

KESAN ORAL EKSTRAK *CENTELLA ASIATIKA*
TERHADAP FIZIKAL DAN HISTOLOGI KULIT
MENCIT YANG DIDEHAHKAN PADA SINARAN
ULTRAUNGU B (UVB)



NUR QISTI BINTI TAJUL URUS

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA

 UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA <i>The National University of Malaysia</i>	UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07	No. Semakan: 02	Tarikh Kuat Kuasa: 27/01/2026
	BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI SELEPAS PEMBETULAN FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION SUBMISSION		

F. KELULUSAN DEKAN/PENGARAH / APPROVAL FROM DEAN/DIRECTOR

Tandatangan: <i>Signature</i>		Tarikh: <i>Date</i>	4/6/26
Nama dan Cap Rasmi: <i>Name and Official Stamp</i>	PROFESOR DATO' DR MARINA MAT BAKI MB (UKM), MS ORL-HNS (UKM), PhD (UCL) Dekan Fakulti Perubatan Pakar Perunding Kanan ORL-HNS Universiti Kebangsaan Malaysia		

G. PERAKUAN TESIS/ DISERTASI SARJANA / DOKTOR FALSAFAH (CERTIFICATION OF MASTER'S / DOCTORAL THESIS / DISSERTATION)

Nama penuh pengarang <i>(Author's Full Name)</i>	NUR QISTI BINTI TAJUL URUS		
No. Pendaftaran Pelajar <i>(Student's Registration No.)</i>	P117146	Sesi Akademik <i>(Academic Session)</i>	2/20252026
Tajuk Tesis / Disertasi <i>(Thesis / Dissertation Title)</i>	KESAN ORAL EKSTRAK CENTELLA ASIATIKA TERHADAP FIZIKAL DAN HISTOLOGI KULIT MENCIT YANG DIDEPAHAKAN PADA SINARAN ULTRAANGU B (UVB).		

Semua tesis/disertasi dan penerbitan berkaitan hasil penyelidikan pelajar adalah tertakluk kepada Dasar Harta Intelek Universiti Kebangsaan Malaysia.
All theses/ dissertations and publications relating to the research work of a student are subject to the Intellectual Property Policy of Universiti Kebangsaan Malaysia.

Saya mengaku bahawa tahap akses tesis/disertasi ini sebagai (*Tandakan ✓ dalam kotak bagi maklumat yang berkaitan; tandakan satu (1) kotak di bawah sahaja):
I hereby declare the level of access for this thesis/dissertation as follows (tick ✓ the relevant box below; tick only one option).

Pilihan Tahap Akses <i>Access Level Selection</i>		Tafsiran Tahap Akses Tesis/Disertasi <i>Definition of Thesis/Dissertation Access Level</i>
<input type="checkbox"/>	RAHSIA (CONFIDENTIAL)	Mengandungi maklumat rahsia sepertimana yang diperuntukan bawah Akta Rahsia Rasmi 1972. <i>Contains classified information as stipulated under the Official Secrets Act 1972.</i>
<input type="checkbox"/>	TERHAD (RESTRICTED)	Mengandungi maklumat yang hanya boleh diakses oleh pihak yang mempunyai kebenaran atau keperluan tertentu untuk mengetahuinya yang ditentukan oleh organisasi/ badan di mana penyelidikan dijalankan. <i>Contains information that may only be accessed by parties with specific authorization</i>



UKM-SPKPPP-PT(PdP)-05-AK04-BO07

No. Semakan: 02

Tarikh Kuat Kuasa:
27/01/2026**BORANG DAN SENARAI SEMAK PENYERAHAN TESIS/DISERTASI
SELEPAS PEMBETULAN
FORM AND CHECKLIST OF AMENDED THESIS/DISSERTATION
SUBMISSION**

		<i>or a defined need to know, as determined by the organization or body where the research is conducted.</i>
<input checked="" type="checkbox"/>	AKSES TERBUKA (OPEN ACCESS)	Tesis/disertasi versi akhir dalam format PDF yang boleh diakses secara percuma secara dalam talian dan bebas dari isu hak cipta dan pelesenan <i>The final version of the thesis/dissertation in PDF format that is freely accessible online and free from copyright and licensing issues.</i> Kementerian Pendidikan Tinggi melalui surat bertarikh 27 Mac 2025 memutuskan bahawa kebenaran akses tesis / disertasi dalam borang serahan akses terbuka ditentukan oleh penyelia (bukan pelajar). <i>The Ministry of Higher Education, through a letter dated 27 March 2025, has decided that permission for thesis / dissertation access in the open access submission form shall be determined by the supervisor (not the student).</i>
<input type="checkbox"/>	EMBARGO	Tempoh masa di mana akses kepada tesis/disertasi disekat (ditutup) selama dua (2) tahun atas sebab-sebab tertentu sebagai contoh kerahsiaan atau hak cipta. Tesis/disertasi akan berstatus akses terbuka selepas tamat tempoh <i>embargo</i> . <i>The period during which access to the thesis/dissertation is restricted for two (2) years due to specific reasons, such as confidentiality or copyright. The thesis/dissertation will be granted open-access status upon the expiry of the embargo period.</i>

PENGESAHAN PELAJAR (STUDENT VERIFICATION)		PENGESAHAN PENYELIA (SUPERVISOR VERIFICATION)	
 TANDATANGAN PELAJAR (STUDENT'S SIGNATURE)		 TANDATANGAN PENYELIA / Pengerusi JK SISWAZAH (SUPERVISOR'S / CHAIRPERSON SUPERVISION COMMITTEE SIGNATURE)	
Nama Pelajar (Student name): No. Pendaftaran Pelajar (Student's Registration No.)	NUR QISTI BINTI TAJUL URUS P117146	Nama Penyelia / Pengerusi JK Siswazah : (Supervisor's / Chairperson Supervision Committee Name)	DR. NORLIZA MUHAMMAD MBBChBAO (Dublin) PhD (UKM) Profesor Madya Jabatan Farmakologi Fakulti Perubatan Universiti Kebangsaan Malaysia
Tarikh: (Date)	25/05/2026	Tarikh: (Date)	25/5/2026

KESAN ORAL EKSTRAK *CENTELLA ASIATIKA* TERHADAP FIZIKAL DAN
HISTOLOGI KULIT MENCIT YANG DIDEHAHKAN PADA SINARAN
ULTRAUNGU B (UVB)



NUR QISTI BINTI TAJUL URUS

TESIS YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMPEROLEH
IJAZAH SARJANA SAINS PERUBATAN

FAKULTI PERUBATAN
UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
KUALA LUMPUR

2026

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang tiap-tiap satunya telah saya jelaskan sumbernya.

