

DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Lembar Pengesahan	iii
Ucapan Terima Kasih	vi
Ringkasan	xii
Abstrak	xvi
Daftar Isi	xviii
Daftar Tabel	xxi
Daftar Gambar	xxii
Daftar Lampiran	xxiv
Daftar Singkatan	xxv

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1	Latar Belakang	1
1.2	Rumusan Masalah	4
1.3	Tujuan Penelitian	5
1.3.1	Tujuan umum penelitian	5
1.3.2	Tujuan khusus penelitian	5
1.4	Manfaat Penelitian	6
1.4.1	Manfaat teoritis	6
1.4.2	Manfaat praktis	6

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1	<i>Photoaging</i>	7
2.2	Patomekanisme <i>Photoaging</i>	12
2.2.1	<i>Signal transduction pathways</i>	15
2.2.2	<i>Transforming growth factor β receptor II (TGFβ RII)</i> pada <i>photoaging</i>	21
2.2.3	<i>Matrix metalloproteinase (MMP)</i> pada <i>photoaging</i>	23
2.2.4	<i>F₂-Isoprostane (F₂-IsoPs)</i> pada <i>photoaging</i>	27
2.2.5	Kolagen pada <i>photoaging</i>	32
2.2.6	<i>Transepidermal water loss (TEWL)</i> pada <i>photoaging</i>	33
2.3	Antioksidan Endogen sebagai Pertahanan Kulit terhadap ROS	35
2.4	Penghantaran Obat Topikal secara Transdermal	37
2.5	Bahan Alam pada Pencegahan <i>Photoaging</i>	43
2.5.1	Tanaman teh hijau (<i>Camelia sinesis</i>) pada pencegahan <i>photoaging</i>	46
2.6	<i>Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)</i>	50
2.6.1	Farmakokinetik <i>EGCG</i>	50
2.6.2	Farmakodinamik <i>EGCG</i>	54
2.6.3	Aktivitas antioksidan dan prooksidan dari <i>EGCG</i>	57
2.6.3.1	Aktivitas antioksidan dari <i>EGCG</i>	57
2.6.3.2	Aktivitas prooksidan dari <i>EGCG</i>	67
2.6.4	Penelitian mengenai <i>EGCG</i> pada pencegahan <i>photoaging</i>	68
2.7	<i>Computer Aided Drug Design (CADD)</i> pada Pengembangan <i>EGCG</i> untuk Pencegahan <i>Photoaging</i>	72
2.8	Pemilihan Hewan Coba	74
2.9	Kerangka Teori	78

BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konseptual	82
3.2	Hipotesis Penelitian	84
BAB 4 METODE PENELITIAN		
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	85
4.2	Populasi, Besar Sampel dan Teknik Pengambilan Sampel	87
4.2.1	Populasi penelitian	87
4.2.2	Sampel penelitian	87
4.2.3	Besar sampel penelitian	87
4.2.4	Kriteria penerimaan sampel	88
4.2.5	Kriteria penolakan sampel	88
4.2.6	Kriteria <i>drop out</i>	88
4.2.7	Teknik pengambilan sampel	88
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel Penelitian	89
4.3.1	Klasifikasi variabel penelitian	89
4.3.2	Definisi operasional variabel	90
4.4	Materi Penelitian	91
4.5	Instrumen Penelitian	92
4.6	Tempat Penelitian	93
4.7	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	93
4.7.1	Kerangka operasional	93
4.7.2	Prosedur penelitian	94
4.7.2.1	Prosedur formulasi bahan uji topikal	94
4.7.2.2	Prosedur pemberian bahan uji topikal	95
4.7.2.3	Prosedur penyinaran UV B untuk mendapat <i>photoaging animal model</i>	95
4.7.2.4	Prosedur biopsi jaringan dan pembuatan sediaan histopatologis	96
4.7.2.5	Prosedur pewarnaan <i>Masson Trichrome</i>	97
4.7.2.6	Prosedur pembuatan sediaan imunohistokimia	98
4.7.2.7	Prosedur pemeriksaan dengan mikroskop	100
4.7.2.8	Prosedur evaluasi dengan metode modified- <i>Remmele</i> atau <i>Immuno Reactive Score (IRS)</i>	100
4.7.2.9	Prosedur evaluasi jumlah kolagen di dermis dengan metode <i>Image J analysis</i>	101
4.7.2.10	Prosedur tingkat <i>TEWL</i>	101
4.7.2.11	Prosedur uji <i>insilico</i>	101
4.7.3	Prosedur pengelolaan data	103
BAB 5 HASIL PENELITIAN		
5.1	Interaksi <i>EGCG</i> dengan <i>Inhibitory-Kappa B Kinase (IKK)</i> berdasarkan Pemeriksaan <i>In Silico</i>	105
5.2	Interaksi <i>EGCG</i> dengan <i>Nuclear factor erythoid 2-related factor (Nrf2)</i> berdasarkan Pemeriksaan <i>In Silico</i>	107
5.3	Absorpsi <i>EGCG</i> Topikal pada Kulit Tikus Wistar Berdasarkan Pemeriksaan <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	108
5.4	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>TGFβ RII Fibroblast</i>	109
5.5	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>F₂-IsoPs Fibroblast</i>	112
5.6	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>Collagen type I</i> di Dermis	114
5.7	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Jumlah Kolagen di Dermis	117
5.8	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Tingkat <i>TEWL</i>	120

