

**POTENSI SERUM KOLAGEN KULIT IKAN TUNA SEBAGAI
ANTIAGING DALAM RANGKA SAINTIFIKASI LONTAR USADHA BALI
BERBASIS *ETHNOMEDICINE***

Putu Ninggita Santhi Dewi^{1*}, Ida Ayu Nadia Reisa¹, Putu Ayu Sariningsih¹

¹*Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mahasaraswati Denpasar,
Indonesia*

^{*}*Corresponding author: niggitasanthidewi33@gmail.com*

ABSTRAK

Saintifikasi pengobatan tradisional Usadha Bali belum banyak berkembang sampai saat ini. Diperkirakan banyak bahan alam yang termuat dalam sekitar 50.000 Lontar Usadha Bali yang belum disaintifikasi, salah satunya Usadha Ila yang menyebutkan pemanfaatan kulit ikan laut seperti kulit ikan tuna dapat digunakan dalam pengobatan luka pada kulit. Kulit ikan tuna mengandung kolagen yang membantu penyembuhan luka sekaligus mencegah penuaan akibat kerusakan kulit. Inovasi serum kolagen kulit ikan tuna dikembangkan untuk memberikan efek antipenuaan yang disebabkan oleh paparan radiasi sinar UV yang berlebihan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi serum kolagen kulit ikan tuna dalam mencegah photoaging yang disebabkan oleh paparan sinar UV pada kulit tikus betina. Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental laboratorium. Efek antipenuaan diuji melalui analisis statistik komparatif menggunakan uji Mann-Whitney dengan taraf kepercayaan 95% yang membandingkan tingkat kerusakan kulit pada dua kelompok tikus yang terpapar radiasi UV. Hasil analisis statistik menunjukkan terdapat perbedaan signifikan ($p \leq 0,05$) antara kelompok negatif dan kelompok perlakuan serum. Mengenai aktivitas antipenuaannya, dibandingkan dengan kelompok negatif, kelompok yang diobati dengan serum memiliki kondisi kulit yang lebih baik, berkurangnya kerutan yang dalam, dan tidak ada tanda-tanda kekenduran atau kekeringan. Serum ini diyakini menghasilkan efek antipenuaan dengan menghambat ekspresi MMP-3, MMP-1, MMP-7, dan MMP-12, yang mengakibatkan berkurangnya degradasi kolagen dan elastin yang membentuk matriks ekstraseluler, sehingga menghambat photoaging kulit. Dapat disimpulkan bahwa inovasi serum yang mengandung kolagen dari kulit ikan tuna memiliki potensi sebagai produk antiaging.

Kata kunci: *Usadha Bali, Teknologi Farmasi, Kolagen, Kulit Ikan Tuna, Antiaging*

PENDAHULUAN

Bali selain sebagai pulau dengan ragam budaya, juga terkenal akan sejarah panjang mengenai praktik pengobatan tradisional yang disebut sebagai Usadha Bali (Muderawan et al., 2020). Lontar Usadha merupakan warisan kearifan lokal Pulau Bali yang memuat ilmu tentang pengobatan menggunakan tanaman herbal dan hasil bumi setempat (Putra, 2020). Usadha ditulis dalam bahasa Jawa Kuno dan Sansekerta di atas daun ental (*Borassus flabellifer*) yang berisikan ilmu pengobatan tradisional baik itu penyakit fisik ataupun mental. Usadha termasuk dalam etnomedisin yang asli dimiliki oleh masyarakat Bali sebagai warisan budaya leluhur yang diturunkan dari generasi ke generasi selama lebih dari 600 tahun lamanya (Muderawan et al., 2020).

Penerapan Usadha secara empirik telah dilakukan sejak ratusan tahun yang lalu. Kendati demikian, saintifikasi pengobatan tradisional Usadha Bali belum banyak

berkembang sampai hari ini, khususnya dengan tujuan untuk menghasilkan produk bernilai ekonomis. Diperkirakan ada banyak bahan alam yang termuat dalam sekitar 50.000 Lontar Usadha Bali yang belum disaintifikasi. Bahan-bahan ini tidak hanya dapat meningkatkan kesehatan, namun juga dapat meningkatkan perekonomian jika dikembangkan menjadi produk komersil (Santoso et al., 2020). Bahan-bahan yang dimaksud dalam Usadha Bali tidak hanya terbatas pada tanaman dan rempah herbal, tetapi juga meliputi sumber protein hewani. Catatan Departemen Pendidikan dan Kebudayaan (Depdikbud, 1991) menyebutkan penggunaan daging dan kulit babi, serta daging dan kulit ikan laut dalam Usadha Gede dan Usada Ila. Penggunaan daging dan kulit hewan banyak ditujukan untuk penyakit-penyakit yang memiliki manifestasi berupa luka pada kulit, misalnya seperti penyakit lepra yang dijelaskan dalam Usadha Ila (Depdikbud, 1991).

