

#### **3.2. Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2015-Juni 2016. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi dan Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

#### **3.3. Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **3.3.1. Populasi Penelitian**

Populasi penelitian yaitu mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c jantan umur 12 minggu yang dikembangkan di Laboratorium Fisiologi Universitas Islam Indonesia.

##### **3.3.2. Sampel Penelitian**

Sampel penelitian yang akan digunakan berjumlah 25 ekor mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah jenis kelamin jantan, umur 12 minggu, berat badan  $20 \pm 5$  gram, dan sehat. Kriteria mencit sehat terlihat dari struktur anatomi normal, gerakan lincah, tidak agresif, kulit dan bulu halus tanpa luka, mata terang dan tidak terdapat discharge abnormal dan menunjukkan peningkatan berat badan selama aklimatisasi. Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah mencit yang sakit atau mati selama penelitian dilakukan dan bukan karena proses perlakuan.

Hewan coba kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol sehat (K1), kelompok mencit model penuaan (K2), kelompok perlakuan 1(P1), kelompok perlakuan 2 (P2) dan kelompok perlakuan 3 (P3). Kelompok K1 hanya diberikan akuades 1 ml. Kelompok K2 diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu dan hanya diberikan akuades 1 ml. Kelompok

P1 diinduksi D-galaktosa selama 6 minggudan mendapatkan ekstrak air daun kersen dengan dosis 35 mg/kgBB perhari. Kelompok P2 diinduksi D-galaktosa selama 6 minggudan mendapatkan ekstrak air daun kersen dengan dosis 70 mg/kgBB perhari. Kelompok P3 diinduksi D-galaktosa selama 6 minggudan mendapatkan vitamin C dengan dosis 28 mg/kgBB perhari.

Besar sampel dihitung menggunakan rumus Festing, dengan nilai E (Jumlah hewan coba (*Degree of Freedom*) yang optimal yaitu 10-20 hewan coba (Charan, 2013), rumus yang digunakan adalah sebagai berikut :

$$E = 4n - 5$$

Berikut ini ialah perhitungan sampel penelitian berdasarkan rumus Festing (2002) :

i. Jika  $E=10 \rightarrow E=4n-5$

$$10=4n-5$$

$$15=4n$$

$$3.75=n, \text{ dibulatkan menjadi } 4 \text{ ekor tiap kelompok}$$

ii. Jika  $E=20 \rightarrow E=4n-5$

$$20=4n-5$$

$$25=4n$$

$$6.25=n, \text{ dibulatkan menjadi } 6 \text{ ekor tiap kelompok}$$

Penghitungan menggunakan rumus Festing tersebut menunjukkan bahwa penelitian ini memerlukan jumlah minimal 20 ekor tikus dengan jumlah tiap kelompok berjumlah 4 ekor.

### 3.4. Variabel Penelitian

#### 3.4.1. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah fibroblas kulit mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c.

#### 3.4.2. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian perlakuan, yang dibagi atas ekstrak air daun kersen dosis 35 mg/kgBB dan 70 mg/kgBB serta vitamin C 28 mg/kgBB.

### 3.5. Definisi Operasional

#### 3.5.1. Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*)

Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB yang digunakan pada uji *invivo* Mahmood, *et al.*, (2011), Zakaria, *et al.*, (2012) dan Ibrahim, *et al.*, (2012) pada *Rattus norvegicus*. Karena subyek penelitian ini adalah mencit maka dilakukan konversi penghitungan dosis dengan pengalihan dengan faktor konversi dosis tikus ke mencit 0,14 (Paget dan Barnes, 1964) sehingga dosis yang digunakan adalah  $250 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 35 \text{ mg/kgBB}$  dan  $500 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 70 \text{ mg/kgBB}$ .

Ekstrak air daun kersen 35 mg/kgBB adalah hasil ekstraksi daun kersen dengan air, diberikan pada kelompok perlakuan dengan dosis 35 mg/kgBB, satu kali sehari per sonde selama 4 minggu. Ekstrak air daun kersen 70 mg/kgBB adalah hasil ekstraksi daun kersen dengan air, diberikan pada kelompok perlakuan dengan dosis 70 mg/kgBB satu kali sehari per sonde selama 4 minggu. Daun kersen yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari pohon yang tumbuh di sekitar Universitas Islam Indonesia Yogyakarta dan sudah dideterminasi di Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia Yogyakarta(lampiran 5). Daun kersen yang diambil ialah daun ke 4 sampai dengan 10 dari ujung batang kemudian diolah di Laboratorium Riset Universitas Islam Indonesia (lampiran 2).

#### 3.5.2. Vitamin C

Vitamin C (asam askorbat) adalah serbuk farmagrid vitamin C yang didapatkan dari perusahaan farmasi Deka Medica, diberikan pada kelompok perlakuan dengan dosis 28 mg/kgBB, satu kali sehari per sonde selama 4 minggu (Dianasari, 2014). Dosis yang digunakan 200 mg/kgBB (Djeffal, *et al.*, 2015) adalah dosis vitamin C untuk antioksidan pada *Rattus*

*norvegicus* strain Wistar. Dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis tersebut dikalikan faktor konversi =  $200 \text{ mg/kgBB} \times 0,14 = 28 \text{ mg/kgBB}$

### 3.5.3. Gambaran histologi jumlah fibroblas

Fibroblas adalah sel yang berbentuk gelendong, memiliki inti satu atau lebih, bersifat basofilik, dan berwarna ungu pada pewarnaan hematoxylin eosin (Kusumawardhani, 2015). Pengamatan preparat histologi jaringan kulit menggunakan mikroskop cahaya yang dilengkapi *software Image Raster* dan *Optilab Viewer* dengan perbesaran 400x tiap lapang pandang. Satu preparat diamati dalam lima lapang pandang secara acak. Perhitungan fibroblas dilakukan dengan menghitung jumlah fibroblas bebas yang terletak dilapisan dermis kulit pada setiap lapang pandang.

## 3.6. Instrumen Penelitian (Alat dan Bahan)

### 3.6.1. Alat Penelitian

- Kandang hewan coba dengan tempat pakan dan minum
- Timbangan dengan skala gram
- Sonde lambung
- Alat-alat gelas
- Set alat bedah
- Tempat penampung hewan coba dan organ yang diawetkan
- Seperangkat alat untuk preparasi dan pewarnaan HE
- Mikroskop cahaya

### 3.6.2. Bahan Penelitian

- Mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c jantan, umur 12 minggu, berat badan  $20 \pm 5$  gram, dan sehat
- Ekstrak air daun kersen (*M. calabura*) dosis 35 mg/kgBB dan 70 mg/kgBB.
- Vitamin C dosis 28 mg/kgBB
- D-galaktosa untuk induksi penuaan
- Aquadestilata

- f. Bahan pakan pellet ADII dan air *Reverse Osmosis*<sup>®</sup> untuk minum hewan coba
- g. Bahan-bahan untuk prosesi jaringan dengan metode parafin
- h. Bahan-bahan untuk pewarnaan Hematoksilin Eosin.