5.9	Hubungan antara Ekspresi <i>TGFβ RII</i> , Ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> , Ekspresi <i>Collagen type I</i> , Jumlah Kolagen dan Tingkat <i>TEWL</i>	122
-----	--	-----

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1	Interaksi <i>EGCG</i> dengan <i>Inhibitory-Kappa B Kinase (IKK)</i> berdasarkan Pemeriksaan <i>In Silico</i>	130
6.2	Interaksi <i>EGCG</i> dengan <i>Nuclear factor erythoid 2-related factor (Nrf2)</i> berdasarkan Pemeriksaan <i>In Silico</i>	130
6.3	Absorpsi <i>EGCG</i> Topikal pada Kulit Tikus Wistar Berdasarkan Pemeriksaan <i>High Performance Liquid Chromatography (HPLC)</i>	133
6.4	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>TGFβ RII Fibroblast</i>	133
6.5	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>F₂-IsoPs Fibroblast</i>	134
6.6	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Ekspresi <i>Collagen type I</i> di Dermis	135
6.7	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Jumlah Kolagen di Dermis	137
6.8	Pengaruh <i>EGCG</i> Topikal terhadap Tingkat <i>TEWL</i>	140
6.9	Hubungan antara Ekspresi <i>TGFβ RII</i> , Ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> , Ekspresi <i>Collagen type I</i> , Jumlah Kolagen dan Tingkat <i>TEWL</i>	143
6.10	Keterbaruan Penelitian	147
6.11	Keterbatasan Penelitian	149

BAB 7 PENUTUP

7.1	Kesimpulan	150
7.2	Saran	151

Daftar Pustaka	xxvii
Lampiran	xxxvii

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Definisi operasional variabel penelitian	90
Tabel 4.2	Indeks skala dengan metode <i>modified-Remmele</i> atau <i>IRS</i>	101
Tabel 5.1	<i>MolDock Score</i> dan <i>Rerank Score</i> dari interaksi antara <i>IKK</i> dengan <i>EGCG</i> dan molekul standar (5TL)	106
Tabel 5.2	<i>MolDock Score</i> dan <i>Rerank Score</i> dari interaksi antara <i>Nrf-2</i> dengan <i>EGCG</i> dan molekul standar (FB2)	106
Tabel 5.3	Ekspresi <i>TGFβ RII</i> (indeks skala dengan metode <i>IRS</i>)	110
Tabel 5.4	Perbedaan rerata ekspresi <i>TGFβ RII</i> pada analisis <i>Mann-Whitney U test</i>	110
Tabel 5.5	Ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> (indeks skala dengan metode <i>modified-Remmele</i>)	112
Tabel 5.6	Perbedaan rerata ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> pada analisis <i>Mann-Whitney U test</i>	113
Tabel 5.7	<i>Collagen type I</i> (indeks skala dengan metode <i>modified-Remmele</i>)	115
Tabel 5.8	Perbedaan rerata ekspresi <i>collagen type I</i> pada analisis <i>Mann-Whitney U test</i>	115
Tabel 5.9	Jumlah kolagen di dermis	117
Tabel 5.10	Perbedaan rerata jumlah kolagen di dermis pada analisis <i>post hoc pairwise t-test</i>	118
Tabel 5.11	Tingkat <i>TEWL</i>	120
Tabel 5.12	Perbedaan rerata tingkat <i>TEWL</i> pada analisis <i>post hoc Mann-Whitney U test</i>	121