Bukti empirik yang tertuang pada Lontar Usadha Bali mengenai manfaat ikan laut dalam penyembuhan luka penyakit kulit, melalui riset ini akan dikembangkan menjadi produk yang berbasis bukti ilmiah. Pemanfaatan daging dan kulit hewan pada luka didasarkan atas kemampuan material ini dalam membantu proses penyembuhan luka. Hal ini didukung dengan bukti ilmiah dari beberapa penelitian yang menyebutkan potensi kulit hewan sebagai penghasil biomaterial yang dapat membantu penyembuhan luka. Biomaterial yang dimaksud adalah kolagen, dimana banyak terkandung dalam kulit ikan yang dapat dikenali dari tekstur kenyal dan elastis pada kulit ikan (Moranda et al., 2018). Kolagen sebagai protein alami yang diproduksi tubuh manusia, berperan penting dalam mempertahankan struktur kulit yang normal dan sehat. Kolagen (khususnya yang berasal dari kulit ikan) kaya akan kandungan asam amino dan memiliki keuntungan sebagai biomaterial yang mudah didapat, bersifat *biodegradable* sehingga tidak berpotensi mencemari lingkungan. Asam amino dalam kolagen mampu meningkatkan *proliferasi fibroblas*, menguatkan jaringan kulit dan meningkatkan sintesis serat kolagen alami pada kulit sehingga sangat bermanfaat dalam mempercepat penyembuhan luka (Afifah et al., 2019; Ibrahim et al., 2020).

Selain penyembuhan luka, asam amino dalam kolagen juga mampu memperbaiki fungsi kulit yang mengalami kerusakan akibat penuaan (Kong et al., 2023). Kolagen memiliki efek antioksidan yang efektif dalam menangkal akumulasi radikal bebas pada kulit sehingga berpotensi sebagai antipenuaan akibat *stress oxidative* yang disebabkan paparan sinar UV (Devita et al., 2021). Kini banyak produk perawatan kulit yang menggunakan kolagen sebagai bahan aktif *antiaging*, sebut saja seperti serum yang belakangan ini banyak diminati sebab serum mengandung konsentrat bahan aktif yang lebih tinggi dan mampu berpenetrasi lebih baik ke dalam kulit (Amnuaitik et al., 2022).

Pemanfaatan kolagen sebagai antipenuaan didukung oleh tingginya minat konsumen terhadap produk perawatan kulit, khususnya kaum perempuan. Kondisi ini melatarbelakangi banyak produsen untuk berinovasi menciptakan produk baru guna memenuhi permintaan pasar. Dengan melihat kebutuhan masyarakat akan produk perawatan kulit sekaligus memanfaatkan kemajuan teknologi farmasi, ini membuka peluang bagi kolagen dari kulit ikan laut untuk diformulasikan menjadi produk serum yang inovatif dan aplikatif sebagai *antiaging*. Pemanfaatan kolagen dari kulit ikan laut tidak hanya sebagai upaya mengoptimalkan bahan alam yang bersumber dari warisan kebudayaan lokal Bali. Namun, juga didasarkan atas urgensi untuk mengolah limbah

hasil industri perikanan yang kian menumpuk setiap tahunnya dan berpotensi mencemari lingkungan (Moranda et al., 2018; Suarsa et al., 2020). Pemanfaatan limbah kulit ikan tuna sebagai sumber kolagen dapat menjadi salah satu aksi nyata dalam menjalankan misi SDGs (*Sustainable Development Goals*) nomor 12 yakni "Responsible Consumption and Production" (Jafari et al., 2020) Pengolahan limbah kulit ikan laut saat ini sangat diperlukan, yang pertama untuk kelangsungan lingkungan hidup. Kedua, sebagai upaya optimalisasi limbah menjadi produk bernilai komersil yang dapat memberikan dampak positif bagi perekonomian dalam negeri. Berangkat dari permasalahan tersebut, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menginvestigasi potensi kolagen dari limbah kulit ikan laut menjadi bahan yang aman dan efektif sebagai *antiaging* berdasarkan pengalaman empirik kebudayaan lokal Bali.

METODE Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gunting, pisau, timbangan analitik (Ohaus), timbangan digital (Acis), alat-alat gelas laboratorium, *water bath* (Shimadzu), kertas saring, tikus (*Rattus norvegicus*), corong buchner, kertas indicator PH universal, *overhead stirrer*, lampu UV (*Philips*), *spray dryer* (Xiamen Ollital Technology Co., Ltd).

Bahan yang digunakan pada saat penelitian ini adalah kulit ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*), NaOH 0,1 M, Enzim Pepsin, Enzim Alcalase, *Deionized Water* (*Water One*), Asam Sitrat, Gliserin, Metil Paraben, Propil Paraben, Triethanolamine, Carbomer, *Aquadest*.

Preparasi Kulit Ikan Tuna

Preparasi kulit ikan tuna diawali dengan membersihkan dan memotong kulit ikan tuna segar (300 gram) dengan ukuran \square 3x3 cm. Kemudian, kulit ikan tuna direndam pada larutan NaOH 0,1 M dengan rasio antara kulit dan pelarut 1:10 (b/v) selama 24 jam sambil sesekali diaduk.

Ekstraksi Kolagen

Ekstraksi kolagen dilakukan menggunakan metode hidrolisis enzimatik dua-tahap yang mengacu pada Benjakul et al (2018) dengan sedikit modifikasi. Kulit ikan tuna yang telah direndam dengan larutan NaOH 0,1M dicuci bersih dengan air mengalir hingga menunjukkan pH netral. Kulit ikan ditimbang kembali untuk menghitung bobot total setelah perendaman. Hidrolisis Tahap 1 dilakukan dengan merendam kulit ikan tuna dalam *deionized water* (rasio 1:5 b/v) yang ditambahkan enzim papain (3% bobot kulit) di atas *water bath* pada suhu 50°C selama 3 jam. Hidrolisis Tahap 1 dihentikan dengan pemanasan pada suhu 90°C selama 15 menit. Dengan prosedur yang sama, Hidrolisis Tahap 2 dilakukan dengan menambahkan enzim alcalase (2% bobot kulit) di atas *water bath* pada suhu 40°C selama 2 jam dan dihentikan melalui pemanasan pada suhu 90°C selama 15 menit. Larutan disaring untuk memisahkan *supernatant* dengan bagian kulit ikan yang tersisa. *Supernatant* yang diperoleh dikeringkan menggunakan *spray dryer* untuk memperoleh serbuk kolagen.