### 3.7. Alur Penelitian

#### 3.7.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dipilih yang memenuhi kriteria inklusi kemudian dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok. Untuk menjamin homogenisasi sampel, dilakukan perbandingan rerata berat badan hewan coba. Tiap hewan coba pada kelompok diberi nomor urut 1, 2, 3, 4 dan 5. Hewan coba diaklimatisasi selama 7 hari sebelum penelitian dalam lingkungan dengan suhu  $22 \pm 3$  °C dan kelembaban 30% dan siklus gelap-terang selama 12 jam. Selama aklimatisasi, mencit ditempatkan dalam kandang dengan bahan, bentuk dan ukuran yang sama dan mendapat makanan dan minuman dengan jenis, jumlah dan komposisi yang sama secara *ad libitum*. Mencit yang sakit, mati atau berat badan tidak naik selama aklimatisasi dieksklusi.

#### 3.7.2. Pengelompokan Hewan Coba

Terdapat 5 macam perlakuan terhadap hewan coba, yaitu:

- a) Kelompok kontrol I (K1), kontrol negatif yaitu kelompok mencit model sehat (diberikan aquades selama 6 minggu).
- b) Kelompok kontrol II (K2), kontrol positif yaitu kelompok mencit model penuaan (diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu).
- c) Kelompok perlakuan I (P1), yaitu kelompok yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu kemudian mendapatkan ekstrak air daun kersen dengan dosis 35 mg/kgBB perhari melalui sonde lambung selama 4 minggu.
- d) Kelompok perlakuan II (P2), yaitu kelompok yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu kemudian mendapatkan ekstrak air daun

kersen dengan dosis 70 mg/kgBB perhari melalui sonde lambung selama 4 minggu.

- e) Kelompok perlakuan III (P3), yaitu kelompok kelompok yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu kemudian mendapatkan vitamin C dengan dosis 28 mg/kgBB perhari melalui sonde lambung selama 4 minggu. Dosis vitamin C ini digunakan sebagai pembanding terapi antioksidan untuk menghambat penuaan (Mohammadirad et al. 2013).

### 3.7.3. Induksi Penuaan

Induksi penuaan dan pemberian zat *antiaging* dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Mohammadirad *et al.*, (2013). Sejumlah 16 ekor hewan coba diberi D-galaktosa dengan dosis 500 mg/kgBB secara oral melalui sonde mulut selama 6 minggu. Untuk menjamin homogenisasi sampel, dilakukan perbandingan rerata berat badan hewan coba. Sampel tiap kelompok disebut homogen jika tidak terdapat rerata yang berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ). Tiap hewan coba pada kelompok diberi nomor urut a, b, c, d, e dan f. Jumlah cairan yang disondekan pada hewan coba maksimal 1 ml/ekor. Selama pemberian perlakuan dilakukan pengamatan terhadap kondisi kesehatan mencit meliputi berat badan, jumlah sisa pakan dan perilaku mencit secara deskriptif. Tahap akhir dari induksi penuaan adalah perhitungan MDA plasma hewan coba. Hal ini bertujuan untuk membuktikan hewan coba mengalami proses penuaan oksidatif ditandai dengan peningkatan MDA plasma yang signifikan antara kelompok hewan coba yang diinduksi D-galaktosa dan kelompok yang tidak diinduksi D-galaktosa.

### 3.7.4. Pemberian Zat *Antiaging*

Kelompok K2, P1, P2, dan P3 telah mengalami penuaan ditandai dengan peningkatan yang signifikan terhadap kadar MDA plasma dibanding kelompok K1. Selanjutnya semua kelompok hewan coba diberikan perlakuan berupa kelompok K1 dan K2 mendapatkan sonde akuades selama 4 minggu. Kelompok P1 mendapatkan sonde ekstrak daun kersen dosis 35

mg/kgBB selama 4 minggu, kelompok P2mendapatkan sonde ekstrak daun kersen dosis 70 mg/kgBB selama 4 minggu, dan kelompok P3 mendapatkan sonde vitamin C dosis 28 mg/kgBB selama 4 minggu. Jumlah cairan yang disondekan pada hewan coba maksimal 1 ml/ekor. Selama pemberian perlakuan dilakukan pengamatan terhadap kondisi kesehatan mencit meliputi berat badan, jumlah sisa pakan dan perilaku mencit secara deskriptif.

#### **3.7.5. Terminasi**

Tahap akhir dari perlakuan adalah seluruh hewan coba dikorbankan dengan cara memasukkannya kedalam toples berisi larutan eterkemudian dilakukan dekapitasi. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel organ kulit dibagian punggung mencit ukuran. Organ kulit dimasukkan dalam tabung berisi larutan PBS formalin 10 % untuk persiapan pembuatan preparat histologis.

#### **3.7.6. Pembuatan Dan Pengamatan Preparat Mikroskopis**

Organ kulit yang telah difiksasi kemudian diambil untuk dibuat preparat mikroskopismetode parafin dan pewarnaan HE. Sediaan yang diperiksa diamati perubahan-perubahan yang ditemui dengan menggunakan mikroskop cahaya dan dilakukan dokumentasi data penelitian. Perhitungan sel fibroblas dilakukan oleh peneliti dan pengamat kedua (interobserver) yang kemudian diuji menggunakan uji *paired t test* untuk validasi pengamatan.

### **3.8. Analisis Data**

Analisis dilakukan dengan bantuan piranti lunak IBM SPSS<sup>®</sup> STATISTICS 21 untuk Windows. Karakteristik hewan coba ditampilkan dalam tabel yang mencantumkan rerata  $\pm$  Standar Deviasi. Hasil Uji normalitas dengan uji Saphiro Wilk menunjukkan data terdistribusi normal ( $P>0.05$ ). Langkah berikutnya, data diuji dengan uji *One-way* ANOVA dengan hasil  $P<0.05$  yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, dilanjutkan uji *Post Hoc* *LSD* untuk mengetahui perbedaan antarkelompok perlakuan.

