

ARTIKEL PENELITIAN

GAMBARAN DEPOSISI KOLAGEN TIPE I TERHADAP USIA TIKUS GALUR
WISTAR: PENELITIAN IN VIVO

(DESCRIPTION OF TYPE I COLLAGEN DEPOSITION ON AGE OF WISTAR STRAIN
RAT: IN VIVO RESEARCH)

Frieda¹, Indah Julianto², Nugrohoaji Dharmawan², Arie Kusumawardani², Novan Adi³,
Endra Yustin Ellistasari²

¹Program Studi Kulit dan Kelamin Program Pendidikan Dokter Spesialis 1, Fakultas
Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia

²Bagian Kulit dan Kelamin Program Pendidikan Dokter Spesialis 1, Fakultas Kedokteran
Universitas Sebelas Maret Surakarta, Indonesia

³Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta,
Indonesia

Email Korespondensi: yanuarfrieda@gmail.com

ABSTRAK

Penuaan kulit merupakan akumulasi berbagai perubahan progresif yang terjadi pada sel dan jaringan kulit. Kulit manusia terdiri matriks ekstraseluler (MES) dermal dengan protein penyusunnya adalah kolagen. Selama penuaan, kolagen tipe I mengalami perubahan organisasi dan struktural, penurunan sintesis protein MES, dan terjadi peningkatan degradasi metaloproteinase mengakibatkan hilangnya kekuatan mekanik. Studi menunjukkan peran penurunan fungsi penghalang kulit terkait usia dalam penuaan pada tikus. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui deposisi kolagen tipe I berdasarkan usia pada jaringan kulit tikus Wistar. Desain penelitian merupakan observasional analitik *cross-sectional*. Penelitian menggunakan tikus Wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Tikus dikelompokkan menjadi kelompok usia 3 bulan, 6 bulan, 12 bulan, dan 18 bulan. Pengambilan jaringan kulit dengan biopsi plong dilanjutkan pembuatan preparat dengan pewarnaan *Trichome masson*. Perhitungan deposisi kolagen dilakukan pada area berwarna biru dan diinterpretasikan (%) menggunakan *software* ImageJ. Rerata persentase deposisi kolagen terbesar pada kelompok usia 3 bulan dengan nilai $57,6 \pm 0,17\%$ dan $57,5 \pm 0,43\%$ pada pembesaran 40x dan 100x. Persentase deposisi kolagen terendah terdapat pada kelompok usia 18 bulan dengan nilai $12,1 \pm 1,6\%$ dan $6,9 \pm 0,52\%$ pada pembesaran 40x dan 100x. Pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan deposisi kolagen jaringan kulit tikus Wistar seiring dengan pertambahan usia akibat proses penuaan, dengan deposisi kolagen jaringan kulit tikus Wistar kelompok usia muda lebih besar dibandingkan kelompok usia yang lebih tua.

Kata kunci: kolagen tipe I, kulit, penuaan, tikus wistar, usia

ABSTRACT

Skin aging is the accumulation of various progressive changes that occur in skin cells and tissues. Human skin consists of dermal extracellular matrix (ECM) with the constituent protein being collagen. Type I collagen undergoes organizational and structural changes, decreases ECM protein synthesis, and increases metalloproteinases resulting in decreased mechanical strength. Studies show a role for age-related decline in skin function in aging in mice. Thus, the purpose of this study was to determine the deposition of type I collagen-based on age in the skin tissue of Wistar rats. The study design was cross-sectional analytic observational. The study used Wistar rats that had met the inclusion and exclusion criteria. Rats were divided into 3, 6, 12, and 18 months age groups. Taking the skin with a Piong biopsy followed by Trichome Masson staining. Calculation of collagen deposition was carried out in the blue area and interpreted (%) using ImageJ software. The highest percentage of collagen deposition was in the 3 months age group with values of $57.6 \pm 0,17\%$ and $57.5 \pm 0,43\%$ at 40x and 100x, respectively. The lowest percentage of collagen deposition was in the 18 months age group with values of $12.1 \pm 1,6\%$ and $6.9 \pm 0,52\%$ at 40x and 100x, respectively. Accordingly, the decrease in collagen deposition in rat skin tissue with age due to the aging process, with collagen deposition in rat skin tissue in the younger age group greater than in the older age group.