25 Mei 2026

NUR QISTI BINTI TAJUL URUS
P117146



UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA

PENGHARGAAN

Saya bersyukur ke hadrat Ilahi, dengan izin dan rahmat Tuhan, saya berjaya menyiapkan tesis ini. Segala puji bagi-Nya atas kekuatan, kesabaran, dan hikmah yang dikurniakan sepanjang perjalanan ini. Saya juga berasa amat bangga dengan diri saya, Nur Qisti Binti Tajul Urus, atas usaha dan komitmen yang tidak kenal lelah dalam menamatkan penyelidikan dan penulisan tesis ini. Kecekalan dan ketabahan dalam menghadapi pelbagai cabaran sepanjang perjalanan ini menjadi bukti keupayaan saya untuk mencapai kejayaan ini.

Saya ingin merakamkan penghargaan yang tulus kepada Prof. Madya Dr. Norliza Muhammad selaku penyelia utama dan Prof. Dr. Suzana Makpol selaku penyelia bersama, atas bimbingan, sokongan, dan nasihat yang berterusan. Tanpa tunjuk ajar dan sokongan mereka, penyelidikan dan tesis ini tidak mungkin dapat disiapkan.

Saya turut merakamkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Tinggi Malaysia (KPT) atas pembiayaan penyelidikan ini melalui geran Fundamental Research Grant Scheme (FRGS/1/2021/SKK0/UKM/02/13). Ucapan penghargaan juga ditujukan kepada Jabatan Farmakologi, Fakulti Perubatan, Universiti Kebangsaan Malaysia, atas kemudahan penyelidikan yang disediakan dan persekitaran akademik yang kondusif. Tidak dilupakan kepada kakitangan makmal yang banyak membantu, serta rakan-rakan penyelidik di jabatan lain yang telah memberikan kerjasama dan bantuan teknikal sepanjang projek ini.

Saya juga ingin memberikan penghargaan kepada Ayah, Tajul Urus Ismail & dan Ibu, Nurhayati Binti Ramli. Selain itu, saya juga berikan kepada ahli keluarga saya: Mohd Firdaus, Nur Sarah, Nur Syafiah, Mohd Yasser. Selain itu, saya juga ingin memberikan penghargaan kepada rakan-rakan dan rakan sekerja. Penghargaan diberikan atas sokongan, semangat, dan dorongan yang tidak berbelah bahagi kepada saya. Sokongan semasa pengajian yang mencabar dan kesediaan untuk membantu amat saya hargai.

Akhir sekali, terima kasih kepada semua individu yang telah memberikan sokongan, semangat, dan dorongan secara langsung atau tidak langsung sepanjang perjalanan saya dalam menyiapkan penyelidikan dan tesis ini.



ABSTRAK

Sinaran Ultraungu B (UVB) merupakan penyebab utama kerosakan kulit yang boleh membawa kepada masalah seperti eritema, peningkatan melanin dan gangguan fungsi penghalang kulit. Pendedahan berpanjangan kepada UVB boleh mengakibatkan kerosakan yang serius dari segi fizikal dan histologi serta meningkatkan risiko kanser kulit. Kerosakan ini sering berlaku akibat kerosakan asid deoksiribonukleik (DNA) dan tekanan oksidatif. Ini kerana UVB mendorong pembentukan lesi DNA dan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS). Kesan negatif UVB ini boleh menyebabkan peningkatan kerosakan pada peringkat selular. Walaupun banyak kajian penggunaan topikal *Centella asiatica* (CA) untuk perlindungan kulit, terdapat keperluan untuk meneroka kesan ekstrak CA apabila diambil secara oral. Pengambilan secara oral boleh meningkatkan ketahanan kulit terhadap kerosakan yang disebabkan oleh UVB. CA secara oral memberikan perlindungan sistemik dan bioavailabiliti yang baik berbanding dengan penggunaan topikal sahaja. Kajian ini adalah untuk meneroka kesan ekstrak CA yang diberikan secara oral pada kulit mencit yang terdedah kepada sinaran UVB. Kajian ini melibatkan lima kumpulan mencit iaitu sham, kawalan dan kumpulan rawatan iaitu CA, Heliocare® dan pelindung matahari topikal. Kumpulan sham, kawalan dan pelindung matahari topikal diberikan air suling melalui gavaj oral. Kumpulan CA diberikan 500 mg/kg ekstrak CA dan kumpulan Heliocare® menerima 200 mg/kg. Air suling ekstrak CA dan Heliocare® diberikan secara gavaj oral. Pemberian rawatan berlangsung selama 10 hari. Pendedahan terhadap UVB dilakukan pada hari ke-7, 8, 9, dan 10. Dos UVB yang digunakan ialah tiga kali ganda dos minimum eritema (MED) iaitu 600 mJ/cm². Dos ditentukan melalui pendedahan mencit kepada beberapa aras dos, di mana dos yang menghasilkan respon eritema selepas 24 jam dipilih sebagai dos kajian. Semua kumpulan didedahkan terhadap UVB kecuali kumpulan Sham. Setelah rawatan pada hari ke-10, penilaian fizikal dijalankan sebelum haiwan tersebut dikorbankan. Kemudiannya kulit mencit diambil untuk analisa histologi dengan menggunakan alat biopsi dari tikus yang telah dikorbankan. Hasil kajian menunjukkan pemberian ekstrak CA dapat memperbaiki keadaan fizikal kulit secara signifikan iaitu dengan mengurangkan eritema dan kehilangan air transepidermal. Selain itu, ekstrak CA meningkatkan penghidratan kulit dan mengekalkan pH kulit. Hasil analisis histologi mendedahkan pengurangan yang signifikan dalam sel kulit terbakar iaitu keratinosit yang mengalami apoptosis akibat kerosakan DNA yang disebabkan oleh pendedahan kepada sinaran UVB serta penyusupan neutrofil, penebalan epidermis, dan kerosakkan apendej. Selain itu, CA meningkatkan kandungan kolagen dalam lapisan kulit. Pewarnaan imunohistologi untuk dimer timidin, penanda kerosakan DNA, menunjukkan bahawa CA berkesan mengurangkan kerosakan DNA secara signifikan yang disebabkan oleh sinaran UVB. Penemuan ini mencadangkan bahawa CA wajar diberikan perhatian sebagai agen fotoprotektif sistemik yang berkesan. Oleh itu, CA boleh digunakan seiring dengan pelindung matahari topikal bagi memaksimumkan kadar perlindungan terhadap sinaran UVB. CA dapat memodulasi tindak balas kulit akibat pendedahan UVB melalui laluan sistemik. Ini menonjolkan potensi CA sebagai suplemen oral semula jadi untuk meningkatkan perlindungan dan pembaikan kulit terhadap kerosakan yang disebabkan oleh UVB.