### 3.9. Etika Penelitian

Pada penelitian akan diusahakan untuk dilakukan langkah-langkah etika penelitian yaitu:

- a. Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan jujur baik dari pengambilan data, pengambilan pustaka, perlakuan hewan coba, analisis data, maupun kegagalan dan keberhasilan penelitian.
- b. Peneliti terlebih dahulu mengajukan *ethical clearance* sebelum melaksanakan prosedur penelitian di laboratorium.
- c. Peneliti menggunakan mencit (*Mus musculus*) galur Balb/c yang dikembangkan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gajah Mada. Sebelum dilakukan dekapitasi, mencit dibius terlebih dahulu sehingga tidak menyakiti mencit.
- d. Peneliti mengajukan permohonan ijin terlebih dahulu sebelum melaksanakan penelitian. Permohonan ijin ditujukan untuk Laboratorium Histologi, Farmologi dan Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia sebagai tempat perlakuan hewan coba.
- e. Selama perlakuan akan diterapkan prinsip-prinsip *animal welfare* (kesejahteraan hewan) pada hewan coba.

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini telah mendapat persetujuan Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dengan nomor 32/Ka.Kom.Et/70/KE/I/2016 (lampiran 6).

#### 4.1.1 Hasil Pengamatan Berat Badan dan Kadar MDA Plasma Mencit

Hewan coba dibagi kedalam lima kelompok. Kelompok K1 adalah kelompok kontrol sehat yang diberikan aquades selama 10 minggu. Kelompok K2 adalah kelompok kontrol model penuaan yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu, dilanjutkan pemberian aquades selama 4 minggu. Kelompok P1 adalah kelompok perlakuan yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu, dilanjutkan pemberian zat antioksidan berupa ekstrak air daun kersen dosis 35mg/kgBB selama 4 minggu. Kelompok P2 adalah kelompok perlakuan yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu, dilanjutkan pemberian zat antioksidan berupa ekstrak air daun kersen dosis 70mg/kgBB selama 4 minggu. Kelompok P3 adalah kelompok perlakuan yang diinduksi D-galaktosa selama 6 minggu, dilanjutkan pemberian zat antioksidan berupa vitamin C dosis 28mg/kgBB selama 4 minggu.

**Tabel3.** Rerata berat badan mingguan hewan coba

| Kelompok | n | Awal<br>(gr) | Minggu<br>II (gr) | Minggu<br>IV (gr) | Minggu<br>VI (gr) | Minggu<br>VIII (gr) | Minggu<br>X (gr) |
|----------|---|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|------------------|
| I        | 4 | 26,10        | 36,75             | 37,48             | 39,55             | 41,48               | 42,32            |
| II       | 4 | 27,50        | 28,25             | 30,48             | 31,95             | 31,73               | 32,53            |
| III      | 4 | 26,77        | 30,90             | 35,65             | 36,80             | 36,90               | 37,38            |
| IV       | 4 | 27,73        | 29,88             | 39,75             | 41,65             | 37,45               | 43,65            |
| V        | 4 | 29,45        | 34,70             | 36,15             | 37,65             | 39,38               | 41,45            |

Sebelum diberikan perlakuan, seluruh hewan coba diaklimatisasi sebagai upaya penyesuaian fisiologis. Selanjutnya dilakukan perhitungan

berat badan untuk mengetahui homogenitas antarkelompok. Hasil perhitungan berat badan pada awal penelitian (tabel 3) menunjukkan seluruh hewan coba homogen dengan rerata berat badan yang relatif sama ( $P>0.05$ ). Perhitungan berat badan dilakukan secara kontinyu sampai akhir penelitian. Hasil perhitungan berat badan mingguan menunjukkan semua hewan coba mengalami peningkatan berat badan selama penelitian (tabel 3).

**Tabel 4.** Karakteristik hewan coba sebelum diberikan perlakuan

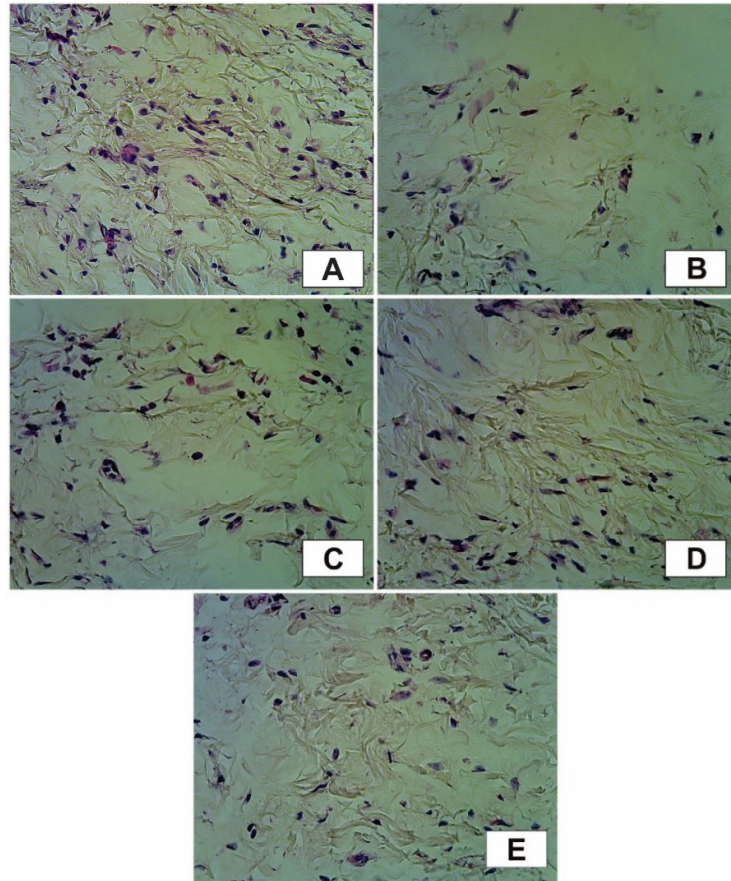
| Kelompok     | n | Berat badan<br>(gram) | MDA plasma<br>(mg/dl) |
|--------------|---|-----------------------|-----------------------|
| Kelompok I   | 4 | 26,10 ± 3,47          | 1,75 ± 0,11           |
| Kelompok II  | 4 | 27,50 ± 1,58          | 6,47 ± 0,09*          |
| Kelompok III | 4 | 26,77 ± 2,04          | 6,33 ± 0,09*          |
| Kelompok IV  | 4 | 27,73 ± 6,80          | 6,29 ± 0,10*          |
| Kelompok V   | 4 | 29,45 ± 2,77          | 6,32 ± 0,19*          |

Selanjutnya, induksi penuaan pada hewan coba dilakukan dengan pemberian sonde oral D-galaktosa selama 6 minggu. Kelompok yang diinduksi D-galaktosa yaitu kelompok K2, P1, P2 dan P3. Setelah diinduksi D-galaktosa, dilakukan perhitungan kadar MDA plasma pada semua hewan coba (Tabel 4). Hasil perhitungan menunjukkan peningkatan kadar MDA yang signifikan pada kelompok K2, P1, P2 dan P3 dibandingkan dengan kelompok K1 ( $P<0.05$ ). Hal ini menunjukkan semua hewan coba yang diinduksi D-galaktosa mengalami proses penuaan secara oksidatif, ditandai dengan peningkatan kadar MDA plasma.