Keywords: age, aging, skin, type I collagen, wistar rat

PENDAHULUAN

Proses penuaan pada kulit merupakan akumulasi dari berbagai perubahan progresif yang terjadi pada sel dan jaringan kulit. Proses penuaan yang kompleks dipengaruhi oleh faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik.¹ Penuaan intrinsik didefinisikan sebagai perubahan yang terletak di dalam sel induk dan keturunannya, termasuk ekspresi mikro RNA (miRNA), panjang telomer, ekspresi protein apoptosis, regulator siklus sel, sekretom seluler, reseptor transmembran, dan ekspresi gen.¹⁻³ Penuaan intrinsik dipengaruhi oleh usia, faktor genetik, hormonal, serta radikal bebas. Sedangkan penuaan ekstrinsik dipengaruhi oleh gaya hidup dan faktor lingkungan, terutama radiasi sinar ultraviolet (UV).^{1,4}

Kulit manusia terdiri atas matriks ekstraseluler (MES) dermal dengan salah satu protein penyusunnya adalah kolagen yang diproduksi oleh sel mesenkim fibroblas.⁵ Kolagen berperan memberikan dasar pembentukan matriks pada fase proliferasi dan *remodeling*.⁶ Secara keseluruhan, terdapat 28 macam kolagen yang diekspresikan oleh tubuh, akan tetapi kolagen utama yang berkontribusi dalam histologi dan fisiologi kulit adalah kolagen tipe I dan kolagen tipe III.^{4,5,7} Kolagen tipe I merupakan bagian utama matriks ekstraseluler fibril (kolagen serat) dengan jumlah terbanyak sehingga berperan dalam memberikan integritas struktural dan ketahanan mekanis kulit.⁸ Komposisi fibril kolagen tipe I pada kulit muda mencapai

85-90% dengan struktur heliks rangkap tiga rantai panjang.^{4,5,9} Selama penuaan, kolagen tipe I mengalami perubahan organisasi dan struktural, penurunan sintesis protein MES, dan terjadi peningkatan degradasi metaloproteinase yang memicu fragmentasi fibril kolagen sehingga mengakibatkan hilangnya kekuatan mekanik secara menyeluruh.⁷ Berbeda dengan kulit muda, yang memiliki fibril kolagen utuh, melimpah, padat, serta terorganisir dengan baik, penurunan kolagen pada kulit tua mengakibatkan kulit mengalami kerutan (*wrinkle*) dan hilangnya elastisitas.¹⁰ Keadaan ini mengakibatkan berbagai produk *anti-aging* berfokus pada proses inhibisi mekanisme tersebut.¹¹

Studi terkini menunjukkan bukti yang mendukung peran penurunan fungsi penghalang kulit terkait usia dalam penuaan sistemik pada tikus.¹² Tikus Wistar merupakan model sistem mamalia yang unggul dan telah diakui.^{9,13,14} Dengan karakteristik tikus Wistar berupa kepala lebar, telinga panjang, dan ukuran ekor yang lebih pendek dari panjang tubuhnya, serta diketahui lebih aktif. Perbedaan usia merupakan faktor penting pada tikus yang menandakan variasinya dalam anatomi, fisiologi, dan proses perkembangannya yang harus dipertimbangkan saat menganalisis hasil atau memilih dosis penelitian pada tikus.^{14,15} Demikian, tujuan

pada penelitian ini untuk mengetahui deposisi kolagen tipe I berdasarkan usia pada tikus Wistar.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian observasional analitik *cross-sectional* dengan membandingkan deposisi kolagen tipe I pada kulit tikus galur Wistar berdasarkan usia. Penelitian dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, Laboratorium Klinik Bioteknologi Dermama Surakarta, dan Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Sebelas Maret Surakarta selama bulan Desember 2021-Januari 2022.

Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* dengan menggunakan subjek penelitian berupa tikus galur Wistar. Dengan penetapan kriteria inklusi berupa tikus Wistar jantan usia 3 bulan, 6 bulan, 12 bulan, dan 18 bulan. Sedangkan kriteria eksklusi penelitian ini berupa tikus dengan kecacatan, umur tidak sesuai, dan tikus yang sakit selama pengambilan data. Tikus Wistar yang telah memenuhi kriteria ditempatkan dalam kondisi dan situasi yang sama dan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok usia 3 bulan, kelompok usia 6 bulan, kelompok usia 12 bulan, dan kelompok usia 18 bulan.