Pembuatan Serum

Formulasi serum dibuat menggunakan basis gel dengan cara memanaskan *aquadest* berisi metilparaben, propilparaben dan carbomer (campuran A) di atas *water bath* sambil diaduk hingga campuran homogen. Setelah homogen, campuran tersebut

diturunkan dari *water bath* kemudian pengadukan dilanjutkan menggunakan *overhead stirrer* hingga diperoleh massa menyerupai gel yang homogen dan transparan. Dalam *beaker glass* lain, dicampurkan TEA, asam sitrat dan gliserin (Campuran B) lalu diaduk hingga homogen. Serbuk kolagen dilarutkan dalam aquadest lalu diaduk hingga homogen. Campuran B dan larutan kolagen dimasukkan ke dalam Campuran A sambil terus diaduk dengan kecepatan konstan menggunakan *overhead stirrer* hingga homogen. Semua bahan tersebut ditimbang berdasarkan formula berikut ini:

Tabel 1. Formula Serum

Bahan	Kegunaan	Konsentrasi (% b/v)
Kolagen ekstrak kulit ikan tuna	Bahan Aktif	2,5
Asam Sitrat	Agen Pengkelat	0,3
Gliserin	<i>Humectant, Emollient</i>	30
Carbomer	<i>Gelling Agent</i>	0,8
Triethanolamine	Pendapar	0,8
MetilParaben	Pengawet	0,4
PropilParaben	Pengawet	0,1
Aquadest	Pelarut	Ad100

Evaluasi Mutu Fisik dan Stabilitas Serum

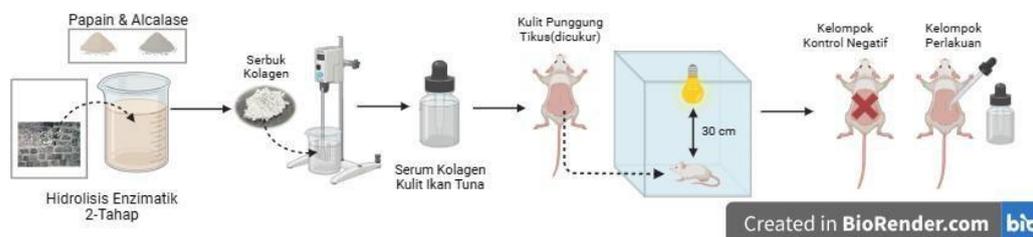
Evaluasi mutu fisik serum meliputi uji organoleptis, uji homogenitas dan uji pH sediaan.

- Uji organoleptis serum meliputi warna, aroma dan bentuk sediaan.
- Uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan dua buah *object glass*. Sejumlah serum dioleskan pada salah satu *object glass* kemudian ditutup dengan *object glass* lainnya. Serum yang baik harus menunjukkan susunan yang homogen dan bebas dari partikel yang masih menggumpal.
- Uji pH sediaan dilakukan dengan menimbang 1 gram serum kolagen kemudian diencerkan dengan 10 mL *aquadest*. Kertas pH indikator dicelupkan kedalam larutan serum untuk mengetahui pH sediaan. Warna yang timbul dicocokkan dengan warna standar yang ada pada kemasan pH indikator. pH yang baik untuk kulit yaitu 4,5-7 (Sueno et al., 2020).
- Uji stabilitas sediaan serum dilakukan menggunakan metode *Cycle Test* yang terdiri dari 5 siklus selama 20 hari. Setiap 1 siklus *Cycle Test*, sediaan serum disimpan pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam kemudian dikeluarkan, lalu disimpan kembali pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 48 jam dan terakhir disimpan pada suhu kamar $\pm 25^{\circ}$ selama 48 jam. Proses ini diulangi sampai 5 siklus.

Uji Aktivitas Anti-Aging Serum

Hewan coba dibagi menjadi 2 kelompok, yakni kelompok negatif dan kelompok perlakuan (tiap kelompok terdapat 5 tikus). Tikus diaklimasi terlebih dahulu, kemudian rambut pada area kulit punggung (dorsal) dihilangkan dengan cara dikuris. Tikus pada tiap kelompok secara bergiliran ditempatkan dalam sebuah *box* berventilasi dan lampu UV ditempatkan pada bagian atas *box* dengan jarak ± 30 cm dari hewan coba untuk membuat model hewan coba yang mendapatkan paparan radiasi sinar UV yang menginduksi proses penuaan kulit. Tikus dipapar selama 30 menit setiap 24 jam selama 1 minggu. Pada kelompok negatif, tikus tidak mendapatkan perlakuan setelah dipapar

sinar UV. Pada kelompok perlakuan, tikus diberikan sediaan serum setelah paparan sinar UV dengan cara mengoleskan serum di bagian kulit punggung tikus dan dibiarkan melekat selama ± 3 menit. Setelah 7 hari, diamati tanda-tanda penuaan berupa kerutan, kulit kendur dan kering serta lesi yang terjadi akibat paparan sinar UV pada kedua kelompok tersebut.