EFFECT OF ORALLY ADMINISTERED *CENTELLA ASIATICA* EXTRACT ON THE PHYSICAL AND HISTOLOGICAL PROPERTIES OF SKIN IN MICE EXPOSED TO ULTRAVIOLET B (UVB) RADIATION

ABSTRACT

Ultraviolet B (UVB) radiation is a major cause of skin damage that can lead to problems such as erythema, increased melanin and disruption of the skin barrier function. Prolonged exposure to UVB can cause serious physical and histological damage and increase the risk of skin cancer. This damage often occurs due to damage to deoxyribonucleic acid (DNA) and oxidative stress. This is because UVB induces the formation of DNA lesions and produces reactive oxygen species (ROS). These negative effects of UVB can cause increased damage at the cellular level. Although many studies have been conducted on the topical use of *Centella asiatica* (CA) for skin protection, there is a need to explore the effects of CA when taken orally. Oral intake can increase the skin's resistance to UVB-induced damage. Oral CA extract provides systemic protection and good bioavailability compared to topical use alone. This study was to explore the effects of orally administered CA extract on the skin of mice exposed to UVB radiation. This study involved five groups of mice which is sham, control and treatment groups. The treatment groups include CA, Heliocare® and topical sunscreen. The sham, control and topical sunscreen groups were given distilled water. The CA group was given 500 mg/kg of CA extract and the Heliocare® group received 200 mg/kg. Distilled water, CA extract and Heliocare® were given by oral gavage. Treatment lasted for 10 days. UVB exposure was performed on days 7, 8, 9, and 10. The UVB radiation dose used was 600 mJ/cm² which is three times of the minimal erythema dose (MED). The dose was determined by exposing mice to multiple dose levels, whereby the dose that elicited erythema at 24 hours post-exposure was selected for the study. All groups were exposed to UVB except the Sham group. After treatment on day 10, physical evaluations were performed prior to euthanasia, after which skin samples were excised from the mice using a biopsy tool for subsequent histological analysis. The results of the study showed that the administration of CA extract could significantly improve the physical condition of the skin by reducing erythema and transepidermal water loss. In addition, CA extract increased skin hydration and maintained skin pH. The results of histological analysis revealed a significant reduction in sunburn cells which is UVB damaged keratinocytes undergoing apoptosis as well as neutrophil infiltration, epidermal thickening, and appendage damage. In addition, CA increased collagen content in the skin layer. Immunohistological staining for thymidine dimer, a marker of DNA damage, showed that CA was effective in significantly reducing DNA damage caused by UVB radiation. These findings suggest that CA deserves attention as an effective systemic photoprotective agent. Therefore, CA can be used in conjunction with topical sunscreens to maximize protection against UVB radiation. CA can modulate the skin response to UVB exposure through a systemic pathway. This highlights the potential of CA as a natural oral supplement to enhance skin protection and repair against UVB-induced damage.

KANDUNGAN

	Halaman
PENGAKUAN	ii
PENGHARGAAN	iii
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI ILUSTRASI	xi
SENARAI SINGKATAN	xv
BAB I PENGENALAN	
1.1 Pendahuluan	1
1.2 Kepentingan Kajian	4
1.3 Persoalan Kajian	6
1.4 Objektif Kajian	6
1.4.1 Objektif umum	6
1.4.2 Objektif khusus	6
1.5 Hipotesis	6
BAB II KAJIAN PERPUSTAKAAN	
2.1 Kulit	7
2.2 Struktur Kulit	7
2.2.1 Epidermis	8
2.2.2 Dermis	9
2.2.3 Hipodermis	10
2.3 Fungsi Kulit	11
2.4 Sinaran Ultraungu (UV) dan Kerosakan Kulit	12
2.4.1 Kesan UVA terhadap kulit	12
2.4.2 Kesan UVB terhadap kulit	13
2.4.3 Kesan UVC terhadap kulit	14
2.5 Kaedah Pelindung Matahari	14
2.6 Kelemahan Perlindungan Matahari	15
2.7 <i>Centella Asiatika (CA)</i>	17
2.7.1 Ciri fizikal CA	19

