

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penuaan kulit adalah penurunan fungsi dan kapasitas kulit secara progresif. Kulit merupakan organ luar yang mudah dievaluasi terkait perubahannya. Penuaan kulit meningkat seiring dengan peningkatan usia, utamanya pada populasi lansia. Penuaan terbagi menjadi penuaan intrinsik dan penuaan ekstrinsik. Penuaan ekstrinsik merupakan perubahan kulit yang disebabkan oleh faktor eksternal dan faktor yang dapat dicegah. Faktor yang berkontribusi secara signifikan adalah paparan sinar matahari (radiasi UV), polusi, merokok, diet yang jelek, *repetitive facial expression*, dan kebiasaan tidur yang buruk (Farage *et al.*, 2008; Tsatsou *et al.*, 2012a; Seleit *et al.*, 2016; Zhang and Duan, 2018a; Lupu *et al.*, 2022). Studi epidemiologi melaporkan penuaan kulit dialami pada populasi dewasa kelompok usia 18-87 tahun dengan 30% diantaranya mengalami penuaan kulit derajat sedang dan 70% lainnya mengalami penuaan kulit derajat berat. Studi di Indonesia, melaporkan penuaan kulit ditemui pada 45,5% kasus di usia 45-60 tahun dengan proporsi lebih rendah pada usia muda. Prevalensi keriput ditemui pada 33% dewasa muda, 87,8% dewasa, dan 100% pada populasi lansia (Wang, Fang and Zhu, 2009; Nanzadsuren *et al.*, 2022; Wikassa *et al.*, 2022). Secara spesifik, prevalensi penuaan ekstrinsik berkontribusi terhadap 80% *skin photoaging*. Studi di Indonesia melaporkan paparan sinar matahari dan polusi menyebabkan 21,7% *photoaging* (Wang, Fang and Zhu, 2009; Tsatsou *et al.*, 2012b; Zhang and Duan, 2018b; Nanzadsuren *et al.*, 2022; Wikassa *et al.*, 2022).

Penuaan kulit ditandai dengan penurunan ketebalan kulit sebesar 6,4% per tahun yang berkorelasi dengan perubahan struktur epidermis. Perubahan pada epidermis usia lanjut ditemui penurunan jumlah dan ukuran sel epidermis, keratinosit, ukuran lapisan basal, penurunan *epidermal turnover*, sel keratinosit menjadi lebih pendek dan besar, korneosit membesar, melanosit aktif berkurang dari 8-20% per dekade menyebabkan pigmentasi tidak merata, jumlah sel Langerhans berkurang dan mengganggu imunitas kulit, dan sel Langerhans memiliki dendritik lebih sedikit sehingga mengurangi kemampuan menangkap antigen. Pada epidermis pasien lanjut usia ditemui produksi minyak berkurang. Studi melaporkan kandungan lipid di stratum korneum menurun sebesar 65% mengurangi “mortar” yang mengikat korneosit, diikuti dengan kandungan air di stratum korneum utamanya dibandingkan dengan kulit subjek usia muda. Pada epidermis kulit menua, didapatkan *natural moisturizing factor* (NMF) berkurang sehingga penurunan kapasitas pengikatan air kulit dan keadaan tersebut menyebabkan gangguan deskuamasi sehingga terjadi akumulasi penumpukan korneosit di permukaan kulit. Epidermis pasien lanjut usia, juga ditemui kadar seramid berkurang utamanya seramid 1 linoleat dan seramid 3, penurunan kemampuan stratum korneum beregenerasi 2 kali lebih lambat, penurunan fungsi sawar kulit, penurunan *trans epidermal water loss* (TEWL), dan pendataran *junction dermo-epidermal*. Gangguan *junction dermo-epidermal* menyebabkan gangguan komunikasi antara dermis dan epidermis sehingga mengurangi pasokan nutrisi dan oksigen dermis (Mukherjee *et al.*, 2006; Watson *et al.*, 2009; Farage *et al.*, 2013; Damayanti, 2017; Sadick *et al.*, 2018; Milosheska and Roškar, 2022; Wijayadi and Wardoyo, 2022).