Pengambilan jaringan kulit perut tikus Wistar menggunakan biopsi plong 10 mm hingga kedalaman subkutan. Jaringan

ditempatkan di tabung kontainer biopsi yang berisi larutan formalin 10%. Pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarnaan *Trichrome masson* dengan interpretasi spesifik serabut kolagen berupa warna biru. Tahapan pembuatan preparat histopatologi kulit dengan pewarnaan *Trichrome masson* sebagai berikut: 1) Fiksasi, dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan *buffer* formalin selama 18-24 jam kemudian jaringan dimasukkan ke dalam akuades selama 1 jam guna menghilangkan larutan fiksasi; 2) Dehidrasi, yaitu jaringan dimasukkan ke dalam alkohol konsentrasi bertingkat. Jaringan yang telah didehidrasi akan menjadi lebih jernih dan transparan kemudian jaringan dimasukkan ke dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam dilanjutkan ke dalam larutan xylol murni selama 2x2 jam; 3) Impregnasi, yaitu pemotongan jaringan lalu dimasukkan ke dalam parafin cair selama 2x24 jam, setelah itu masuk dalam tahap pengeringan. Preparat yang telah disimpan dalam bentuk blok parafin akan bertahan hingga 5 tahun dengan penyimpanan yang benar pada tempat kering atau lemari es; 4) Deparafinisasi, yaitu dengan memanaskan preparat pada oven selama 10 menit; 5) Pewarnaan *Trichrome masson* dengan cara jaringan diberi larutan *neutral red* 0,5% selama 5 menit kemudian dicuci dengan air mengalir selama 5 menit dan dibilas

akuades selanjutnya diteteskan larutan *acid fuchsin* selama 5 menit dan dibilas akuades selama 5 menit, kemudian jaringan diberi larutan *phosphomolybdic acid* selama 5 menit dengan kelebihan larutan dapat dibuang. Pada tahap selanjutnya, jaringan diberi larutan *methyl blue* selama 2-5 menit dan dicuci menggunakan akuades selama 5 menit. Larutan terakhir yang diberikan pada jaringan adalah asam asetik 1% selama 2 menit dilanjutkan dengan dehidrasi alkohol. Tahap akhir adalah *clearing* dan *mounting* menggunakan kanada balsam.

Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop pembesaran 40x dan 100x pada 5 lapang pandang. Perhitungan deposisi kolagen dilakukan pada area berwarna biru yang secara spesifik merupakan kolagen melalui pewarnaan *Trichrome masson*. Interpretasi hasil pengamatan kolagen dilakukan oleh ahli patologi anatomi dengan pembacaan berulang. Data rerata kuantitatif kepadatan kolagen didapatkan dengan mengolah gambar menggunakan *software imageJ* untuk mengetahui kepadatan kolagen yang diinterpretasikan dengan persen (%) area berwarna biru pada pengamatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

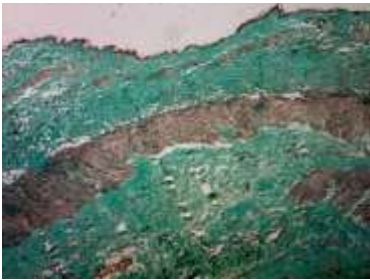
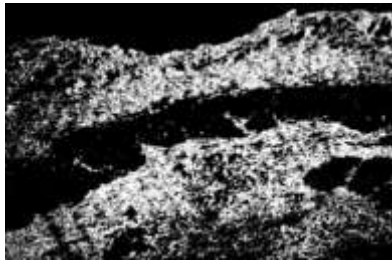
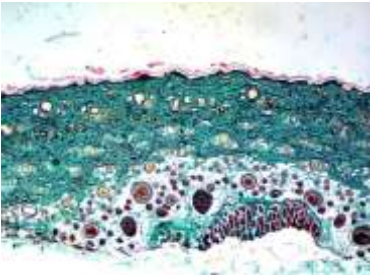
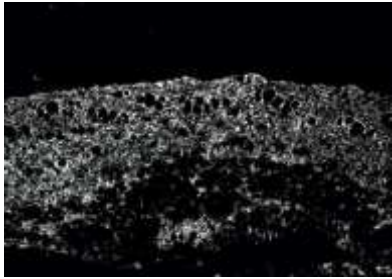
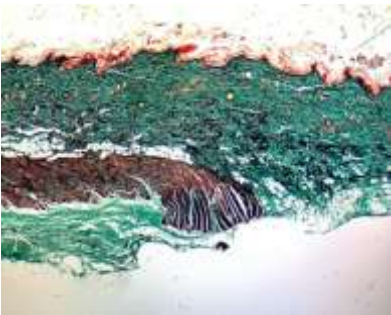
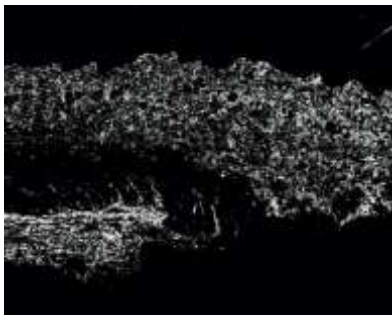
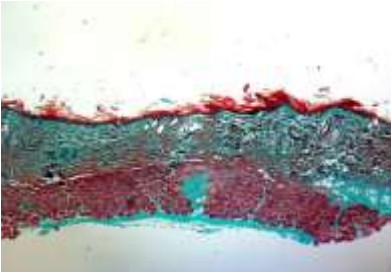
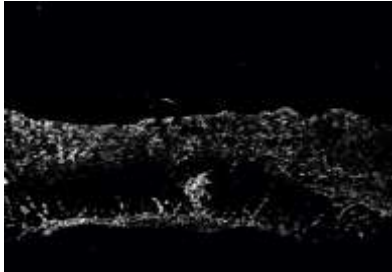
Pengamatan preparat deposisi kolagen pewarnaan *Trichrome masson*