	2.7.2	Metabolit penting <i>CA</i>	19
	2.7.3	Kesan terapeutik <i>CA</i>	22
	2.7.4	Kesan <i>CA</i> terhadap kulit	23
BAB III	KAEDAH KAJIAN		
3.1		Pengesahan Tumbuhan	28
3.2		Penyediaan Ekstrak <i>CA</i>	28
	3.2.1	Alat radas	28
	3.2.2	Reagen	28
	3.2.3	Kaedah	29
3.3		Proses Penyejatan Ekstrak	29
	3.3.1	Alat radas	29
	3.3.2	Kaedah	30
3.4		Haiwan Kajian	30
3.5		Reka Bentuk Kajian	31
3.6		Penyediaan Rawatan	35
	3.6.1	Ekstrak <i>CA</i> sepanjang tempoh rawatan	35
	3.6.2	Heliocare®	35
3.7		Penentuan Berat Badan Mencit	36
3.8		Penentuan doserite ma minimum ($\square \square$ i n i d o s e \square , $\square \square$ D)	36
	3.8.1	Alat radas	36
	3.8.2	Kaedah	37
3.9		Kaedah Suapan Paksa Oral	37
	3.9.1	Alat radas	37
	3.9.2	Kaedah	37
3.10		Proses Pembuangan Bulu Kulit	38
	3.10.1	Reagen	38
3.11		Kaedah Pendedahan Terhadap UVB	38
	3.11.1	Alat radas	38
	3.11.2	Kaedah	38
3.12		Analisa Kulit	39
	3.12.1	Alat radas	39
	3.12.2	Kaedah	39
3.13		Proses Pelalian	39
	3.13.1	Alat radas	39
	3.13.2	Reagen	40
	3.13.3	Penyediaan larutan koktail pelalian	40
	3.13.4	Kaedah	40

3.14	Proses Biopsi Kulit	40
	3.14.1 Alat radas	40
	3.14.2 Reagen	41
	3.14.3 Penyediaan larutan	41
	3.14.4 Kaedah	41
3.15	Pemprosesan Sampel Kulit dan Penyediaan Slaid	42
	3.15.1 Alat radas	42
	3.15.2 Reagen	42
	3.15.3 Kaedah	42
3.16	Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin	43
	3.16.1 Alat radas	43
	3.16.2 Reagen	43
	3.16.3 Kaedah	44
3.17	Pewarnaan Papanikou	45
	3.17.1 Alat radas	45
	3.17.2 Reagen	45
	3.17.3 Kaedah	45
3.18	Pewarnaan Imunohistokimia (IHC) Dimer Timina	46
	3.18.1 Alat radas	46
	3.18.2 Reagen	47
	3.18.3 Kaedah	47
3.19	Analisis statistik	48
BAB IV	DAPATAN KAJIAN	
4.1	Pemerhatian Kulit Fizikal	50
	4.1.1 Pemerhatian visual eritema	50
	4.1.2 Ukuran ketebalan kulit mencit	51
	4.1.3 Tahap kehilangan air transepidermal (TEWL)	52
	4.1.4 Nilai eritema dan melanin	53
	4.1.5 Nilai penghidratan kulit	55
	4.1.6 Pemerhatian keasidan kulit	55
4.2	Pemerhatian Histologi	56
	4.2.1 Kumpulan Sham	56
	4.2.2 Kumpulan Kawalan	57
	4.2.3 Kumpulan CA	57
	4.2.4 Ukuran ketebalan epidermis	59
	4.2.5 Pemerhatian pembentukan sel selaran matahari	60
	4.2.6 Pemerhatian kewujudan neutrofil	61
	4.2.7 Penilaian apendek kulit	62
	4.2.8 Penilaian edema subepidermal pada kulit	63
	4.2.9 Pemerhatian skuamasi sel basal	64
	4.2.10 Penilaian kolagen	65

4.2.11	Pemerhatian pembentukan dimer timina	69
--------	--------------------------------------	----

BAB V	PERBINCANGAN	
5.1	Pendahuluan	74
5.2	Kesan <i>CA</i> Terhadap Ketebalan dan Integriti Struktur Histologi Kulit Yang Terdedah Kepada UVB	75
5.3	Peranan <i>CA</i> Dalam Mengurangkan Eritema dan Tindak Balas Keradangan Akibat Pendedahan UVB	76
5.4	Kesan <i>CA</i> Terhadap Sintesis Kolagen dan Pengekalan Hidrasi Kulit	78
5.5	Kesan <i>CA</i> Terhadap Keseimbangan pH dan Fungsi Lapisan Penghalang Epidermis	80
5.6	Peranan <i>CA</i> dalam Melindungi Kulit daripada Akibat UVB	82
5.7	Pengaruh <i>CA</i> Terhadap Proses Melanogenesis Akibat Pendedahan UVB	84
5.8	Kesan <i>CA</i> Terhadap Pembentukan Sel Selaran Matahari Dalam Kulit Yang Terdedah kepada UVB	86
5.9	Peranan <i>CA</i> Dalam Melindungi Struktur Apendej Kulit Daripada Kerosakan UVB	88
5.10	Kesan Perlindungan <i>CA</i> Terhadap Pembentukan Dimer Timina dan Kerosakan DNA Akibat UVB	90
BAB VI	RUMUSAN DAN CADANGAN	
6.1	Kesimpulan	92
6.2	Cadangan Lanjutan Kajian	93
RUJUKAN		94
Lampiran A	Surat Kelulusan Jabatan Etika Penggunaan Haiwan	107
Lampiran B	Surat Kelulusan Jabatan Etika Penggunaan Haiwan	108
Lampiran C	Sertifikasi Khursus Pengendalian Haiwan	109
Lampiran D	Sertifikasi Khursus Pewarnaan Immunohistologi	110
Lampiran E	Sertifikasi Penglibatan Pertandingan Poster	111
Lampiran F	Sertifikasi Kehadiran Persidangan	112
Lampiran G	Penerbitan	113

SENARAI ILUSTRASI

No. Jadual	Halaman
Jadual 3.1 menunjukkan pembahagian kumpulan mencit kajian serta jenis rawatan yang diberikan kepada setiap kumpulan.	32
Jadual 3.2 menunjukkan jadual rawatan mencit kumpulan Sham.	32
Jadual 3.3 menunjukkan jadual rawatan mencit kumpulan kawalan, <i>CA</i> , Heliocare®, topikal.	33