*Photoaging* juga ditandai dengan stimulasi melanogenesis sebagai respons fotoprotektif. Peningkatan melanogenesis bermanifestasi terhadap bintik-bintik hiperpigmentasi, lentigo, dan warna kulit yang tidak merata. Studi histopatologis mengkonfirmasi peningkatan deposisi dan perubahan distribusi melanin pada kulit yang terpapar UV kronis dibandingkan dengan area yang terlindungi, menandakan pertahanan adaptif kulit terhadap kerusakan oksidatif dan cedera DNA. Namun, peningkatan melanin ini sering kali disertai dengan distribusi pigmen yang tidak teratur, yang menyebabkan tanda-tanda klinis penuaan dini seperti lentigo solar dan pigmentasi berbintik. Hiperpigmentasi pada kasus *photoaging* bukan merupakan hal yang diinginkan sebab menghasilkan warna kulit yang tidak merata dan bercak-bercak gelap, yang dianggap sebagai tanda penuaan dini dan dapat berdampak negatif pada kepercayaan diri dan kecantikan. Banyak orang mencari perawatan kosmetik (seperti laser, pengelupasan kimia, atau agen depigmentasi topikal) khusus untuk mengatasi ketidakrataan pigmentasi ini dan mengembalikan warna kulit yang lebih merata. Demikian, meskipun melanin bertindak sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerusakan DNA akibat sinar UV, hiperpigmentasi yang diakibatkannya terkait dengan penuaan dini secara luas dianggap sebagai masalah estetika, yang mendorong permintaan akan perawatan kulit dan intervensi dermatologis yang berfokus pada koreksi pigmentasi dan anti-penuaan (Castanet, 1997; Pandel *et al.*, 2013a; Kim *et al.*, 2020; Griffiths, Watson and Langton, 2023; De Los Santos Gomez *et al.*, 2024; Brar *et al.*, 2025).

Manajemen peremajaan kulit mengalami perkembangan pesat, utamanya semenjak 2 dekade terakhir. Perkembangan manajemen *skin rejuvenation* meliputi 1) Perawatan kosmetik; 2) Penggunaan agen topikal, antioksidan dan *cell regulators*; 3) Prosedur invasif, *chemical peelings*, *visible light devices*, *intense pulsed light* (IPL), *ablative and nonablative laser photo-rejuvenation*,

radiofrekuensi, injeksi biostimulasi dan *rejuvenation*, perbaikan dan restorasi lemak, *volume loss*, *skin augmentation*, dan *contouring*; 4) Agen sistemik, terapi hormon dan antioksidan; 5) Menghindari faktor pemberat (Ganceviciene *et al.*, 2012; Rostkowska *et al.*, 2023). Dominasi agen kimiawi sebagai *skin rejuvenation* mendorong penelitian terkait bahan dasar alamiah atau herbal dengan harapan capaian peremajaan yang sebanding dengan agen kimiawi namun memiliki efek samping yang lebih minimal.

Daun mimba (*Neem / Azadirachta indica*) merupakan salah satu tanaman dengan potensi antimikroba, anti-diabetes, anti-inflamasi, anti-oksidan, anti-*aging*, dan berbagai potensi terapi lainnya. Daun mimba sebagai anti-*aging* bekerja melalui mekanisme mitigasi stres oksidatif, modulasi jaras inflamasi, dan meningkatkan usia sel sebab kandungan metabolit sekunder yang dimiliki termasuk alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid, terpenoid, glukosida, fenolik, dan metabolit sekunder lainnya (I. Seriana *et al.*, 2021; Mohammed, Stephens and Joseph, 2022; Widiyana and Illian, 2022).

Ekstrak daun mimba meningkatkan ekspresi gen *cytosolic catalase* T (CTT1) dalam ragi, meningkatkan produksi katalase untuk mendegradasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Modulasi stres oksidatif oleh daun mimba lainnya ditunjukkan dengan penurunan spesies oksigen reaktif (ROS) intraseluler hingga 40–60% dalam sel manusia, mencegah kerusakan DNA dan protein. Daun mimba mampu memblokir translokasi nuklir heterodimer *nuclear factor kappa betha* (NF-κB) p50/p65 sehingga menekan degradasi kolagen yang dimediasi matriks metaloproteinase (MMP). Flavonoid dalam daun mimba mampu mengaktifkan gen terkait autofagi (ATG7, ATG12), mendorong pembersihan seluler. Selain itu, senyawa antioksidan di daun mimba berpotensi memperlambat pemendekan telomer dalam sel yang bereplikasi (Schumacher *et al.*, 2011; Sarkar, Singh and Bhattacharya, 2021a; Taylor *et al.*, 2022; Dang *et al.*, 2024a). Studi sebelumnya melaporkan pemberian ekstrak daun mimba mampu menurunkan kedalaman keriput sebesar 30-50% melalui sintesis kolagen pada tikus dengan *photoaging* (Ngo *et al.*, 2017a). Studi berbasis sel pada keratinosit manusia menunjukkan perbaikan elastisitas kulit sebanyak 25% post pemberian daun mimba (Sarkar, Singh and Bhattacharya, 2021a). Salah satu studi klinis membuktikan bahwa daun mimba merupakan pelembab yang baik dengan memperbaiki hidrasi stratum korneum (Rajaiah Yogesh *et al.*, 2022).