Gambar 1. Skema Alur Penelitian

Analisis Statistik

Data yang diperoleh diuji secara statistik menggunakan program IBM SPSS 26 untuk melihat perbedaan rerata skor tanda-tanda penuaan kulit antar kelompok penelitian. Uji statistik ini dilakukan menggunakan metode analisis 2 kelompok bebas. Sebelum dilakukan uji statistik, dilakukan uji normalitas data menggunakan uji Shapiro-Wilk. Uji parametrik *Independent Samples T-Test* dilakukan jika data yang diperoleh terdistribusi normal ($p > 0,05$) atau uji non-parametrik *Mann-Whitney* jika data yang diperoleh tidak terdistribusi normal ($p \leq 0,05$). Perbedaan antar kelompok dinyatakan signifikan jika uji statistik menunjukkan nilai $p < 0,05$. Tabel 2. Kriteria Skor Penilaian Terhadap Tanda-Tanda Penuaan

Skor	Karakteristik
1	Tekstur kulit normal
2	Tekstur kulit normal berkurang
3	Terdapat kerutan dangkal
4	Terdapat beberapa kerutan dalam dan kulit kendur
5	Terdapat lebih banyak kerutan dalam
6	Terdapat lesi dan tumor

Sumber: (Kong et al., 2023)

HASIL DAN PEMBAHASAN Preparasi dan Hidrolisis Enzimatis Dua-Tahap Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning

Pada tahap preparasi, kulit ITSK direndam dengan larutan alkali (NaOH) yang bertujuan untuk menghilangkan komponen protein non-kolagen. Proses ini disebut tahap *deproteinasi*. Penggunaan larutan NaOH (alkali) pada proses *deproteinasi* relatif lebih efektif dibandingkan menggunakan larutan asam yang selain menghilangkan protein non-kolagen juga dapat menyebabkan tingkat kehilangan kolagen yang lebih tinggi (Suptijah et al., 2018). Perendaman dengan larutan NaOH juga bertujuan untuk menghilangkan kandungan lemak yang terkandung cukup tinggi dalam kulit ITSK (Suptijah et al., 2018).

Kolagen dari kulit ITSK diperoleh menggunakan metode Hidrolisis Enzimatis Dua-Tahap dengan enzim protease, yakni papain dan bromelin. Mekanisme hidrolisis dua-tahap diduga mampu membelah matriks kulit ikan pada derajat yang lebih tinggi.

Enzim papain yang digunakan pada hidrolisis tahap pertama dapat membuka dan melonggarkan celah matriks pada kulit ikan. Selanjutnya pada hidrolisis tahap kedua, enzim alcalase secara spesifik menghidrolisis serat kolagen pada kulit ikan menjadi peptida yang berukuran lebih kecil. Alcalase dapat menghidrolisis substrat protein kolagen yang terhidrolisis sebagian di tahap pertama, sehingga rendemen ekstraksi yang dihasilkan lebih besar dibandingkan menggunakan satu jenis protease (Benjakul et al., 2018). Ekstraksi kolagen dengan metode hidrolisis dua-tahap dibantu dengan pemanasan pada suhu 40°C dan 50°C yang bertujuan untuk membantu perusakan ikatan hidrogen dan kovalen pada substrat protein. Perusakan ikatan akibat pemanasan menyebabkan kestabilan struktur *triple helix* kolagen terganggu sehingga dihasilkan peptida hidrolisat kolagen dengan bobot molekul yang lebih kecil. Pemanasan dimulai dari suhu 40°C dengan tujuan untuk mencegah degradasi kolagen menjadi gelatin yang umumnya terjadi pada suhu lebih dari 50°C (Suptijah et al., 2018). **Karakteristik Kolagen dari Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning**

Karakterisasi serbuk Kolagen ITSK yang dilakukan meliputi persentase nilai rendemen, analisis warna, analisis pH dan kelarutan. Hasil karakterisasi serbuk Kolagen ITSK ditampilkan pada Tabel (3)

Tabel 3. Hasil Karakterisasi Serbuk Kolagen Kulit Ikan Tuna

<u>Parameter</u>	<u>Kolagen ITSK</u>
Rendemen (%)	6,5
Warna	Putih
pH	7
Kelarutan	Larut dalam air <u>Tidak larut dalam etanol, metanol</u>

Nilai rendemen didefinisikan sebagai persentase serbuk kolagen yang dihasilkan dari sejumlah bahan baku kulit ikan tuna segar. Persentase rendemen serbuk kolagen dari ITSK yang diekstraksi menggunakan metode hidrolisis enzimatis dua-langkah adalah sebesar 6,5%. Nilai rendemen ini dapat menjadi parameter untuk mengetahui keefektifan bahan baku, metode atau produk yang dihasilkan serta untuk mengetahui nilai ekonomis produk. Pada penelitian ini, nilai rendemen dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya proses menghilangkan protein non-kolagen pada tahap preparasi kulit ikan, suhu dan lama waktu ekstraksi (Suptijah et al., 2018).