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Panjang gelombang sinar matahari	11
Gambar 2.2	Kedalaman penetrasi sinar UV pada lapisan kulit	11
Gambar 2.3	Peran UV A dan UV B pada <i>photoaging</i>	12
Gambar 2.4	Struktur elektron <i>ROS</i>	15
Gambar 2.5	Mekanisme molekular <i>photoaging</i> pada jalur <i>MAPK</i>	16
Gambar 2.6	Aktivasi beberapa <i>signaling pathway</i> oleh <i>ROS</i> pada <i>photoaging</i>	17
Gambar 2.7	<i>Keap1-Nrf2</i> pada kondisi homeostatik dan pada kondisi stres oksidatif	21
Gambar 2.8	Peran <i>MMP</i> pada <i>photoaging</i>	24
Gambar 2.9	Model hipotesis patofisiologi <i>photoaging</i>	25
Gambar 2.10	Jalur metabolisme <i>arachidonic acid</i>	29
Gambar 2.11	Mekanisme pembentukan <i>F₂-IsoPs</i>	30
Gambar 2.12	<i>Brick and mortar</i> pada stratum korneum	34
Gambar 2.13	Tiga kompartemen di kulit pada penghantaran obat transdermal	39
Gambar 2.14	Struktur <i>EGCG</i>	50
Gambar 2.15	Mekanisme kerja <i>EGCG</i>	55
Gambar 2.16	Reaksi rantai peroksidasi lipid	58
Gambar 2.17	PhOH mengganggu pemanjangan rantai	59
Gambar 2.18	Reaksi <i>single electron transfer reaction (SET)</i>	59
Gambar 2.19	Katalisis logam transisi pada oksidasi <i>polyphenol</i>	61
Gambar 2.20	<i>Quercetin</i> mencegah stres oksidatif melalui jalur <i>Nrf2</i>	65
Gambar 2.21	Jalur <i>Nrf2</i> pada sel kulit	66
Gambar 2.22	Reaksi oksidatif antara <i>EGCG</i> , <i>superoxide</i> , dan ion Fe^{2+}	67
Gambar 2.23	Hasil pemeriksaan <i>HPLC EGCG</i>	71
Gambar 2.24	Kurva baku pemeriksaan <i>HPLC</i> terhadap <i>EGCG</i>	71
Gambar 2.25	Tikus Wistar usia 10-12 minggu	76
Gambar 2.26	Kerangka teori	78
Gambar 3.1	Kerangka konseptual	82
Gambar 4.1	Rancangan penelitian	86
Gambar 4.2	Kerangka operasional	93
Gambar 5.1	Hasil <i>molecular docking 3D structure</i> antara <i>EGCG</i> dengan <i>IKK</i>	106
Gambar 5.2	Hasil <i>molecular docking 3D structure</i> antara <i>EGCG</i> dengan <i>Nrf2</i>	108
Gambar 5.3	Hasil pemeriksaan <i>HPLC</i> terhadap <i>EGCG</i> murni	109
Gambar 5.4	Hasil pemeriksaan <i>HPLC</i> terhadap ekstrak kulit tikus yang diberikan <i>EGCG cream 10%</i>	109
Gambar 5.5	Perbedaan rerata ekspresi <i>TGFβ RII</i> di antara kelompok perlakuan	110
Gambar 5.6	Perbedaan ekspresi <i>TGFβ RII</i> di antara kelompok perlakuan pada pewarnaan imunohistokimia, pembesaran 200x, menggunakan mikroskop Nikon H600L dan camera DS Fi2 300 megapixel	111
Gambar 5.7	Perbedaan rerata ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> diantara perlakuan	112
Gambar 5.8	Perbedaan ekspresi <i>F₂-IsoPs</i> di antara kelompok perlakuan pada pewarnaan imunohistokimia, pembesaran 200x, menggunakan mikroskop Nikon H600L dan camera DS Fi2 300 megapixel	114