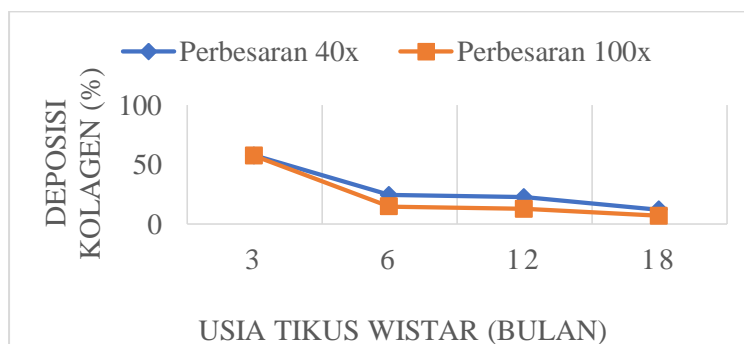
dilakukan pada pembesaran 40x dan 100x pada 5 lapang pandang menggunakan alat bantu optilab. Deposisi kolagen diinterpretasikan dengan warna biru dan dilakukan perhitungan kuantitatif (%) menggunakan *software* imageJ oleh ahli patologi anatomi dengan pembacaan berulang. Hasil pengamatan ditampilkan pada tabel 1.

Pada tabel 1 menunjukkan gambaran histopatologi jaringan kulit tikus pewarnaan *Trichrome masson* yang diambil melalui optilab pada pembesaran 40x. Preparat kelompok usia muda, yaitu usia 3 bulan dan usia 6 bulan menunjukkan warna biru (kolagen) yang lebih luas dibandingkan pada kelompok usia yang lebih tua yaitu 18 bulan. Preparat kelompok usia 18 bulan menunjukkan distribusi warna biru (kolagen) yang lebih sempit dibandingkan kelompok lainnya. Rerata persentase kuantitatif deposisi kolagen menggunakan *software* ImageJ ditampilkan pada gambar 1. Hasil deposisi kolagen pada pembesaran 40x menunjukkan rerata persentase deposisi

kolagen pada kelompok usia 3 bulan, 6 bulan, 12 bulan, dan 18 bulan sebesar $57,6 \pm 0,17$; $24,5 \pm 0,86$; $22,7 \pm 1,47$; dan $12,1 \pm 1,6$ secara berurutan. Di satu sisi, pada pembesaran 100x didapatkan deposisi kolagen pada kelompok usia 3 bulan sebesar $57,5 \pm 0,43\%$, pada kelompok usia 6 bulan sebesar $14,9 \pm 0,95\%$, pada kelompok usia 12 bulan sebesar $12,8 \pm 0,34\%$, dan pada kelompok usia 18 bulan sebesar $6,9 \pm 0,52\%$. Persentase deposisi kolagen baik pada pembesaran 40x maupun 100x menunjukkan persentase terbesar pada kelompok usia 3 bulan dengan nilai $57,6 \pm 0,17\%$ pada pembesaran 40x dan $57,5 \pm 0,43\%$ pada pembesaran 100x. Kemudian, persentase deposisi kolagen terendah terdapat pada kelompok usia 18 bulan dengan deposisi kolagen sebesar $12,1 \pm 1,6\%$ pada pembesaran 40x dan $6,9 \pm 0,52\%$ pada pembesaran 100x. Hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan persentase deposisi kolagen jaringan kulit tikus Wistar seiring dengan peningkatan usia dengan rentang usia tikus Wistar pada penelitian adalah 3-18 bulan.