No . G a m b a r	Ha l a m a n
Gambar 2.1 menunjukkan lapisan kulit dan struktur apendek pada kulit (Sudam & Suresh 2016).	8
Gambar 2.2 menunjukkan bahagian lapisan-lapisan kulit (Sreeraj et al. 2024).	9
Gambar 2.3 menunjukkan tumbuhan <i>Centella asiatica (CA)</i> .	17
Gambar 2.4 menunjukkan susunan pangkat taksonomi bagi tumbuhan <i>CA</i> .	18
Gambar 2.5 menunjukkan ciri-ciri fizikal bagi tumbuhan <i>CA</i> (Hein et al. 2025).	19
Gambar 2.6 menunjukkan struktur kimia yang dikandung oleh tumbuhan <i>CA</i> (Sun et al. 2020).	21
Gambar 2.7 menunjukkan struktur kimia yang dikandung oleh tumbuhan <i>CA</i> (Sun et al. 2020).	21
Gambar 4.1 menunjukkan perbandingan keadaan kulit setelah 10 hari rawatan mengikut 5 kumpulan mencit.	50
Gambar 4.2 menunjukkan histologi kulit kumpulan Sham menunjukkan morfologi kulit yang normal tanpa perubahan patologi. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 μm.	57
Gambar 4.3 menunjukkan histologi kulit kumpulan kawalan selepas pendedahan UVB menunjukkan perubahan morfologi yang	

- ketara berbanding kumpulan Sham. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm. 57
- Gambar 4.4 menunjukkan histologi kulit kumpulan CA selepas 10 hari rawatan menunjukkan struktur kulit yang lebih terpelihara berbanding kumpulan kawalan. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm. 58
- Gambar 4.5 menunjukkan histologi kulit kumpulan Heliocare® selepas 10 hari rawatan menunjukkan perubahan morfologi kulit yang masih ketara selepas pendedahan UVB. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm. 58
- Gambar 4.6 menunjukkan histologi kulit kumpulan topikal selepas 10 hari rawatan menunjukkan perubahan morfologi kulit akibat pendedahan UVB. Pewarnaan Hematoksylin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm. 59
- Gambar 4.7 menunjukkan histologi kulit kumpulan Sham menunjukkan struktur kulit yang normal tanpa perubahan patologi. Ikatan kolagen dalam dermis yang diwarnakan biru oleh pewarnaan r i k r o m a a s s o n s k a l a b a r = 1 0 0 µ m k t i f 0 65
- Gambar 4.8 menunjukkan histologi kulit kumpulan kawalan menunjukkan perubahan struktur kulit. Pengurangan pewarnaan biru bagi i k a t a n k o l a g e n d a l a m d e r m i s . e w a r n a a n objektif 40×; skala bar = 100 µm. 66
- Gambar 4.9 menunjukkan histologi kumpulan CA menunjukkan struktur kulit yang lebih terpelihara dengan peningkatan pewarnaan biru bagi ikatan kolagen dalam dermis. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan lebih tinggi. e w a r n a a n r i k r o m a a s s o n objektif 40×; skala bar = 100 µm. 67
- Gambar 4.10 menunjukkan histologi kumpulan Heliocare® menunjukkan struktur kolagen yang terpelihara. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan tinggi. e w a r n a a n r i k r o m a a s s o n s 40×; skala bar = 100 µm. 67
- Gambar 4.11 menunjukkan histologi kumpulan topikal menunjukkan struktur kolagen yang berkurangan. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan rendah. e w a r n a a n r i k r o m a a s s o n s 40×; skala bar = 100 µm. 68
- Gambar 4.12 menunjukkan histologi kumpulan Sham menunjukkan struktur kulit yang normal tanpa sel selaran matahari. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 µm. 70

Gambar 4.13 menunjukkan histologi kumpulan kawalan menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan memenuhi kawasan pemerhatian. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.	70
Gambar 4.14 menunjukkan histologi kumpulan CA menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.	71
Gambar 4.15 menunjukkan histologi kumpulan Heliocare® menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.	71
Gambar 4.16 menunjukkan histologi kumpulan topikal menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.	72
No G r a f	Ha l a m a n
Graf 4.1 menunjukkan perbandingan eritema secara visual antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min ± SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t.	51
Graf 4.2 menunjukkan perbandingan ketebalan kulit antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min ± SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h.	52
Graf 4.3 menunjukkan perbandingan kehilangan air transepidermal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min ± SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* c.	53
Graf 4.4 menunjukkan perbandingan eritema antara 5 kumpulan mencit Nilai dinyatakan dalam min ± SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s.	54
Graf 4.5 menunjukkan perbandingan penghasilan melanin antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min ± SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan.	54

- Graf 4.6 menunjukkan perbandingan penghidratan antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s. 55
- Graf 4.7 menunjukkan perbandingan nilai pH kulit antara 5 kumpulan anmencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t. 56
- Graf 4.8 menunjukkan perbandingan ketebalan lapisan epidermis kulit antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*. 60
- Graf 4.9 menunjukkan perbandingan sel selaran matahari antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* t. 61
- Graf 4.10 menunjukkan perbandingan penyusupan neutrofil antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*h t. 62
- Graf 4.11 menunjukkan perbandingan kerosakkan apendej antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*c h t. 63
- Graf 4.12 menunjukkan perbandingan edema subepidermal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*c h. 64
- Graf 4.13 menunjukkan perbandingan skuamasi sel basal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*c h. 65
- Graf 4.14 menunjukkan perbandingan pembentukan dimer timina antara 5 kumpulan haiwan. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* t h. 73