Gambar 5.9	Perbedaan rerata ekspresi <i>collagen type I</i> diantara perlakuan	115
Gambar 5.10	Perbedaan ekspresi <i>collagen type I</i> di antara kelompok perlakuan pada pewarnaan imunohistokimia, pembesaran 200x, menggunakan mikroskop Nikon H600L dan camera DS Fi2 300 megapixel	116
Gambar 5.11	Perbedaan rerata jumlah kolagen di dermis diantara perlakuan	118
Gambar 5.12	Perbedaan gambaran histologis pewarnaan Masson trichrome di antara kelompok perlakuan	119
Gambar 5.13	Perbedaan rerata tingkat <i>TEWL</i> di antara kelompok perlakuan	121
Gambar 5.14	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>TGFβ RII</i> dan ekspresi <i>collagen type I</i>	122
Gambar 5.15	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>F₂-isoprostane</i> dan ekspresi <i>collagen type I</i>	123
Gambar 5.16	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>TGFβ RII</i> dan jumlah kolagen	124
Gambar 5.17	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>F₂-isoprostane</i> dan jumlah Kolagen	124
Gambar 5.18	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>collagen type I</i> dan jumlah Kolagen	125
Gambar 5.19	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>TGFβ RII</i> dan tingkat <i>TEWL</i>	126
Gambar 5.20	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>F₂-isoprostane</i> dan tingkat <i>TEWL</i>	126
Gambar 5.21	Hasil uji korelasi antara ekspresi <i>collagen type I</i> dan tingkat <i>TEWL</i>	127
Gambar 5.22	Hasil uji korelasi antara ekspresi jumlah kolagen dan tingkat <i>TEWL</i>	128
Gambar 6.1	Jalur hubungan ekspresi <i>TGFβ RII fibroblast</i> , ekspresi <i>F₂-isoprostane fibroblast</i> , ekspresi <i>collagen type I</i> , jumlah kolagen di dermis, dan <i>photoaging</i> yang dicerminkan oleh tingkat <i>TEWL</i>	148

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Sertifikat analisis <i>EGCG powder</i>	xxxvii
Lampiran 2	Sertifikat Kelayakan Etik	xxxviii
Lampiran 3	Surat ijin penelitian	xxxix
Lampiran 4	Surat keterangan sehat hewan coba	xl

DAFTAR SINGKATAN

<i>8-OHdG</i>	: <i>8-hydroxydeoxyguanosine</i>
<i>AP-1</i>	: <i>activator protein-1</i>
<i>ARE</i>	: <i>antioxidant response element</i>
<i>BMI</i>	: <i>body mass index</i>
<i>CADD</i>	: <i>computer aided drug design</i>
<i>CAT</i>	: <i>catalase</i>
<i>COX-2</i>	: <i>cyclooxygenase-2</i>
<i>Cu</i>	: <i>copper</i>
<i>SYR61</i>	: <i>cystein rich 61</i>
<i>DNA</i>	: <i>deoxyribonucleic acid</i>
<i>DMEM</i>	: <i>Dulbecco's modified Eagle's medium</i>
<i>ECM</i>	: <i>extracelullar matrix</i>
<i>EC</i>	: <i>epicatechin</i>
<i>ECG</i>	: <i>epicatechin gallate</i>
<i>EGC</i>	: <i>epigallocatechin</i>
<i>EGCG</i>	: <i>epigallocatechin-3- gallate</i>
<i>EGCG-SR</i>	: <i>epigallocatechin-3- gallate-cystein conjugate</i>
<i>EGF</i>	: <i>epidermal growth factor</i>
<i>ERK</i>	: <i>extracelullar signal-regulated kinase</i>
<i>F₂-IsoPs</i>	: <i>F₂-Isoprostane</i>
<i>FDA</i>	: <i>Food and Drug Administration</i>
<i>Fe</i>	: <i>ferrum (iron)</i>
<i>GF</i>	: <i>growth factor</i>
<i>GPx</i>	: <i>gluthation peroxidase</i>
<i>GR</i>	: <i>gluthation reductase</i>
<i>GRAS</i>	: <i>generale recognize as safe</i>
<i>GRN</i>	: <i>GRAS number</i>
<i>GTP</i>	: <i>green tea polyphenol</i>
<i>H₂O₂</i>	: <i>hydrogen peroxide</i>
<i>HAT</i>	: <i>hydrogen atom transfer</i>
<i>H/E</i>	: <i>hematoxyllin-eosin</i>
<i>HETE</i>	: <i>hydroxyeicosatetraenoic acid</i>
<i>HPLC</i>	: <i>high performance liquid chromatography</i>
<i>HTS</i>	: <i>high throughput screening</i>
<i>IHC</i>	: <i>immunohistochemistry</i>
<i>IκB</i>	: <i>inhibitory kappa B</i>
<i>IKK</i>	: <i>inhibitory kappa B kinase</i>
<i>IL</i>	: <i>interleukin</i>
<i>IP</i>	: <i>ionisation potential</i>
<i>IRS</i>	: <i>Immuno Reactive Score</i>
<i>JAK-STAT</i>	: <i>JAK-signal transduction and activation of transcription</i>
<i>JNK</i>	: <i>cJun terminal kinase</i>
<i>KEAP1</i>	: <i>Kelch-like ECH Associating Protein 1</i>
<i>LOX</i>	: <i>lipooxygenase</i>
<i>LPD</i>	: <i>Lembar Pengumpul Data</i>
<i>LTA₄</i>	: <i>leukotrien A₄</i>
<i>LTB₄</i>	: <i>leukotrien B₄</i>
<i>LTC₄</i>	: <i>leukotrien C₄</i>