Tabel 1 Gambaran deposisi kolagen pada jaringan kulit tikus wistar pembesaran 40x dengan *trichrome sasson staining* dan pengamatan melalui *ImageJ*

Kelompok	<i>Trichrome masson</i>	<i>ImageJ</i>
Usia 3 Bulan		
Usia 6 Bulan		
Usia 12 Bulan		
Usia 18 Bulan		



Gambar 1 Rerata deposisi kolagen.

Penelitian ini menggunakan sampel berupa jaringan kulit tikus Wistar dengan usia 3 bulan, 6 bulan, 12 bulan, dan 18 bulan. Hasil dari penelitian menunjukkan adanya penurunan persentase deposisi kolagen kulit secara progresif seiring dengan peningkatan usia tikus Wistar, dengan deposisi kolagen jaringan kulit tikus Wistar tertinggi didapatkan pada kelompok usia 3 bulan dan terendah pada kelompok usia 18 bulan. Oleh sebab itu, dapat diinterpretasikan bahwa terdapat adanya pengaruh usia terhadap deposisi kolagen kulit. Proses yang mendasari penurunan kolagen kulit seiring peningkatan usia pada penelitian ini adalah proses penuaan atau *ageing*. Secara general, penuaan didefinisikan sebagai dampak dari akumulasi berbagai kerusakan molekuler dan seluler seiring bertambahnya usia diikuti dengan penurunan bertahap terhadap kapasitas fisik serta mental, peningkatan risiko penyakit, dan diakhiri dengan kematian.¹⁶ Penuaan pada jaringan kulit secara spesifik didefinisikan sebagai perubahan pada kulit yang dapat dikategorikan sebagai perubahan histologis, morfologis, dan fisiologis yang terjadi karena proses degeneratif.¹⁷ Kulit yang mengalami penuaan akan kehilangan karakteristik struktural dan fungsionalnya, penuaan pada kulit dapat dikategorikan menjadi

penuaan intrinsik dan penuaan ekstrinsik.⁴

Penuaan ekstrinsik diakibatkan oleh faktor oksidatif lingkungan, seperti ultraviolet (UV) matahari, gaya hidup, asap rokok, dan faktor polusi lainnya.⁴ Studi terkini menunjukkan etiologi terbanyak penuaan ekstrinsik adalah akumulasi dan paparan sinar matahari yang tidak terlindungi atau *photoaging*.^{1,18} Degenerasi kulit oleh radiasi UV adalah proses kumulatif dengan laju degenerasinya tergantung pada frekuensi, durasi, dan intensitas paparan sinar matahari serta perlindungan alami oleh pigmentasi kulit. Penuaan kulit ekstrinsik ditandai dengan kerutan yang dalam, hilangnya elastisitas, kekeringan, kekasaran atau bertekstur, teleangiektasis, dan gangguan pigmentasi. Penampilan kulit yang menua secara ekstrinsik cukup berbeda dari kulit yang mengalami penuaan intrinsik.^{4,18}

Penuaan intrinsik dipengaruhi oleh usia, faktor genetik, hormonal, serta radikal bebas.¹ Penuaan kulit secara intrinsik terjadi sangat lambat dan bervariasi antar individu dalam populasi dari etnis yang sama maupun berbeda.^{1,19} Pada dasarnya penuaan kulit intrinsik hanya mampu terlihat pada usia yang cukup tua, ditandai dengan kulit yang lebih tipis, kering, kurang elastis, dan keriput halus.^{1,18} Penuaan intrinsik terjadi di dalam

jaringan melalui pengurangan sel mast dermal, fibroblas, produksi kolagen, serta hilangnya *rete ridges*.. Kerusakan oksidatif bertahap untuk basa DNA dalam kode gen kolagen dan elastin menyebabkan berkurangnya ekspresi kolagen pada kulit yang menua.¹