#### 4.1.2 Hasil Pengamatan Jumlah Fibroblas Kulit Mencit

Pengamatan jumlah fibroblas kulit mencit menggunakan mikroskop *Nicon eclipse e100* dengan perbesaran 400x. Selanjutnya perhitungan sel fibroblas menggunakan aplikasi *Image Raster 3*. Fibroblas yang diamati yaitu sel berbentuk gelendong, memiliki inti satu atau lebih, bersifat basofilik, dan berwarna ungu pada pewarnaan hematoxylin eosin

(Kusumawardhani, 2015). Pengamatan pada kelompok K1 (gambar 8.A) menunjukkan sel fibroblas dengan jumlah terbanyak, sementara kelompok K2 (gambar 8.B) menunjukkan penurunan jumlah sel fibroblas.



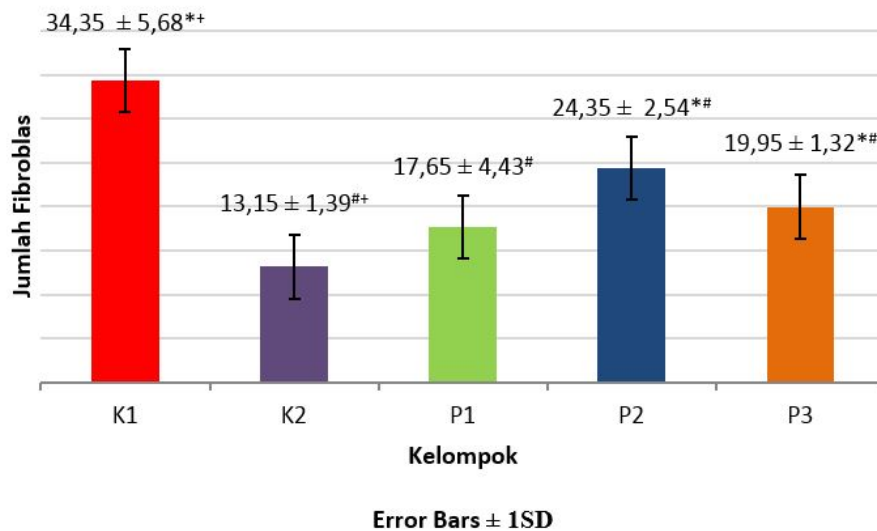
**Gambar 8. Gambaran histologi fibroblas dermis dengan pewarnaan HE perbesaran 400x.**(A) Kelompok K1 kontrol sehat; (B) Kelompok K2 kontrol penuaan; (C) Kelompok P1 ekstrak 35mg; (D) Kelompok P2 ekstrak 70mg; (E) Kelompok P3 vitamin C.

Analisis data penelitian terdiri dari uji normalitas, uji varian dan uji perbedaan antar kelompok. Uji normalitas data dengan uji *Saphiro-Wilk* menunjukkan subjek penelitian berasal dari populasi dengan distribusi normal ( $P > 0,05$ ). Analisis dilanjutkan dengan uji varian menggunakan *one-way ANOVA* (tabel 3). Analisis deskriptif (Tabel 5) menunjukkan rerata fibroblas tertinggi berjumlah 34 sel terdapat pada kelompok K1, sedangkan rerata fibroblas terendah berjumlah 13 sel terdapat pada kelompok K2. Hasil

uji signifikansi adalah  $P = 0.000$  atau  $P < 0.05$ , hal ini menunjukkan data penelitian antar kelompok signifikan.

**Tabel 5.** Hasil Uji *One-way* ANOVA.

|       | Mean    | Std. Deviation | Minimum | Maximum | <i>One-way</i> ANOVA |
|-------|---------|----------------|---------|---------|----------------------|
| K1    | 34.3500 | 5.67891        | 29.80   | 42.40   | 0.0000               |
| K2    | 13.1500 | 1.38924        | 12.20   | 15.20   |                      |
| P1    | 17.6500 | 4.42531        | 12.80   | 23.00   |                      |
| P2    | 24.3500 | 2.53706        | 21.80   | 27.80   |                      |
| P3    | 19.9500 | 1.32035        | 18.20   | 21.40   |                      |
| Total | 21.8900 | 8.02482        | 12.20   | 42.40   |                      |



**Gambar 9.** Rerata jumlah fibroblas antar kelompok.

(\*) berbeda bermakna dengan kelompok kontrol penuaan ( $p < 0.05$ ), (#) berbeda bermakna dengan kelompok kontrol sehat ( $p < 0.05$ ), (+) berbeda bermakna dengan kelompok perlakuan vitamin C ( $p < 0.05$ ). Kelompok kontrol sehat (K1), Kelompok kontrol penuaan (K2), Kelompok ekstrak 35mg (P1), Kelompok ekstrak 70mg (P2), Kelompok vit. C (P3).

Analisis kemudian dilanjutkan dengan uji *post-hoc* LSD (lampiran 3) untuk menilai kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna. Berdasarkan uji *Post-hoc* LSD, didapatkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok K1 dan K2 dengan  $P = 0.000$ . Selanjutnya, antara kelompok K2 dan P1 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan

$P=0.091$ . Kelompok K2 dan P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan  $P=0.000$ . Kelompok K2 dan P3 juga menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan  $P=0.015$ . Selanjutnya, antara kelompok perlakuan ditemukan perbedaan yang signifikan pada kelompok P1 dan P2 dengan  $P=0$ . Kelompok P1 dan P3 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan  $P=0.370$ . kelompok P2 dan P3 juga menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan  $P=0.097$ .

#### 4.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan hewan coba *Mus musculus balb/c* yang dibagi kedalam dua kelompok kontrol yaitu kelompok K1 sebagai kontrol sehat dan kelompok K2 sebagai hewan model penuaan yang diinduksi D-galaktosa selama enam minggu. Kelompok yang diberikan D-galaktosa adalah kelompok K2, P1, P2 dan P3. Sebelum diberikan perlakuan, dilakukan perhitungan MDA plasma pada semua kelompok tersebut. Hasil pemeriksaan MDA plasma menunjukan peningkatan kadar MDA yang signifikan pada kelompok yang diberikan D-galaktosa dibanding kelompok yang tidak diberikan. Hal ini menunjukkan D-galaktosa berpengaruh terhadap kadar MDA plasma mencit. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Yang, *et al.* (2012) yang menunjukkan pemberian D-galaktosa meningkatkan kadar MDA plasma mencit dengan  $p<0.05$ . D-galaktosa dapat menginduksi penuaan melalui mekanisme reaksi oksidasi yang menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Species*). ROS selanjutnya akan merangsang membran sel untuk menghasilkan *Malondialdehyde* (MDA) yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid. Kadar MDA plasma yang tinggi dapat digunakan sebagai tolak ukur peningkatan aktivitas radikal bebas (Wahjuni, 2014).