SENARAI SINGKATAN

8-Pb 2-Pb G	8-Pb 2-Pb e o 2 y g u a n o s i n e
A 1	A c t v a t o r - 1 p r o t e i n
B 2 2	K a r s i n o m a s e l b a s a l
2 A	C e n t e l l e a 2 a s i a t
2 A G 2	2 o m p o u n d A n n u a l G r o w t h 2 a t e
2 O 2	2 y c l o o 2 2 g e n a s e
2 2 2	2 y c l o b u t a n e p y r i m i d i n e d i m e r s
2 A B	2 , 2 2 2 i a m i n o b e n 2 i d i n e
2 N A	2 e o 2 y r i b o n u c l e i c a c i d
2 O 2 A	2 i h y d r o 2 y p h e n y l a l a n i n e
2 2 2 H	2 , 2 2 i p h e n y l h y d r a 2 y l
2 2 A 2	2 e r r i c 2 e d u c i n g A n 2 o 2 i d a n t 2 o w e r
H 2 2	H e m a t o s i l i n d a n e o s i n
I 2 2	I n s 2 t i t u t e 2 o r 2 m a i n c e e r 2 e s e a r c h
I H 2	I m m u n o h i s t o k i m i a
I 2	I n t e r 2 l e u k i n
I 2 2	I n t e r 2 l e u k i n
I 2	I n t e r 2 l e u k i n
i N O 2	I n d u c i b l e n i t r i c o 2 i d e s y n t h a s e
K 2 I	K a l i u m k l o r i d a
K H 2 2 O 4	K a l i u m 2 o s 2 a t m o n o b a s
M A G 2	G l i k o p r o t e i n b e r k a i t a n m i k r o 2 b r i l
M A 2 K	M i t o 2 g e n e r a t e d p r o t e i n k i n a s e
M 2 2	M i n i m u n e r y t h e m a d o s e

mi k r o	N	Mi cr o r i b o n u c l e i c a d i d
MI		Mi cr o p h a s l o n c i i a t e d t r a n s c r i p t i o n a c t
MM		M a t r i x m e t a l l o p r o t e i n a s e
MM		M a t r i x m e t a l l o p r o t e i n a s e
MM	s	M a t r i x m e t a l l o p r o t e i n a s e s
Na ₂ HPO ₄		N a t r i u m p o s p h a t d i a s a s
NaCl		N a t r i u m k l o r i d a
N ₂		N u c l e a k a p a r a m
NH ₂	s	h e l k u l i t e b r o b l a s
		P o l y p o d i u m l e u c o t o m o s
		P o l y p o d i u m l e u c o t o m o s
	O	P e s i e s o k s i g e n r e a k t i v
		K a r s i n o m a s e l s k u a m o s a
		P a k t o r p e r l i n d u n g a n M a t a h a r i
		P t a c a l p a c k a g e f o r t h e s o c i a l s c i e
		P k s t r a k t r a s i
		P r a n s e p i d e r m a l w a t e r l o s s
	G	P a k t o r p e r t u m b u h a n t r a n s f o r m a s i b
	N	P u m o r n e c r o s l i p s h a c t o r
		P r o s t r e a s k e i t i n p r o t e i n
		P r o s t r e a s k e i t i n p r o t e i n
UKM		U n i v e r s i t i K e b a n g s a a n M a l a y s i a
UKMA		U n i v e r s i t i K e b a n g s a a n M a l a y s i a
UV		U l t r a v i o l e t
UVA		U l t r a v i o l e t A
UVB		U l t r a v i o l e t B

BAB I

PENGENALAN

1.1 PENDAHULUAN

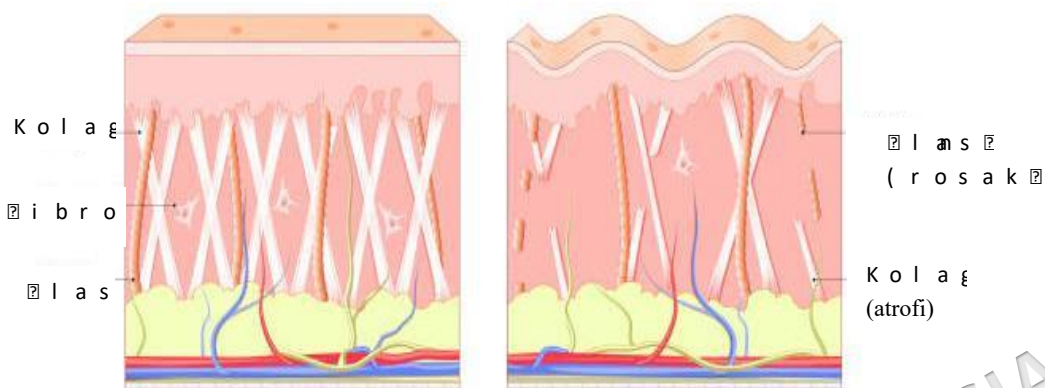
Kerosakan foto, atau lebih tepat lagi 'fotokerosakan', merujuk kepada kerosakan kulit akibat pendedahan kepada cahaya matahari, khususnya sinaran radiasi ultraungu (UV). Fenomena ini mencerminkan perubahan struktur kulit yang terhasil daripada pendedahan berlebihan kepada sinaran UV, terutamanya UVB dan UVA. Radiasi ini menembusi lapisan kulit, mencetuskan pelbagai kesan negatif termasuk kerosakan DNA, tekanan oksidatif, dan keradangan yang menyumbang kepada penuaan pramatang kulit, suatu keadaan yang dikenali sebagai 'fotopenuaan' (Battie & Verschoore 2012). Sinaran UVB merupakan penyebab utama kerosakan DNA secara langsung terhadap epidermis yang membawa kepada mutasi yang boleh mengakibatkan kanser kulit (Gromkowska-□ □ p k a e t a Manakala sinaran UVA pula menembusi dermis dan menyebabkan perubahan struktur pada gentian kolagen dan elastin yang penting untuk mengekalkan keanjalan dan ketegangan kulit (Yang et al. 2023).