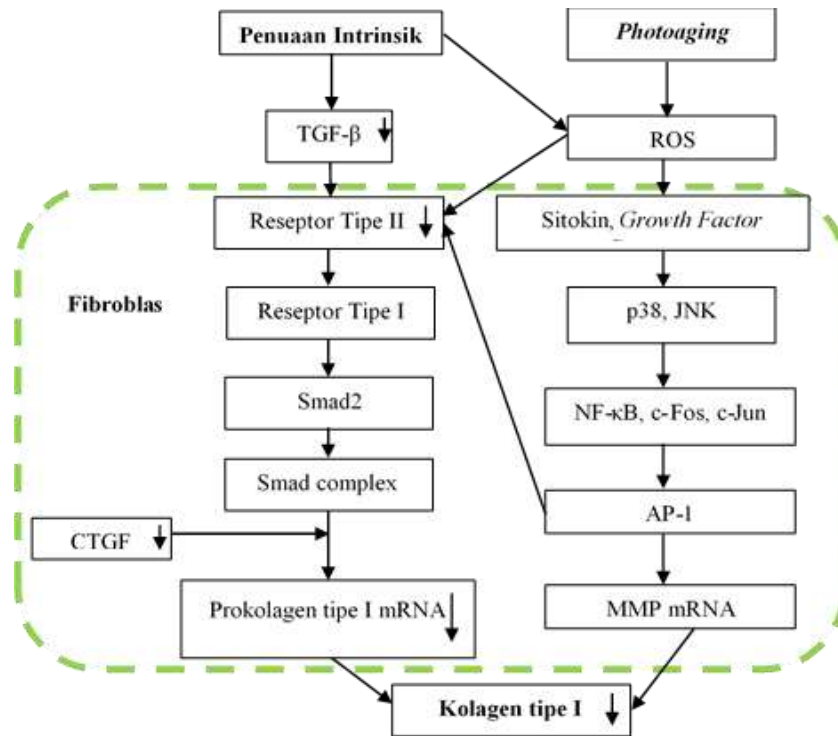
Secara umum, baik penuaan intrinsik maupun ekstrinsik hanya memiliki perbedaan pada etiologi, namun keduanya mengakibatkan reaksi biokimiawi yang serupa terhadap jaringan dermis pada struktur dan organisasi MES, yang mana penyusun utama MES adalah elastin dan serabut kolagen.²⁰ Dalam proses sintesisnya, kolagen memiliki 2 regulator utama yaitu sitokin *transforming growth factor* (TGF- β) dan faktor transkripsi *activator protein* (AP-1). TGF- β dan AP-1 akan bekerja secara kontradiktif, yang mana TGF- β akan memicu produksi kolagen sedangkan AP-1 akan memicu inhibisi sintesis kolagen dan penghancuran kolagen. Penurunan TGF- β dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan kontributor dominan pada penuaan intrinsik, sedangkan paparan sinar UV/*photoaging* merupakan kontributor utama penuaan ekstrinsik.^{20,21} Di dalam sel mesenkim fibroblas, TGF- β akan berikatan dengan reseptornya sehingga mengakibatkan fosforilasi dari Smad2, Smad2 akan membentuk kompleks Smad dengan Smad4. Selanjutnya, kompleks

Smad mengalami translokasi ke nukleus guna aktivasi protein transkripsi, termasuk *Collagen Type I Alpha 2 Chains Gene* (COL1A2) yang merupakan gen pengode prokolagen tipe 1.²²⁻²⁴ TGF- β juga menginduksi protein perantara, yaitu *connective tissue growth factor* (CTGF) yang berperan dalam menstimulasi prokolagen tipe I.^{20,22,23} Jaras tersebut merupakan proses fisiologis sintesis kolagen, sedangkan pada proses penuaan yang dipicu oleh penurunan TGF- β akan mengakibatkan jaras yang berlawanan yaitu penurunan kadar prokolagen tipe I diikuti dengan penurunan deposisi kolagen tipe I.²⁰

Di satu sisi, penuaan intrinsik juga mengakibatkan metabolisme oksidatif yang memicu pembentukan ROS, pembentukan ROS juga dipicu oleh *photoaging* dari penuaan ekstrinsik yang menyebabkan terjadinya akumulasi ROS berlebih. Akumulasi ROS akan merangsang sitokin dan *growth factor receptor* (GFR) sehingga mengaktifkan jalur p38 dan JNK untuk memproduksi *Nuclear Factor-kappa Beta* (NF- κ B), c-Fos, dan c-Jun.^{20,24} Protein c-Fos dan c-Jun merupakan proto-onkogen yang meregulasi aktivasi AP-1.²⁴ Aktivasi dari AP-1 mampu menginduksi *matrix metalloproteinase* (MMP) mRNA yang berperan dalam degradasi kolagen sehingga mengakibatkan penurunan

deposisi kolagen tipe I.²⁰ Lalu, aktivasi NF-κB akan menginduksi *cytokine-dependent attraction of neutrophils* yang mengandung kolagenase neutrofil yang terlibat dalam degradasi kolagen.²⁵ Proses

penuaan intrinsik dan ekstrinsik yang menyebabkan penurunan deposisi kolagen tipe I digambarkan melalui gambar 2.