Indikator penuaan yang diamati selanjutnya adalah jumlah fibroblas. Penelitian menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara jumlah fibroblas pada kelompok kontrol sehat dan kelompok model penuaan terinduksi D-galaktosa. Hal ini sejalan dengan penelitian Ye, *et al* (2014) yang menunjukkan adanya penurunan jumlah fibroblas pada hewan yang diinduksi D-galaktosa selama 42 hari dengan signifikansi  $p<0.05$ . Induksi D-galaktosa meningkatkan

konsentrasi galaktosa di dalam sel. Galaktosa selanjutnya akan tereduksi menjadi galaktikol dengan bantuan enzim aldosa reduktase. Galaktikol yang sulit dimetabolisme akan menumpuk didalam sel. Penumpukkan galaktikol menyebabkan perubahan pada tekanan osmotik sel yang selanjutnya menyebabkan pembengkakan dan disfungsi sel (Ye, *et al.* 2014). Penelitian lain yang dilakukan oleh Wang, *et al.* (2016) menunjukkan pemberian D-galaktosa menyebabkan penurunan jumlah dan fungsi biologis dari fibroblas dermis. Hal ini karena D-galaktosa mengubah aktivitas enzimatis sel dan meningkatkan produk AGEs sehingga berdampak pada penuaan kulit.

Kelompok perlakuan dibagi kedalam tiga kelompok yaitu kelompok P1 yang diinduksi D-galaktosa dilanjutkan pemberian ekstrak air *M. calabura* dosis 35mg, kelompok P2 yang diinduksi D-galaktosa dilanjutkan pemberian ekstrak air *M. calabura* dosis 70mg dan kelompok P3 yang diinduksi D-galaktosa dilanjutkan pemberian vitamin C dosis 28 mg. Hasil analisis data penelitian menunjukkan adanya perbedaan jumlah fibroblas yang signifikan pada kelompok model penuaan terinduksi D-galaktosa dan kelompok yang diinduksi D-galaktosa dilanjutkan dengan pemberian ekstrak air *M. calabura* dosis 70mg. Penelitian Khan, *et al.* 2015, menunjukkan daun *M. calabura* mengandung zat-zat seperti flavonoid, fenol dan asam askorbat yang berpotensi meminimalisir kerusakan sel akibat radikal bebas. Flavonoid adalah suatu antioksidan alam yang mempunyai aktivitas biologis yang dapat menghambat berbagai reaksi oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil (Kuntorini, *et al.*, 2013). Kandungan lainnya adalah fenol dengan kelompok hidroksil yang berperan sebagai donor proton mampu menghambat reaksi peroksidasi lipid yang diinduksi radikal bebas (Narayanaswamy, 2011). Senyawa polifenol juga memiliki aktivitas antiglikasi melalui penghambatan *signaling* RAGEs, menghambat reaksi glikosidasi (Sadowska-Bartosz dan Bartosz, 2015).

Hasil analisis data statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok K2 dan kelompok P3. Hal ini menunjukan vitamin C memiliki pengaruh terhadap jumlah fibroblas kulit. Vitamin C berfungsi sebagai *scavenger* yang mereduksi radikal bebas di plasma sehingga dapat melindungi sel

dari kerusakan yang diakibatkan ROS (Grosso, *et al.* 2015). Vitamin C mendonorkan dua elektron kepada senyawa reaktif dan mengubahnya menjadi senyawa yang stabil. Selanjutnya vitamin C akan berubah menjadi radikal askorbil yang tidak reaktif. Vitamin C juga merangsang pembentukan barrier epidermal dan proliferasi fibroblas, membantu sintesis DNA dan mitokondria, merangsang pembentukan membran plasma serta mempercepat penyembuhan luka (Dianasari, 2014). Vitamin C memiliki fungsi sitoprotektif dengan menghambat mutasi DNA terinduksi oksidasi, melindungi lipid dari kerusakan peroksidatif dan memperbaiki residu asam amino teroksidasi demi menjaga integritas protein (Grosso, 2013).

Hasil analisis data menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok perlakuan P1, P2, dan P3. Hal ini menunjukkan ekstrak air daun *Muntingia calabura* memiliki keefektifan yang sama dengan vitamin C. Daun *Muntingia calabura* memiliki kandungan asam askorbat atau vitamin C sebesar 11.21 mg/g (Khan, *et al.* 2015). Jumlah ini lebih tinggi dibandingkan bagian lainnya seperti pada akar yaitu sebesar 9.13 mg/g. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan vitamin C sebagai *scavenger* juga dimiliki oleh ekstrak air daun *Muntingia calabura*.

## **BAB V. SIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Simpulan**

Pemberian ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura*) 70mg berpengaruh terhadap jumlah fibroblas pada proses penuaan *Mus musculus Balb/c* yang diinduksi D-galaktosa.