Radiasi UV boleh diklasifikasikan kepada tiga jenis utama berdasarkan panjang gelombang iaitu UVA, UVB dan UVC. Radiasi ultraungu UVA mempunyai ukuran gelombang paling panjang. Ini menyumbang kepada kesan terhadap lapisan kulit yang lebih dalam. Tahap penembusan gelombang yang lebih dalam menyebabkan berlakunya proses penuaan yang tidak normal iaitu pramatang yang datang dengan kriteria seperti kedutan dan hiperpigmentasi. Secara tidak langsung jenis radiasi UV ini juga menyebabkan berlakunya kanser kulit disebabkan kerosakkan DNA. UVB pula secara majoritinya memberi kesan kepada lapisan luar kulit dan keadaan ini menyebabkan berlakunya selaran matahari. Sel selaran matahari merujuk kepada

keratinosit yang mengalami apoptosis akibat kerosakan DNA (Narayanan et al. 2010) Kejadian selaran matahari secara berlebihan mendatangkan kerosakkan DNA secara langsung seterusnya meningkatkan risiko terjadinya kanser kulit termasuk melanoma. Selain itu, radiasi UV dengan gelombang yang lebih pendek iaitu UVC kebanyakannya diserap oleh lapisan ozon bumi dan jumlah yang mencecah bumi lebih sedikit atau tidak sampai ke permukaan bumi serta kesannya tidak signifikan. Walau bagaimanapun, sumber buatan seperti lampu germisida boleh menghasilkan UVC yang berpotensi membahayakan seperti kerosakan DNA, sitotoksiti, kerosakan kulit yang teruk, mutasi dan risiko kanser (Xiaoyou et al. 2024). Oleh itu, bagi mengurangkan kerosakkan kulit akibat ketiga-tiga jenis radiasi UV penggunaan pelindung matahari berspektrum luas sangat disarankan.

Kulit yang sihat terdiri daripada beberapa lapisan yang teratur, dengan epidermis sebagai lapisan paling luar yang bertindak sebagai pelindung, dan dermis yang mengandungi gentian kolagen dan elastin yang memberikan kekuatan dan keanjalan seperti ditunjukkan dalam Gambar 1.1. Kulit sihat mempunyai tekstur licin, pigmentasi yang sekata dan penghidratan yang berkesan di mana penting untuk fungsi pelindung dan penampilan keseluruhannya (Valenzuela et al. 2025). Sebaliknya, kulit yang rosak akibat pendedahan UVB yang berpanjangan menunjukkan perubahan struktur yang ketara. Epidermis menjadi lebih nipis dan tidak teratur, pigmentasi menjadi tidak sekata, dan tekstur kulit menjadi kasar. Di dalam dermis, gentian kolagen berpecah-belah dan tidak teratur, manakala gentian elastin berkurangan, membawa kepada kehilangan keanjalan dan pembentukan kedutan (Gromkowska- $\square \square$ p k a e t a l . 2021). Selain itu, kerosakan DNA yang disebabkan oleh UVB dalam sel kulit boleh meningkatkan risiko mutasi dan kanser kulit (Krutmann et al. 2017; Naylor et al. 2011). Memahami struktur kulit dan mekanisme kerosakan UV adalah penting dalam merangka strategi perlindungan dan rawatan kulit yang berkesan. Pengetahuan ini bukan sahaja membantu kita memahami patogenesis penyakit kulit berkaitan UV tetapi juga membolehkan kita membangunkan langkah-langkah pencegahan yang lebih tepat. Dengan pemahaman yang mendalam tentang proses ini, kita dapat merangka rawatan terapeutik yang sesuai untuk melindungi kulit daripada kerosakan sinaran UV, menyokong proses keremajaan kulit dan seterusnya memelihara kesihatan kulit dalam

jangka masa panjang. Pendekatan holistik ini membolehkan kita meminimumkan kesan negatif pendedahan UV dan mengekalkan integriti kulit secara optimum.



Gambar 1.1 ialah ilustrasi yang menunjukkan perbezaan struktur lapisan kulit diantara kulit yang sihat dan kulit yang mengalami kerosakkan (Jesus et al. 2026).

Centella asiatica (CA) ialah salah satu tumbuhan herba yang terkenal di Asia dan biasanya dikenali sebagai pegaga di Malaysia. Tumbuhan ini digunakan secara meluas untuk kegunaan perubatan dalam perubatan tradisional kerana sifat penyembuhan luka, anti-radang dan antioksidannya yang luar biasa (Witkowska et al. 2024). Ia telah mendapat perhatian yang ketara dalam formulasi dermatologi dan kosmetik terutamanya pada zaman sekarang dengan tren penjagaan kulit yang meleluasa kerana bahan yang diberi nama triterpenoid (Bylka, Znajdek-Awi \square e \square , et . a l . 2008). Bahan bioaktifnya triterpenoid termasuk asiaticoside, madecassoside, asid asiatik, dan asid madecassic, yang memainkan peranan penting dalam mengawal percambahan fibroblas, sintesis kolagen, dan pembentukan semula matriks ekstraselular (Hashim et al., 2018). Mekanisme ini menyumbang kepada penyembuhan luka yang dipercepatkan, keanjalan kulit yang lebih baik dan fungsi lapisan penghalang kulit yang dipertingkatkan menjadikan CA sangat bermanfaat untuk penjanaan semula kulit dan rawatan anti-penuaan (Guo et al., 2021). Selain itu, keupayaannya untuk mengurangkan tekanan oksidatif, menghalang sitokin pro-keradangan, dan melindungi daripada kerosakan yang disebabkan oleh UV menekankan lagi peranannya dalam mencegah penuaan pramatang dan pelbagai gangguan kulit (Lee et al., 2019; Zhao et al., 2020). Kajian juga telah menunjukkan keberkesanannya dalam meningkatkan penghidratan

kulit dan memulihkan integriti penghalang menjadikannya komponen penting dalam formulasi dermatologi dan penjagaan kulit moden (Milani & Sparavigna 2017; Sun et al. 2020). Dengan kesan terapeutik yang disokong secara saintifik, *CA* terus menjadi sebatian bioaktif semula jadi yang menjanjikan untuk menggalakkan kesihatan kulit dan merawat keadaan dermatologi.