Sumber: dokumentasi pribadi

Gambar 2. Serbuk Kolagen Kulit Ikan Tuna

Serbuk kolagen yang diperoleh dari kulit ITSK berwarna putih. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa serbuk kolagen dari kulit ITSK memiliki nilai derajat keputihan (*whiteness degree*) sebesar 96,69%. Derajat keputihan kolagen ITSK lebih tinggi dari kolagen lainnya yang diperoleh dari ikan kakap (61,33 – 65,41%). Meskipun warna dari serbuk kolagen tidak mempengaruhi bioaktivitasnya, namun parameter warna merupakan parameter penting dilihat dari nilai komersil produk sebab konsumen lebih menyukai produk yang berwarna putih dan bersih (Nurilmala et al., 2020).

Nilai pH merupakan parameter lainnya yang berkaitan dengan kualitas dan kelarutan serbuk kolagen. Berdasarkan SNI, pH kolagen berkisar antara 6,5 – 8 (Nurilmala et al., 2020). Pada penelitian ini, pH serbuk kolagen ITSK adalah 7 yang berarti telah memenuhi syarat penerimaan menurut SNI. Nilai pH serbuk kolagen sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan dan bahan yang dipakai pada saat proses preparasi kulit. Kolagen dengan pH netral memiliki solubilitas yang lebih baik dalam air sebab pH netral memfasilitasi interaksi antara protein dan molekul air (Nurilmala et al., 2020).

Karakteristik Serum Kolagen dari Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning

Karakterisasi serum Kolagen ITSK yang dilakukan meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH dan uji stabilitas serum. Hasil karakterisasi serum Kolagen ITSK ditampilkan pada Tabel (4).

Tabel 4. Hasil Uji Organoleptis, Homogenitas, dan pH Serum Kolagen Kulit Ikan Tuna

Organoleptis	Homogenitas	pH
Bening pucat agak kekuningan, tidak berbau, sedikit kental	Homogen	5

Pengujian organoleptis dilakukan dengan cara pengamatan secara visual terhadap sediaan serum Kolagen ITSK. Parameter yang diamati adalah warna, bau, dan bentuk serum. Hasil uji organoleptis menunjukkan serum Kolagen ITSK berwarna bening pucat agak kekuningan, tidak berbau, dengan bentuk sedikit kental serta memiliki tekstur yang lembut.

Hasil uji homogenitas menunjukkan tidak terlihat adanya pemisahan dan partikel-partikel kasar yang menggumpal yang mengartikan bahwa semua bahan yang digunakan tercampur dengan baik. Sediaan yang homogen akan memberikan hasil yang baik karena bahan aktif akan terdispersi merata didalam sediaan sehingga pada setiap tetes serum Kolagen ITSK akan mengandung jumlah bahan aktif yang sama (Suena et al., 2022).



Sumber: dokumentasi pribadi

Gambar 3. Hasil Formulasi Serum Kolagen Kulit Ikan Tuna

Pengujian pH serum Kolagen ITSK dilakukan menggunakan indikator pH universal. Hasil uji pH sediaan diperoleh nilai pH serum Kolagen ITSK yaitu 5. Nilai pH yang dihasilkan sudah memenuhi syarat pH yang baik untuk kulit wajah yaitu 4,5-6,5 (Sueno et al., 2022). Nilai pH merupakan parameter penting yang harus diperhatikan, jika pH sediaan terlalu asam dapat menyebabkan kulit iritasi dan jika terlalu basa menyebabkan kulit bersisik. Hasil uji organoleptis, homogenitas yang baik serta nilai pH yang sudah memenuhi persyaratan untuk kulit, serupa dengan hasil penelitian Amnuait et al (2022) yang juga memformulasikan serum menggunakan kolagen dari kulit ikan kakap.

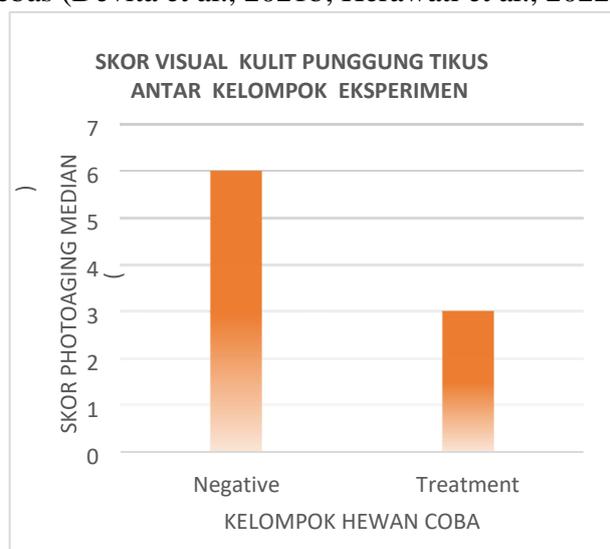
Pengujian stabilitas serum Kolagen ITSK dilakukan dengan metode *Cycle Test* yang terdiri dari 5 siklus selama 20 hari. Uji ini dilakukan untuk mengetahui umur simpan sediaan. Setelah 20 hari, serum Kolagen ITSK menunjukkan warna bening pucat agak kekuningan, tidak berbau, sedikit kental dan hasil uji homogenitas juga menunjukkan tidak ada partikel-partikel kasar, hasil ini sesuai dengan organoleptis dan uji homogenitas pada awal serum ini dibuat. Nilai pH serum juga masih berada pada rentang pH untuk kulit wajah yang baik yaitu 5,5.