### **5.2 Saran**

Saran peneliti untuk penelitian selanjutnya adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak air daun kersen (*Muntingia calabura*) pada indikator penuaan kulit lainnya seperti faktor pertumbuhan, kolagen dan komponen ekstraseluler lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aruna, S. M., Bodke, Y. D., Chandrashekar, A., 2013. Antioxidant and In Vivo Anti-Hyperglycemic Activity of *Muntingia calabura* Leaves Extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 5 (3):427-435.
- Charan, J., Kantharia, N. D. 2013. How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 04(04), pp. 303-306
- Birasal, N. R., 2013. Jamaica Cherry is the Best Tree to Grow on Roadsides: Brought From Tropical America is Naturalized Throughout Southeast Asia. *Journal of Biodiversity & Endangered Species*, 02(01), pp.1–2.
- Datta, H. S., Mitra, S. K., Paramesh, R., Patwardhan, B., 2011. Theories and Management of Aging: Modern and Ayurveda Perspectives. *Journal of Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2011, ArticleID 528527, 6 pages.
- Dianasari, R., 2014. Pemberian Krim Ekstrak Jagung Ungu (*Zea Mays*) Menghambat Peningkatan Kadar Mmp-1 dan Penurunan Jumlah Kolagen Pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Sinar Uv-B, Tesis, Program Magister Program Studi Ilmu Biomedik Program Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar.
- Eroschenko, V. P. 2010. Atlas Histologi Difiore : dengan Korelasi Fungsional. Jakarta : EGC.
- Fortunel, N. O., Asselineau, D., 2008. Aging Alters Functionally Human Dermal Papillary Fibroblasts but Not Reticular Fibroblasts : A New View of Skin Morphogenesis and Aging, 3(12), pp.1–13.
- Grosso, G., Bei, R., Mistretta, A., Marventano, S., Calabrese, G., Masuelli, L. 2013. Red orange: Experimental models and epidemiological evidence of its benefits on human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013, pp.1–11.
- Harmita, Radji M. 2008. Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3. Jakarta : EGC.
- Irma, 2014. Pemberian Krim Ekstrak Sarang Walet 10% Meningkatkan Epitelisasi pada Penyembuhan Luka Kulit Mencit (*Mus Musculus*), Tesis, Program Pascasarjana Universitas Udayana.
- Khan Y, M. A., Mundasada, S. C., Ramadas, D., 2015. Antioxidant Activity : Root, Leaves and Fruits Aqueous Extracts of *Muntingia Calabura*. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, Vol 2 (4), 363-368.
- Kuntorini, E. M., Fitriana, S., dan Astuti, D., 2013. Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kersen ( *Muntingia calabura* ). Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung. Program Studi Biologi FMIPA Universitas Lampung Mangkurat.
- Kusumawardhani, A. D., Kalsum, U., Rini, I. S., 2015. Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap Jumlah Fibroblas Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar.

Majalah Kesehatan FKUB, Volume 2, Nomer 1.

- López-otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemeret, G., 2013. The Hallmarks of Aging. *Europe PMC Funders Group*, 153(6), pp.1194–1217.
- Lu, J., Wu, DM., Zheng, YL., Hu, B., Zhang, ZF. 2010. Purple Sweet Potato Color Alleviates D-galactose-Induced Brain Aging in Old Mice By Promoting Survival of Neurons Via PI3K Pathway and Inhibiting Cytochrome C-Mediated Apoptosis. *Brain Pathology*, 20(3), pp.598–612.
- Mahmood, N. D., Nasir, N. L. M, Rofiee. M. S., Tohid. S., Ching, S., The, L., *et al.*, 2014. Muntingia calabura: A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations. *Pharm Biol*, 52(12):1598-623.
- Mohammadirad, A., Aghamohammadali-Sarraf, F., Badiei, S., Faraji, Z., Hajiaghaee, R., Baeeri M., *et al.*, 2013. Anti-aging effects of some selected Iranian folk medicinal herbs-biochemical evidences. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(11), pp.1170–1180.
- Nawir, M., 2015. Perbandingan Jumlah Fibroblast Pada Bed Luka Akut Tikus Wistar Antara Aplikasi Ekstrak Gel Aloe Vera Dan Tulle. *Tesis. Konsentrasi Pendidikan Dokter Spesialis Terpadu, Program Studi Biomedik Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar*
- Pakurar, A. S., Bigbee, J. W. 2004. *Digital Histology*. Canada : John Wiley & Sons, Inc.
- Parameshwaran, K., Irwin, M., Steliou, K., Pinkert, C., 2010. D-galactose Effectiveness in Modeling Aging and Therapeutic Antioxidant Treatment in Mice. *Rejuvenation Research*, 13(6), pp.729–735.
- Putri, F. R., Tasminatun, S., 2012. Efektivitas Salep Kitosan terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimia pada Rattus norvegicus Chitosan Oilment. *Mutiara Medika*, 12(1), pp.24–30.
- Sadowska-Bartosz, I., Bartosz, G., 2015. Prevention of protein glycation by natural compounds. *Molecules*, 20(2), pp.3309–3334.
- Tigges, J., Krutmann, J., Fritsche, E., Haendeler, J., Schaal, H., Fischer, J., *et al.*, 2014. Mechanisms of Ageing and Development : Review of The hallmarks of fibroblast ageing. *Elsevier Ireland Ltd*, 138(1), pp.26–44.
- Tortora, G. J., Derrickson, B., 2009. *Principles of Anatomy and Physiology*. USA : John Wiley & Sons, Inc.
- Wahjuni, S. 2014. Anti-Hipercholesterolemia Of Anredera Cordifolia In Hypercholesterolemia Rat Wistar Through Decrease Of Malondialdehyde And 8-Hydroxy-Diguanosine. *Indonesian Journal of Biomedical Sciences*, 08(1) pp.4-7.
- Wang, D., Liu, M., Cao, J., Cheng, Y., Zhuo, C., Xu, H., *et al.*, 2012. Effect of Colla corii asini (E'jiao) on D-galactose Induced Aging Mice. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 35(12), pp.2128–32.

- Wang, H., Wei, S., Xue, X., Uou, Y., Ma, Q. 2016. Adipose stem cells' antagonism in glycosylation of D-galactose-induced skin aging of nude mice and its skin recovery function. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, Vol. 29(3) 376–385
- Yaar, M., Gilchrest, B., 2007. Photoageing : mechanism, prevention and therapy. *British Journal of Dermatology*, 157(5), pp.874–887.
- Yang, Y., Lin, H., Su, K., Chen, C., Yu, Y., Lin, C., *et al.* 2012. Rutin, a Flavonoid That Is a Main Component of *Saussurea involucrata*, Attenuates the Senescence Effect in D-galactose Aging Mouse Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2012 , Article ID 980276, 10 pages, pp. 1-10.
- Ye, Y., Jia, R., Tang, L., Chen, F., 2014. In Vivo Antioxidant and Anti-Skin-Aging Activities Of Ethyl Acetate Extraction from *Idesia Polycarpa* Defatted Fruit Residue in Aging Mice Induced by D-galactose. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Volume 2014, Article ID 185716, pp. 1-12.
- Zhang, S., Dong, Z., Peng, Z., Feng Lu, F., 2014. Anti-Aging Effect of Adipose-Derived Stem Cells in A Mouse Model of Skin Aging Induced by D-galactose. *PLoS ONE*, 9(5), pp.1–7.