Gambar 2 Proses Penurunan deposisi kolagen tipe I pada proses penuaan.²⁰

Penelitian sebelumnya terkait produksi kolagen secara kronologis berdasarkan usia menunjukkan penurunan kolagen sebesar 68% pada kulit tua dibandingkan pada kulit muda. Penurunan kolagen pada kulit tua terjadi akibat penurunan sintesis mRNA kolagen tipe I hingga 3 kali lipat lebih rendah dibandingkan pada kulit muda.²⁶ Penelitian tersebut memiliki hasil serupa dengan penelitian ini, yang mana pada penelitian ini menunjukkan penurunan deposisi

kolagen hingga 88% pada pembesaran 100x pada kelompok usia 3 bulan dibandingkan kelompok usia 18 bulan. Hasil penelitian lain menunjukkan penurunan tingkat ekspresi gen TGF-β, CTGF, dan prokolagen tipe I sebesar 30%; 50%; dan 25% secara berurutan pada dermis tua dibandingkan dermis muda. Penurunan tersebut mengakibatkan penurunan kolagen pada kulit tua, hal ini dapat menjelaskan bahwa regulasi protein persinyalan sintesis kolagen utama

dimediasi oleh TGF- β .^{25,27} Penelitian lain juga menunjukkan penurunan kolagen sekitar 25% selama 4 dekade, dengan persentase kolagen usia 25-34 tahun sebesar $73,28 \pm 14.3$ sedangkan pada usia 65-74 turun menjadi $55,3 \pm 13,1$. Literatur juga menyatakan bahwa seiring bertambahnya usia, sintesis kolagen secara alami mengalami penurunan sekitar 1-1,5% pertahun.⁵ Penurunan kolagen akibat penuaan kulit, selain berdampak pada wajah, juga berdampak pada bagian kulit tubuh secara keseluruhan, seperti keratosis seboroik, solaris lentigo, pruritus senilis, dan actinic keratosis.²⁰

Demikian, secara teoritis dan dengan membandingkan penelitian ini dengan hasil penelitian sebelumnya yang serupa, didapatkan bahwa hasil penelitian ini memiliki hasil yang sesuai. Pada penelitian ini menyatakan bahwa terdapat adanya penurunan deposisi kolagen tipe I seiring dengan bertambahnya usia pada jaringan kulit tikus Wistar akibat proses penuaan. Keterbatasan pada penelitian ini berupa masih sedikit variasi kelompok usia tikus yang digunakan. Diharapkan untuk penelitian selanjutnya dilakukan observasi gambaran deposisi kolagen tipe I terhadap usia pada kelompok usia hewan coba yang lebih beragam dan dilakukan penelitian lanjutan dengan pemberian perlakuan pada hewan coba untuk menghambat proses degradasi kolagen tipe I.

KESIMPULAN

Penelitian menunjukkan persentase deposisi kolagen kulit kelompok muda lebih tinggi dibandingkan persentase deposisi kolagen kulit kelompok tua. Penurunan deposisi kolagen seiring dengan pertambahan usia dipengaruhi oleh proses penuaan.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak terdapat konflik kepentingan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tidak ada

DAFTAR PUSTAKA

1. Rani S, Ritter T. The Exosome - A Naturally Secreted Nanoparticle and its Application to Wound Healing. *Adv Mater*. 2015;28(27):1-11.
2. Poljšak B, Dahmane RG, Godic A. Intrinsic Skin Aging: The Role of Oxidative Stress. *Acta Dermatovenerol APA*. 2012;2(2):33-6.
3. Lynch K, Pei M. Age Associated Communication Between Cells and Matrix: a Potential Impact on Stem Cell-Based Tissue Regeneration Strategies. *Organogenesis*. 2014;10(3):289-98.
4. Wong R, Geyer S, Weninger W, Guimberteau J, Wong JK. The Dynamic Anatomy and Patterning of Skin. *Exp Dermatol*. 2016;25(2):92-8.