Selain itu, studi melaporkan ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica*) berpotensi mengurangi frekuensi dan distribusi melanin di kulit dengan menghambat melanogenesis. Studi *in vitro* pada kultur sel melanoma (B16F10) menunjukkan bahwa ekstrak daun mimba menurunkan kadar melanin intraseluler dan aktivitas enzim tirosinase tanpa efek sitotoksik yang bersifat *dose dependent*. Ekstrak daun mimba tampaknya menurunkan regulasi enzim melanogenik utama (seperti tirosinase dan TRP-1/2) dan protein regulator (seperti MITF), sehingga membatasi sintesis dan deposisi granula melanin di dalam sel epidermis. Secara histologis, aplikasi mimba topikal atau *in vitro* menyebabkan kepadatan yang lebih rendah dan distribusi pigmen melanin yang lebih terbatas di seluruh lapisan epidermis basal, menunjukkan efek depigmentasi yang seragam daripada hipopigmentasi fokal (Songtavisin *et al.*, 2021).

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun mimba topikal mempunyai aktivitas anti-*aging*?
2. Apakah pemberian ekstrak daun mimba topikal dapat berpengaruh pada ketebalan epidermis kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*?
3. Apakah pemberian ekstrak daun mimba topikal dapat berpengaruh pada jumlah melanin kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun mimba topikal terhadap perbaikan ketebalan epidermis dan jumlah melanin kulit pada tikus putih galur Wistar model *photoaging*

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui dosis optimal ekstrak daun mimba topikal guna perbaikan ketebalan epidermis pada tikus putih galur Wistar model

photoaging

- Mengetahui dosis optimal ekstrak daun mimba topikal guna perbaikan jumlah melanin kulit pada tikus putih galur Wistar model *photoaging*
- Menjadi acuan terhadap aktivitas anti-aging daun mimba yang berpotensi sebagai agen *skin rejuvenation* dengan parameter perbaikan ketebalan epidermis kulit dan jumlah melanin kulit

## 1.4 State of The Art

**Tabel 1.** *State of the Art* (Ngo et al., 2017a; Sarkar, Singh and Bhattacharya, 2021b; Baby et al., 2022a; Dang et al., 2024b; Diksha Sharma\*, 2024)