Aktivitas Anti-Penuaan Serum Kolagen dari Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning

Penuaan kulit yang disebabkan oleh paparan sinar UV dapat terjadi melalui 2 jalur, yakni jalur degradasi protein penyusun ECM (*Extracellular Matrix*) dan jalur inhibisi produksi *procollagen*. Dalam kondisi normal, kulit yang sehat tersusun atas ECM yang mengandung beberapa protein struktural seperti kolagen dan elastin. Ketika kulit yang sehat mendapat paparan sinar UV secara berlebih maka kulit akan mengalami penuaan yang ditandai dengan kulit kering, kulit kendur, terbentuknya kerutan, *dark spot*, serta elastisitas kulit yang berkurang akibat degradasi ECM. Kolagen dan elastin adalah protein penting yang menyusun ECM dan yang paling rentan terdegradasi akibat paparan UV. Kolagen, khususnya tipe 1, merupakan protein struktural utama yang menyusun kulit manusia. Kolagen bergabung menyusun *collagen fiber* yang merupakan komponen esensial untuk mempertahankan kekencangan dan fleksibilitas kulit. Elastin yang menyusun elastin fiber berperan penting dalam mempertahankan struktur elastis dan kelembutan kulit. Pada kulit yang mengalami *aging*, protein kolagen dan elastin yang menyusun ECM didegradasi oleh enzim *elastase* dan *collagenase* yang ekspresinya diatur oleh *Matrix-degrading Metalloproteases* (MMP).

Penggunaan serum kolagen dari kulit ikan tuna pada tikus yang dipapar dengan sinar UV menunjukkan hasil yang positif. Pada hari ke-7, kelompok tikus yang

mendapat perlakuan dengan diberikan serum mengalami perbaikan pada kondisi kulitnya dimana garis kerutan tampak tidak dalam, dan kelembaban kulit masih terjaga. Sebaliknya pada kelompok tikus yang mendapat paparan sinar UV tanpa diberi serum terlihat adanya lesi, kondisi kulit kering dan kendur. Hasil ini mengindikasikan bahwa serum yang mengandung kolagen ikan tuna memiliki potensi sebagai *antiaging* yang bermanfaat untuk mencegah penuaan kulit akibat paparan sinar UV yang berlebih. Aktivitas *antiaging* kolagen dipengaruhi oleh kandungan asam amino, terutama *Glycine*, *Alanine* dan *Proline*, yang paling banyak terkandung dalam kolagen yang diekstraksi dari kulit ikan tuna jenis *yellowfin* (Nurilmala et al., 2020). Peptida hidrofobik seperti *Glycine* dan *Proline* mampu melindungi makromolekul kolagen terhadap proses oksidasi dengan cara mendonorkan proton atau elektron yang dimiliki kepada radikal bebas (Devita et al., 2021b; Herawati et al., 2022).

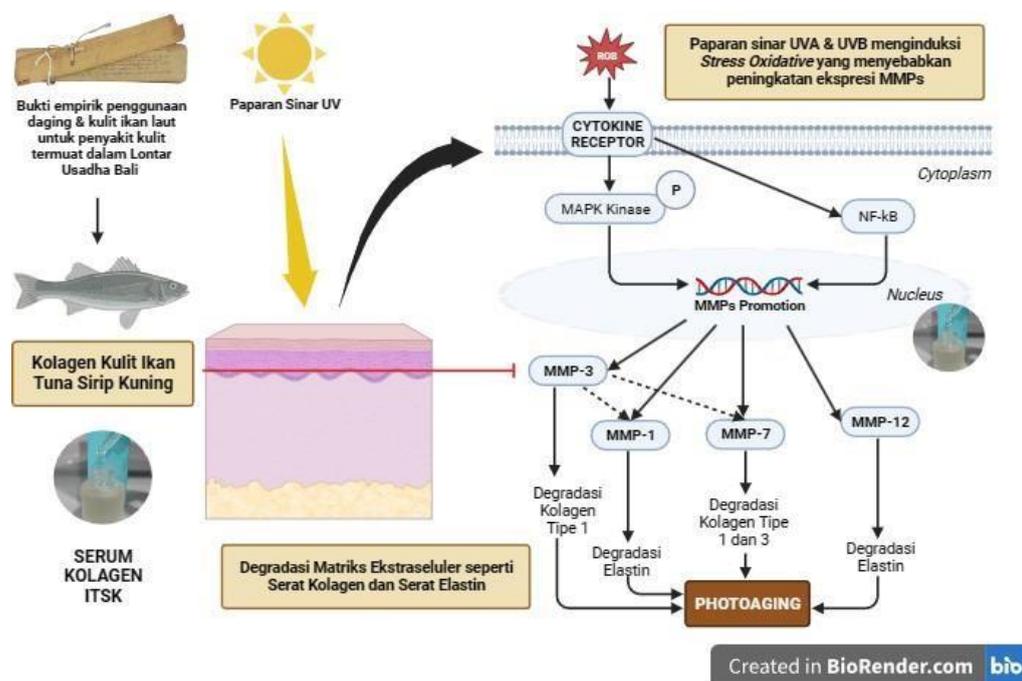


Gambar 4. Grafik Skor Penilaian Tanda-Tanda Penuaan Kelompok Kontrol Negatif dan Kelompok Perlakuan