<i>NF-κB</i>	: nuclear factor kappa-B
<i>NMF</i>	: natural moisturising factor
<i>NOS</i>	: nitric oxide synthase
<i>Nrf2</i>	: nuclear factor erythroid 2-related factor
<i>MAPK</i>	: mitogen activated protein kinase
<i>MED</i>	: minimal erythema dose
<i>MMP</i>	: matrix metalloproteinase
<i>MnSOD</i>	: mangan superoxide
<i>MRP</i>	: multidrug resistance-associated protein
O_2	: oksigen
O_2^-	: anion superoxide
O_2^{2-}	: peroxide
$-OH$: radikal hydroxil
<i>o/w emulsion</i>	: oil in water emulsion
<i>P38-MAPK</i>	: p38-mitogen activated protein kinase
<i>PDB</i>	: Protein Data Bank
<i>PDGF</i>	: platelet derived growth factor
<i>PG</i>	: prostaglandin
<i>PGD2</i>	: prostaglandin D2
<i>PGE2</i>	: prostaglandin E2
<i>PGF2</i>	: prostaglandin F2
<i>PGG2</i>	: prostaglandin G2
<i>PGI2</i>	: prostaglandin I2
<i>P-gp</i>	: P-glycoprotein
<i>PhOH</i>	: phenolic antioxidant
<i>PLA</i>	: phospholipase A
<i>PUFA</i>	: polyunsaturated fatty acid
<i>RNA</i>	: ribonucleic acid
<i>RNS</i>	: reactive nitrogen species
<i>ROS</i>	: reactive oxygen species
<i>SET</i>	: single electrone transfer
<i>sMaf</i>	: Musculoaponeurotic fibrosarcoma
<i>SOD</i>	: superoxide dismutase
<i>STAT</i>	: signal transduction and activation of transcription
<i>TβRI</i>	: TGFβ receptor type I
<i>TβRII</i>	: TGFβ receptor type II
<i>TEWL</i>	: transepidermal water loss
<i>TGFβ-2</i>	: transforming growth factor β-2
<i>TIMP</i>	: tissue inhibitory MMP
<i>TNF-α</i>	: tumor necrosis factor-α
<i>TR</i>	: thioredoxin reductase
<i>US FDA</i>	: United States Food and Drug Administration
<i>UV</i>	: ultraviolet
<i>VCO</i>	: virgin coconut oil
<i>VEGF</i>	: vascular epidermal growth factor
<i>W/o emulsion</i>	: water in oil emulsion
<i>Zn</i>	: zinc