## LAMPIRAN

**Lampiran 1.**Tabel Konversi Dosis

| Hewan<br>Percobaan | Mencit<br>20 g | Tikus<br>200 g | Marmut<br>400 g | Kelinci<br>1,5 kg | Kucing<br>2 kg | Kera<br>4 kg | Anjing<br>12 kg | Manusia<br>70 kg |
|--------------------|----------------|----------------|-----------------|-------------------|----------------|--------------|-----------------|------------------|
| Mencit<br>20 g     | 1,0            | 7,0            | 12,25           | 27,8              | 29,7           | 64,1         | 124,2           | 387,9            |
| Tikus<br>200 g     | 0,14           | 1,0            | 1,74            | 3,9               | 4,2            | 9,2          | 17,8            | 56,0             |
| Marmut<br>400 g    | 0,08           | 0,57           | 1,0             | 2,25              | 2,4            | 5,2          | 10,2            | 31,5             |
| Kelinci<br>1,5 kg  | 0,04           | 0,25           | 0,44            | 1,0               | 1,08           | 2,4          | 4,5             | 14,2             |
| Kucing<br>2 kg     | 0,03           | 0,23           | 0,41            | 0,92              | 1,0            | 2,2          | 4,1             | 13,2             |
| Kera<br>4 kg       | 0,016          | 0,11           | 0,19            | 0,42              | 0,45           | 1,0          | 1,9             | 6,1              |
| Anjing<br>12 kg    | 0,008          | 0,06           | 0,10            | 0,22              | 0,24           | 0,52         | 1,0             | 3,1              |
| Manusia<br>70 kg   | 0,0026         | 0,018          | 0,31            | 0,07              | 0,076          | 0,16         | 0,32            | 1,0              |

**Lampiran 2.** Langkah-langkah Pembuatan Ekstrak Air Daun Kersen

1. Daun kersen diambil dari helai ke 4-10 yang berwarna hijau, selanjutnya dicuci dan dipisahkan dari tangkainya,
2. Daun diremas-remas lalu dikeringkan selama 7 hari dan dibuat serbuk,
3. Untuk mendapatkan ekstrak air, sebanyak 200gr serbuk daun kersen diekstraksi dengan pelarut air sebanyak 1,5 liter, secara maserasi selama 3 hari pada suhu ruang dengan pengulangan sebanyak 3 kali, kemudian disaring dan diuapkan pelarutnya dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh residu kering,
4. Residu kering ditimbang sesuai massa yang diinginkan,
5. Residu ini disebut sebagai ekstrak air sehingga dapat dipergunakan untuk tahap penelitian.

**Lampiran 3.**Hasil Uji *Paired t Test* pengamat 1 dan 2

**Paired Samples Statistics**

|        |            | Mean    | N  | Std. Deviation | Std. Error Mean |
|--------|------------|---------|----|----------------|-----------------|
| Pair 1 | fibroblas1 | 21.8900 | 20 | 8.02482        | 1.79441         |
|        | fibroblas2 | 21.4200 | 20 | 7.67934        | 1.71715         |

**Paired Samples Test**

|        |                         | Paired Differences |                |                 |                                           | t       | df    | Sig. (2-tailed) |       |
|--------|-------------------------|--------------------|----------------|-----------------|-------------------------------------------|---------|-------|-----------------|-------|
|        |                         | Mean               | Std. Deviation | Std. Error Mean | 95% Confidence Interval of the Difference |         |       |                 |       |
|        |                         |                    |                |                 | Lower                                     |         |       |                 | Upper |
| Pair 1 | fibroblas1 - fibroblas2 | .47000             | 1.79388        | .40112          | -.36956                                   | 1.30956 | 1.172 | 19              | .256  |

#### Lampiran 4. Hasil Analisis Data Statistik

##### Uji Normalitas

| Tests of Normality |          |                                 |    |      |              |    |      |
|--------------------|----------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
|                    | kelompok | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |      | Shapiro-Wilk |    |      |
|                    |          | Statistic                       | df | Sig. | Statistic    | df | Sig. |
| jumlah_fibroblas   | K1       | .261                            | 4  | .    | .873         | 4  | .311 |
|                    | K2       | .349                            | 4  | .    | .782         | 4  | .074 |
|                    | P1       | .178                            | 4  | .    | .985         | 4  | .933 |
|                    | P2       | .242                            | 4  | .    | .953         | 4  | .735 |
|                    | P3       | .265                            | 4  | .    | .953         | 4  | .735 |

a. Lilliefors Significance Correction

##### Uji *One-way* ANOVA

##### Descriptives

jumlah\_fibroblas

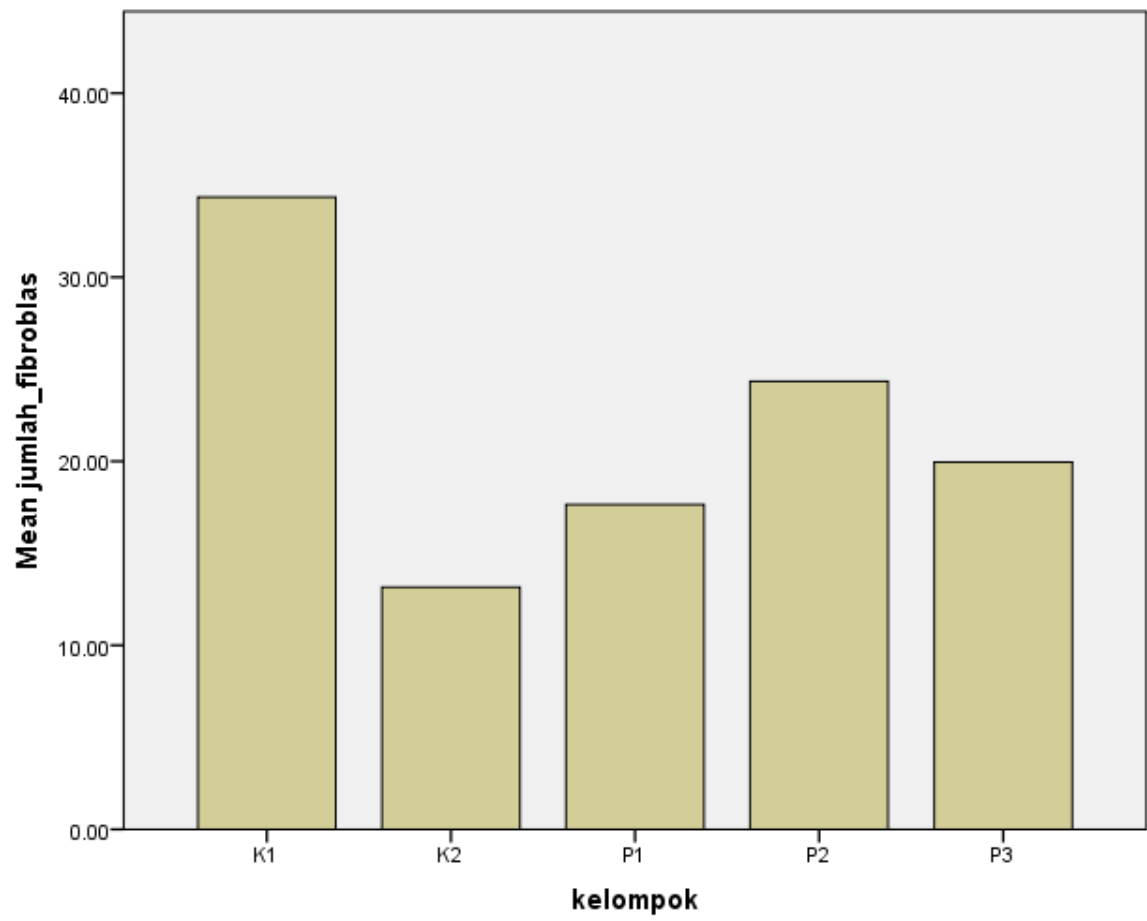
|       | N  | Mean    | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum | Maximum |
|-------|----|---------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|---------|---------|
|       |    |         |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |         |         |
| K1    | 4  | 34.3500 | 5.67891        | 2.83945    | 25.3136                          | 43.3864     | 29.80   | 42.40   |
| K2    | 4  | 13.1500 | 1.38924        | 0.69462    | 10.9394                          | 15.3606     | 12.20   | 15.20   |
| P1    | 4  | 17.6500 | 4.42531        | 2.21265    | 10.6084                          | 24.6916     | 12.80   | 23.00   |
| P2    | 4  | 24.3500 | 2.53706        | 1.26853    | 20.3130                          | 28.3870     | 21.80   | 27.80   |
| P3    | 4  | 19.9500 | 1.32035        | 0.66018    | 17.8490                          | 22.0510     | 18.20   | 21.40   |
| Total | 20 | 21.8900 | 8.02482        | 1.79441    | 18.1343                          | 25.6457     | 12.20   | 42.40   |