| No | Judul Penelitian                                                                                                                                           | Penulis           | Metode      | Objek Penelitian                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Alasan dan Perbedaan                                                                                                                                                                                                                   |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1  | <i>Therapeutic potential of Azadirachtin from Indica (Neem) And Phytoconstituent Against Disease</i>                                                       | Sharma, dkk, 2024 | Kualitatif  | Pemberian ekstrak daun mimba dalam bentuk minyak, bubuk, salep, krim, dan infus dengan dosis 200 mg/kg oral atau 0,1-5% topikal pada hewan coba (tikus, kelinci, mendiir), manusia sehat dan individu sakit, serta pada sel <i>in vitro</i> didapatkan ekstrak daun mimba memiliki aktivitas antioksidan, anti-inflamasi, imunomodulator yang memperbaiki kesehatan kulit, menghambat kerusakan akibat radikal bebas, dan efek anti-aging | Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan subjek hewan coba tikus, fokus utama pada ketebalan epidermis dan jumlah melanin di kulit tikus dengan induksi <i>photoaging</i> pre-post intervensi ekstrak daun mimba topikal |
| 2  | <i>Exploring the role of Azadirachta indica (neem) and its active compounds in the regulation of biological pathways: an update on molecular apparoach</i> | Sarkar, dkk, 2021 | Kualitatif  | Pemberian ekstrak etanolik, metanolik, minyak, dan fraksi limonoid daun mimba dosis 10-50 µg/ml pada level <i>in vitro</i> dan pada oral/topikal pada level hewan coba (tikus/mencit). Ekstrak daun mimba mampu menghambat ROS, menurunkan sitokin inflamasi, menghambat angiogenesis, menormalkan MMP, proteksi kolagen/elastin, efek anti-aging molekuler                                                                               | Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan subjek hewan coba tikus, fokus utama pada ketebalan epidermis dan jumlah melanin di kulit tikus dengan induksi <i>photoaging</i> pre-post intervensi ekstrak daun mimba topikal |
| 3  | <i>Azadirachta indica (Neem) as a Potential Natural Active for Dermocosmetic and Topical Products: A Narrative Review</i>                                  | Baby, dkk, 2022   | Kualitatif  | Pemberian ekstrak etanolik, minyak, krim, gel, dan infus daun mimba dalam dosis 0,1-5% (topikal) atau kapsul 3x/hari (oral). Krim/ekstrak topikal mengurangi keriput, meningkatkan hidrasi, menormalkan ketebalan epidermis, efek antioksidan dan anti-inflamasi, aman digunakan manusia.                                                                                                                                                 | Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif dengan subjek hewan coba tikus, fokus utama pada ketebalan epidermis dan jumlah melanin di kulit tikus dengan induksi <i>photoaging</i> pre-post intervensi ekstrak daun mimba topikal |
| 4  | <i>Topical application of neem leaves prevents wrinkles formation in UVB-exposed hairless mice</i>                                                         | Ngo, dkk, 2017    | Kuantitatif | Pemberian ekstrak etanolik daun mimba sediaan krim topikal dosis 1% dan 5% pada tikus dengan model <i>photoaging</i> akibat induksi UVB serta pada dosis 1, 10, dan 50 µg/ml di sel fibroblas manusia menunjukka hasil meningkatkan kolagen I & elastin, menurunkan MMP-1 & IL-6, mengurangi keriput, menormalkan ketebalan epidermis dan mengurangi eritema akibat penuaan kulit.                                                        | Penelitian ini dengan subjek hewan coba dengan ekstrak daun mimba sediaan topikal dan berfokus pada ketebalan epidermis dan jumlah melanin                                                                                             |

|   |                                                                                                |                 |             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                                   |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5 | <i>Neem Leaf Extract Exhibits Anti-Aging and Antioxidant Effects from Yeast to Human Cells</i> | Dang, dkk, 2024 | Kuantitatif | Pemberian ekstrak etanolik daun mimba pada sel kanker tikus dosis 10-500 µg/mL ( <i>in vitro</i> ) dan pada tikus dosis 200 mg/kg ( <i>in vivo</i> ). Ekstrak daun mimba mampu menghambat proliferasi sel rusak, mengurangi stres oksidatif, mendukung mekanisme anti-penuaan seluler dan efek protektif pada jaringan | Penelitian ini dilakukan disubjek penelitian hewan model <i>photoaging</i> dengan pemberian ekstrak daun mimba sediaan topikal dan evaluasi hasil intervensi berfokus pada ketebalan epidermis dan jumlah melanin |
|---|------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 1.5 Hipotesis

- H<sub>0</sub> : terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun mimba topikal terhadap perbaikan ketebalan epidermis dan jumlah melanin pada kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*
- H<sub>a</sub> : tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun mimba topikal terhadap perbaikan ketebalan epidermis dan jumlah melanin pada kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*

## 1.6 Manfaat Penelitian

### 1. Bagi peneliti

- Menyediakan referensi pengembangan dan kajian ilmu biomedis terkait dengan efektivitas ekstrak daun mimba topikal dalam memperbaiki ketebalan epidermis pada kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*
- Menyediakan referensi pengembangan dan kajian ilmu biomedis terkait dengan efektivitas ekstrak daun mimba topikal dalam memperbaiki jumlah melanin pada kulit tikus putih galur Wistar model *photoaging*
- Menyediakan studi sebagai pertimbangan untuk mengembangkan penelitian selanjutnya terkait dengan ekstrak daun mimba topikal sebagai agen *skin rejuvenation* dalam meningkatkan ketebalan epidermis

### 2. Bagi pembaca

- Menyediakan informasi ilmiah terkait potensi ekstrak daun mimba sebagai salah satu agen *anti-aging*
- Memberikan kontribusi pengembangan pengobatan herbal menggunakan sumber daya alam Indonesia.