Selain aktivitasnya sebagai antioksidan, kandungan asam amino dalam kolagen juga mampu menghambat *glycation reaction* dengan menghambat ikatan antara glukosa dan protein (Herawati et al., 2022). *Glycation* adalah salah satu faktor penyebab penuaan kulit berupa reaksi kimia yang terjadi akibat interaksi gugus karbonil dari gula pereduksi dengan gugus asam amino bebas dalam protein. Proses *Glycation* menghasilkan *Advance Glycation End products* (AGEs) seperti *N-Carbocymethyl Lysine* (CML) dan *Pendosidine*, yang dapat mengurangi fleksibilitas kulit (Aguirre-Cruz et al., 2020). Senyawa yang mampu berperan sebagai antioksidan juga dapat berperan sebagai *antiglycation* dengan berperan sebagai absorber dari turunan senyawa karbonil. Asam amino seperti *Glycine* mampu mencegah ikatan yang terbentuk antara glukosa atau senyawa turunan *dicarbonyl*, akibatnya *Schiff Base* tidak terbentuk dan produk akhir AGEs berkurang (Herawati et al., 2022). Dengan demikian, senyawa yang memiliki kemampuan sebagai *antiglycation* juga dapat berpotensi sebagai *antiaging*.

Pemberian serum yang mengandung kolagen ikan tuna diduga mampu mencegah terjadinya penuaan kulit akibat paparan sinar UV melalui mekanismenya yang dapat mempengaruhi ekspresi MMP sehingga dapat mencegah degradasi ECM (Kong et al., 2023). MMPs merupakan *zinc-containing endopeptidases* yang

disekresikan oleh *keratinocytes* dan *dermal fibroblasts* sebagai respon terhadap stimulus eksternal seperti radiasi sinar UV dan *oxidative stress*. Terdapat 28 jenis MMP yang telah diidentifikasi serta memiliki peran penting dalam beragam proses patofisiologis tubuh termasuk penuaan kulit. *Collagenases* yang meliputi MMP-1, MMP-8, dan MMP-13 adalah sub-grup dari MMPs yang mampu mendegradasi serat kolagen pada ECM. MMP-12 atau yang disebut sebagai *metalloelastase* adalah tipe lain dari MMPs yang bertanggung jawab atas degradasi *Elastin*, protein penyusun *elastic fibers* yang berperan menjaga elastisitas kulit (Pittayapruek et al., 2016).



Gambar 5. Mekanisme Kerja Serum Kolagen Kulit Ikan Tuna Dalam Menghambat Penuaan Kulit

Paparasi sinar UV yang terkumulatif dalam jangka waktu lama mengakibatkan degradasi kolagen dan *Elastin* yang menyusun ECM. Serum yang mengandung kolagen kulit ikan tuna diduga mampu menghadirkan efek *anti-aging* melalui mekanisme inhibisi terhadap MMP-1, MMP-7 dan MMP-12 sehingga degradasi kolagen dan elastin akan menurun dan tidak terjadi *photoaging* (Pittayapruek et al., 2016). Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang menggunakan kolagen dari ikan COD dengan komponen asam amino yang serupa sebagai *antiaging*, dimana penggunaan gel yang mengandung kolagen terbukti mampu menghambat ekspresi MMP-3 yang sekaligus dapat menurunkan ekspresi MMP-1 dan MMP-7 sehingga degradasi kolagen berkurang (Kong et al., 2023). Dengan demikian, berkurangnya ekspresi MMP-1, MMP-3, MMP-7 dan MMP-12 dapat mengurangi terbentuknya tanda penuaan kulit.

Tabel 5. Hasil Uji Mann-Whitney

Kelompok	N	Median	Min	Maks	Nilai p
Kontrol	5	6	5	6	0,008
Negatif					

Perlakuan 5 3 5 4

Data skor penilaian terhadap tanda-tanda penuaan kulit masing-masing kelompok diuji normalitasnya menggunakan Shapiro-Wilk. Hasil uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal ($p \leq 0,05$) sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji non parametrik dengan Mann-Whitney. Hasil uji Mann-Whitney (Tabel 5) menunjukkan nilai $p = 0,008$ ($p \leq 0,05$), yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan diantara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa serum Kolagen ITSK dapat menghambat penuaan kulit pada tikus yang dipapar sinar UVB.

KESIMPULAN

Serbuk kolagen dari kulit ikan tuna memiliki kualitas yang baik untuk dijadikan bahan aktif sediaan serum. Serum kolagen dari kulit ikan tuna mampu mencegah *photoaging* dengan perlindungan hingga 50% terhadap tikus yang dipapar sinar UVB. Serum kulit ikan tuna berpotensi menjadi produk perawatan kulit yang aman dan efektif sebagai *antiaging*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada Fakultas Farmasi Universitas Mahasarawati Denpasar yang telah memfasilitasi berlangsungnya penelitian ini dan pihak-pihak yang berkontribusi secara langsung ataupun tidak langsung dalam proses penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, A., Suparno, O., Haditjaroko, L., & Tarman, K. (2019). Utilisation of fish skin waste as a collagen wound dressing on burn injuries: a mini review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 335(1), 012031. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/335/1/012031>
- Aguirre-Cruz, G., León-López, A., Cruz-Gómez, V., Jiménez-Alvarado, R., & Aguirre-Álvarez, G. (2020). Collagen Hydrolysates for Skin Protection: Oral Administration and Topical Formulation. *Antioxidants*, 9(2), 181. <https://doi.org/10.3390/antiox9020181>
- Amnuait, T., Shankar, R., & Benjakul, S. (2022). Hydrolyzed Fish Collagen Serum from By-Product of Food Industry: Cosmetic Product Formulation and Facial Skin Evaluation. *Sustainability*, 14(24), 16553. <https://doi.org/10.3390/su142416553>
- Benjakul, S., Karnjanapratum, S., & Visessanguan, W. (2018). Production and Characterization of Odorless Antioxidative Hydrolyzed Collagen from Seabass (*Lates calcarifer*) Skin Without Descaling. *Waste and Biomass Valorization*, 9(4), 549–559. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0008-9>
- Depdikbud. (1991). *Usada Gede*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan.
- Devita, L., Lioe, H. N., Nurilmala, M., & Suhartono, M. T. (2021a). The Bioactivity Prediction of Peptides from Tuna Skin Collagen Using Integrated Method Combining In Vitro and In Silico. *Foods*, 10(11), 2739. <https://doi.org/10.3390/foods10112739>