5. Reilly DM, Lozano J. Skin Collagen Through the Lifestages : Importance for Skin Health and Beauty. *Plast Aesthetic Res.* 2021;8(2).
6. Stamov DR, Pompe T. Structure and Function of ECM-Inspired Composite Collagen Type I Scaffolds. *Soft Matter.* 2012;8(40):10200–12.
7. Cole MA, Quan T, Voorhees JJ, Fisher GJ. Extracellular Matrix Regulation of Fibroblast Function : Redefining Our Perspective on Skin Aging. *J Cell Commun Signal.* 2018;12(1):35–43.
8. Kruglikov IL, Scherer PE. Skin Aging as a Mechanical Phenomenon : The Main Weak Links. *Nutr Heal Aging.* 2018;4(4):291–307.
9. Al-hajj NQM, Sharif HR, Aboshora W, Wang H. In Vitro and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *In Vitro* and in Vivo Evaluation of Antidiabetic Activity of Leaf Essential Oil of *Pulicaria inuloides* -Asteraceae. *J Food Nutr Res.* 2016;4(7):461–70.
10. Shin J, Kwon S, Choi J, Na J, Huh C. Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches. *Int J Mol Sci.* 2019;20(9).
11. Zhang S, Duan E. Fighting Against Skin Aging : The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplant.* 2018;27(5):729–38.
12. Hu L, Wang J, Zhou X, Xiong Z, Zhao J, Yu R, et al. Exosomes Derived from Human Adipose Mensenchymal Stem Cells Accelerates Cutaneous Wound Healing Via Optimizing the Characteristics of Fibroblasts. *Sci Rep.* 2016;6(March):1–11.
13. Boulenguez P, Jaadane I, Martinsons C, Carré S, Chahory S, Torriglia A. Photobiology – Presentation of a Blue Light Hazard In Vivo Experiment on the Rat. *Light Eng.* 2020;23(4):41–6.
14. Sengupta P. The Laboratory Rat : Relating Its Age with Human's. *Int J Prev Med.* 2013;4(6):624–30.
15. Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K. The Laboratory Rat: Age and Body Weight Matter. *EXCLI J.* 2021;20:1431–45.
16. Abyad A. From Active Ageing to Health Ageing. *QJM An Int J Med.* 2018;111(Suppl_1):2018.
17. Yi Q, Wong A, Chew FT. Defining Skin Aging and Its Risk Factors : a Systematic Review and Meta-analysis. *Sci Rep.* 2021;11:1–13.
18. Tobin DJ. Introduction to Skin Aging. *J Tissue Viability.* 2017;26(1):37–46.
19. Mohammed SA, Abd NF, Salam E, Kalleney NK, Bahaa N. Effect of Adipose-Derived Stem Cells on Induced Photoaging in the Skin of Adult Guinea Pig: Histological and Immunohistochemical Study. *Egypt J Histol.* 2017;40(2):184–200.

20. Zahruddin A, Damayanti D. Penuaan Kuli : Patofisiologi dan Manifestasi Klinis. *Period Dermatology Venereol.* 2018;30(3):208–15.
21. Pandel RD, Poljšak B, Godic A, Dahmane R. Skin Photoaging and the Role of Antioxidants in Its Prevention. *ISRN Dermatol.* 2013;2013:1–11.
22. Zhu Y, Tao H, Jin C, Liu Y, Lu X, Hu X, et al. Transforming Growth Factor Beta 1 Induces Type II Collagen and Aggrecan Expression Via Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 and Smad2/3 Signaling Pathways. *Mol Med Rep.* 2015;12(4):5573–9.
23. Lin P, Chang H, Yeh C. Transforming Growth Factor Beta 1 Increases Collagen Content, and Stimulates Procollagen I and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Production of Dental Pulp Cells : Role of MEK/ERK and Activin Receptor-Like Kinase-5/Smad Signaling. *J Formos Med Assoc.* 2017;116(5):351–8.
24. Gustems M, Woellmer A, Rothbauer U, Eck SH, Wieland T, Lutter D, et al. c-Jun/c-Fos Heterodimers Regulate Cellular Genes Via a Newly Identified Class of Methylated DNA Sequence Motifs. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(5):3059–72.
25. Rackova L, Mach M, Brnoliakova Z. An Update in Toxicology of Ageing. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2021;84(January).
26. Li Y, Lei D, Swindell WR, Xia W, Weng S, Fu J, et al. Age-Associated Increase in Skin Fibroblast – Derived Prostaglandin E2 Contributes to Reduced Collagen Levels in Elderly Human Skin. *J Invest Dermatol.* 2015;135(9):2181–8.
27. Li C, Fu Y, Dai H, Wang Q, Gao R, Zhang Y. Food Science and Human Wellness Recent Progress in Preventive Effect of Collagen Peptides on Photoaging Skin and Action Mechanism. *Food Sci Hum Wellness.* 2022;11(2):218–29.