##### ANOVA

jumlah\_fibroblas

|                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
| Between Groups | 1037.728       | 4  | 259.432     | 20.941 | .000 |
| Within Groups  | 185.830        | 15 | 12.389      |        |      |
| Total          | 1223.558       | 19 |             |        |      |

Grafik rerata jumlah fibroblas antarkelompok



*Uji Post-Hoc***Multiple Comparisons**

Dependent Variable: jumlah\_fibroblas

LSD

| (I) kelompok | (J) kelompok | Mean Difference<br>(I-J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval |             |
|--------------|--------------|--------------------------|------------|------|-------------------------|-------------|
|              |              |                          |            |      | Lower Bound             | Upper Bound |
| K1           | K2           | 21.20000*                | 2.48884    | .000 | 15.8952                 | 26.5048     |
|              | P1           | 16.70000*                | 2.48884    | .000 | 11.3952                 | 22.0048     |
|              | P2           | 10.00000*                | 2.48884    | .001 | 4.6952                  | 15.3048     |
|              | P3           | 14.40000*                | 2.48884    | .000 | 9.0952                  | 19.7048     |
| K2           | K1           | -21.20000*               | 2.48884    | .000 | -26.5048                | -15.8952    |
|              | P1           | -4.50000                 | 2.48884    | .091 | -9.8048                 | .8048       |
|              | P2           | -11.20000*               | 2.48884    | .000 | -16.5048                | -5.8952     |
|              | P3           | -6.80000*                | 2.48884    | .015 | -12.1048                | -1.4952     |
| P1           | K1           | -16.70000*               | 2.48884    | .000 | -22.0048                | -11.3952    |
|              | K2           | 4.50000                  | 2.48884    | .091 | -.8048                  | 9.8048      |
|              | P2           | -6.70000*                | 2.48884    | .017 | -12.0048                | -1.3952     |
|              | P3           | -2.30000                 | 2.48884    | .370 | -7.6048                 | 3.0048      |
| P2           | K1           | -10.00000*               | 2.48884    | .001 | -15.3048                | -4.6952     |
|              | K2           | 11.20000*                | 2.48884    | .000 | 5.8952                  | 16.5048     |
|              | P1           | 6.70000*                 | 2.48884    | .017 | 1.3952                  | 12.0048     |
|              | P3           | 4.40000                  | 2.48884    | .097 | -.9048                  | 9.7048      |
| P3           | K1           | -14.40000*               | 2.48884    | .000 | -19.7048                | -9.0952     |
|              | K2           | 6.80000*                 | 2.48884    | .015 | 1.4952                  | 12.1048     |
|              | P1           | 2.30000                  | 2.48884    | .370 | -3.0048                 | 7.6048      |
|              | P2           | -4.40000                 | 2.48884    | .097 | -9.7048                 | .9048       |

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Lampiran 5. Surat Determinasi



LABORATORIUM BIOLOGI FARMASI  
PROGRAM STUDI FARMASI  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
Gedung Laboratorium Terpadu UII, Jl. Kaliurang km 14,5 Ngemplak Sleman, Yogyakarta  
Telp: (0274)895920 ext 3033, 3034

### SURAT KETERANGAN

Nomor:02/UII/Jur Far/det/I/2016

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : dr.Evy Sulistyoningrum, M.Sc.  
NIK : 147110202  
Pada tanggal : 25 Januari 2016

Telah mendeterminasi 1 ( satu ) species tanaman dengan bimbingan Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Muntingia calabura* ( kersen )

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.



Yogyakarta, 25 Januari 2016  
Bagian Biologi Farmasi  
Kepala,

*Annisa Fithria M.Si., Apt.*  
NIP. 126130401

## Lampiran 6. *Ethical clearance*



  
**UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**KOMITE ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN DAN KESEHATAN**

Sekretariat : Jl. Kaliurang Km. 14,5 YOGYAKARTA 55584  
 Telp. (0274) 898444 ext. 2060 Fax. (0274) 898444 ext. 2007; E-mail : ke.fkuii@yahoo.co.id

Nomor : 32/Ka.Kom.Et/70/KE/I/2016

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK**  
**ETHICAL APPROVAL**

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

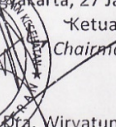
*The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :*

**"Aktivitas Antipenuaan Ekstrak Air Daun Kersen (*Muntingia calabura*) : Studi Eksperimental pada *Mus musculus* Balb/c Terinduksi D-Galaktosa."**

Peneliti Utama : dr. Rosmelia, M.Kes, Sp.KK  
Principal Investigator : dr. Evy Sulistyoningrum, M.Sc

Nama Institusi : Program Studi Pendidikan Dokter FK UII  
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.  
*and approved the above-mentioned protocol.*

Yogyakarta, 27 Januari 2016  
 Ketua  
*Chairman*  
  
 Prof. Dr. Dra. Wiryatun Lestariyana, Apt

\**Ethical Approval* berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

\*\*Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
  - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini *ethical clearance* harus diperpanjang
  - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (*serious adverse events*)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan *informed consent*