- Devita, L., Lioe, H. N., Nurilmala, M., & Suhartono, M. T. (2021b). The bioactivity prediction of peptides from tuna skin collagen using integrated method combining in vitro and in silico. *Foods*, *10*(11).
<https://doi.org/10.3390/foods10112739>
- Herawati, E., Akhsanitaqwm, Y., Agnesia, P., Listyawati, S., Pangastuti, A., & Ratriyanto, A. (2022). In Vitro Antioxidant and Antiaging Activities of Collagen and Its Hydrolysate from Mackerel Scad Skin (*Decapterus macarellus*). *Marine Drugs*, *20*(8), 516.
<https://doi.org/10.3390/md20080516>
- Ibrahim, A., Soliman, M., Kotb, S., & Ali, M. M. (2020). Evaluation of fish skin as a biological dressing for metacarpal wounds in donkeys. *BMC Veterinary Research*, *16*(1), 472. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02693-w>
- Kong, S., Lv, L., Guo, J., Yang, X., Liao, M., Zhao, T., Sun, H., Zhang, S., & Li, W. (2023). Preparation of Cod Skin Collagen Peptides/Chitosan-Based Temperature-Sensitive Gel and Its Anti-Photoaging Effect in Skin. *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 17, 419–437.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S391812>
- Moranda, D. P., Handayani, L., & Nazlia, S. (2018). Pemanfaatan limbah kulit ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) sebagai gelatin: Hidrolisis menggunakan pelarut HCl dengan konsentrasi berbeda. *Acta Aquatica: Aquatic Sciences Journal*, *5*(2), 81. <https://doi.org/10.29103/aa.v5i2.850>
- Muderawan, I. W., Budiawan, I. M., Giri, M. K. W., & Atmaja, I. N. B. (2020). Usada: The Ethnomedicine of Balinese Society. *International Journal of Ayurvedic and Herbal Medicine*, *10*(6), 3893–3905.
- Nurilmala, M., Hizbullah, H. H., Karnia, E., Kusumaningtyas, E., & Ochiai, Y. (2020a). Characterization and Antioxidant Activity of Collagen, Gelatin, and the Derived Peptides from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Skin. *Marine Drugs*, *18*(2), 98. <https://doi.org/10.3390/md18020098>
- Nurilmala, M., Hizbullah, H. H., Karnia, E., Kusumaningtyas, E., & Ochiai, Y. (2020b). Characterization and Antioxidant Activity of Collagen, Gelatin, and the Derived Peptides from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Skin. *Marine Drugs*, *18*(2). <https://doi.org/10.3390/md18020098>
- Pittayapruek, P., Meehansan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2016). Role of Matrix Metalloproteinases in Photoaging and Photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(6), 868. <https://doi.org/10.3390/ijms17060868>
- Putra, I. B. G. K. (2020). Minister Terawan encourages Usadha Bali development under Traditional Balinese Medicine branding. *Bali Tourism Journal*, *4*(1), 10. <https://doi.org/10.36675/btj.v4i1.40>
- Santoso, P., Dewi, N. L. K. A. A., & Adrianta, A. (2020). Antioxidant capacity profile of dewandaru leaf (extract eugenia uniflora l.): part of usadha Bali.

International Journal of Life Sciences, 4(1), 87–98.
<https://doi.org/10.29332/ijls.v4n1.407>

- Suarsa, I. W., Putra, B., Rahayu Santi, S., & Faruk, A. (2020). PRODUKSI TEPUNG TULANG IKAN TUNA (*Thunnus* sp) DENGAN METODE KERING SEBAGAI SUMBER KALSIUM DAN FOSFOR UNTUK PEMBUATAN BISKUIT. *Jurnal Ilmu Pendidikan Indonesia*, 8(1), 19–28. <http://ejournal.uncen.ac.id/index.php/JIPI>
- Suena, N. M. D. S., Ariani, N. L. W. M., & Antari, N. P. U. (2022). Physical Evaluation and Hedonic Test of Sandalwood Oil (*Santalum album* L.) Cream as an Anti-Inflammatory. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 8(1), 22–30. <https://doi.org/10.36733/medicamento.v8i1.3425>
- Suena, N. M. D. S., Meriyani, H., & Antari, N. P. U. (2020). UJI MUTU FISIK DAN UJI HEDONIK BODY BUTTER MASERAT BERAS MERAH JATILUWIH. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 6(1). <https://doi.org/10.36733/medicamento.v6i1.843>
- Suptijah, P., Indriani, D., & Wardoyo, S. E. (2018). ISOLASI DAN KARAKTERISASI KOLAGEN DARI KULIT IKAN PATIN (*Pangasius* sp.). *Jurnal Sains Natural*, 8(1), 8. <https://doi.org/10.31938/jsn.v8i1.106>