1.2 KEPENTINGAN KAJIAN

Radiasi UVB memberi kesan negatif kepada kesihatan kulit dan memerlukan strategi perlindungan yang lebih berkesan. Pasaran produk penjagaan matahari global bernilai sekitar USD 13.86 bilion pada tahun 2023 dan dijangka mencapai USD 22.28 bilion menjelang tahun 2032 dengan kadar pertumbuhan tahunan kompaun CAGR sebanyak 5.16%. CAGR digunakan untuk menggambarkan kadar pertumbuhan purata tahunan pasaran pelindung matahari dalam tempoh tertentu dengan andaian pertumbuhan berlaku secara konsisten. Peningkatan CAGR ini disebabkan oleh kesedaran awam yang semakin tinggi tentang risiko kanser kulit dan penuaan pramatang akibat sinaran UV.

Langkah perlindungan konvensional seperti krim pelindung matahari menawarkan perlindungan yang terhad dan mempunyai beberapa kelemahan. Ini termasuk keperluan untuk sapuan semula yang kerap, terutamanya selepas berpeluh atau berenang. Pengguna juga sering keliru tentang cara pemakaian yang betul, dengan kebanyakan orang tidak menyedari keperluan untuk menyapu semula krim pelindung matahari setiap dua jam untuk perlindungan optimum. Selain itu, keberkesanan krim pelindung matahari boleh terjejas akibat faktor seperti jumlah yang disapu tidak mencukupi, taburan yang tidak sekata, dan kehilangan produk akibat geseran dengan pakaian atau tuala (De Villa et al. 2011; Nicholson et al. 2025; Norman et al. 2023). Tambahan pula, sesetengah formulasi mengandungi bahan kimia yang boleh menyebabkan iritasi kulit atau reaksi alergi, terutamanya bagi individu yang mempunyai kulit sensitif (Mahajan et al. 2024). Oleh itu, pendekatan perlindungan tambahan seperti pelindung sinaran UV oral semakin mendapat perhatian sebagai

strategi pelengkap yang dapat meningkatkan daya tahan kulit terhadap sinaran UV dari laluan sistemik tanpa bergantung sepenuhnya kepada aplikasi topikal.

Selain perlindungan topikal, perlindungan sinaran UV oral semakin mendapat perhatian sebagai pendekatan tambahan dalam melindungi kulit daripada kesan negatif radiasi UVB. Perlindungan sinaran UV oral merujuk kepada penggunaan bahan aktif secara sistemik yang dapat meningkatkan daya tahan kulit terhadap sinaran UV, mengurangkan kerosakan oksidatif, serta menyokong mekanisme pemulihan kulit (Natarelli et al. 2025). Berbeza dengan krim pelindung matahari yang hanya melindungi kawasan yang disapu, suplemen oral menawarkan perlindungan menyeluruh ke seluruh tubuh tanpa bergantung kepada pemakaian yang betul atau keperluan sapuan semula.

Kajian terkini menunjukkan bahawa bahan bioaktif seperti antioksidan semula jadi, polifenol dan ekstrak tumbuhan berpotensi mengurangkan kerosakan DNA akibat pendedahan UVB serta menekan tindak balas keradangan. Selain itu, bahan-bahan ini juga mampu meningkatkan pertahanan kulit melalui pengaktifan sistem imun dan merangsang sintesis kolagen (Gupta et al. 2023). Dalam konteks ini, *CA* telah dikenali sebagai agen fotoprotektif yang berpotensi kerana kandungan triterpenoidnya yang mempunyai sifat antioksidan dan anti-radang. Selain itu, tumbuhan ini juga berupaya merangsang pembaikan kulit serta mengurangkan kesan penuaan yang disebabkan oleh pendedahan kepada sinaran UV ([w a n i e w s k a . K e s i m p u l a n i n y a , C A 2 0 2 1](#)) dan bahan bioaktifnya berpotensi melindungi kulit daripada kerosakan UVB dengan mengurangkan kerosakan DNA, menekan keradangan dan menyokong pembaikan serta pertahanan kulit.

Oleh itu, kajian ini bertujuan untuk menyelidik keberkesanan ekstrak *CA* dalam perlindungan kulit terhadap radiasi UVB melalui mekanisme perlindungan foto oral. Dengan memahami mekanisme tindakannya secara lebih mendalam, kajian ini dapat menyediakan bukti saintifik bagi menyokong penggunaannya sebagai alternatif atau pelengkap kepada pelindung matahari topikal. Keputusan daripada kajian ini diharapkan dapat menyumbang kepada pembangunan produk perlindungan sinaran UV oral yang lebih efektif, mudah digunakan, dan mampu meningkatkan perlindungan kulit

secara menyeluruh, sekali gus mengatasi batasan yang terdapat dalam kaedah perlindungan sedia ada.

1.3 PERSOALAN KAJIAN

Adakah pengambilan oral ekstrak CA dapat mencegah kerosakan DNA dan melindungi kulit daripada pendedahan UVB?

1.4 OBJEKTIF KAJIAN

1.4.1 Objektif umum

Untuk menentukan kesan oral ekstrak CA terhadap kulit pada model mencit yang terdedah kepada radiasi UVB.

1.4.2 Objektif khusus

1. Untuk menentukan kesan oral ekstrak CA terhadap kerosakan kulit yang terdedah kepada radiasi UVB.
2. Untuk menentukan kesan oral ekstrak CA terhadap histologi mencit yang terdedah kepada radiasi UVB.
3. Untuk menentukan kesan oral ekstrak CA terhadap kerosakan DNA pada mencit yang terdedah kepada radiasi UVB.

1.5 HIPOTESIS

1. Ekstrak oral CA akan mencegah kerosakan kulit mencit yang disebabkan oleh radiasi UVB dengan meningkatkan parameter fizikal.
2. Ekstrak oral CA akan mencegah kerosakan kulit mencit yang disebabkan oleh radiasi UVB dengan memperbaiki parameter histologi.
3. Ekstrak oral CA akan mencegah kerosakan DNA pada mencit disebabkan oleh radiasi UVB dengan menghalang pembentukan dimer timina.

BAB II

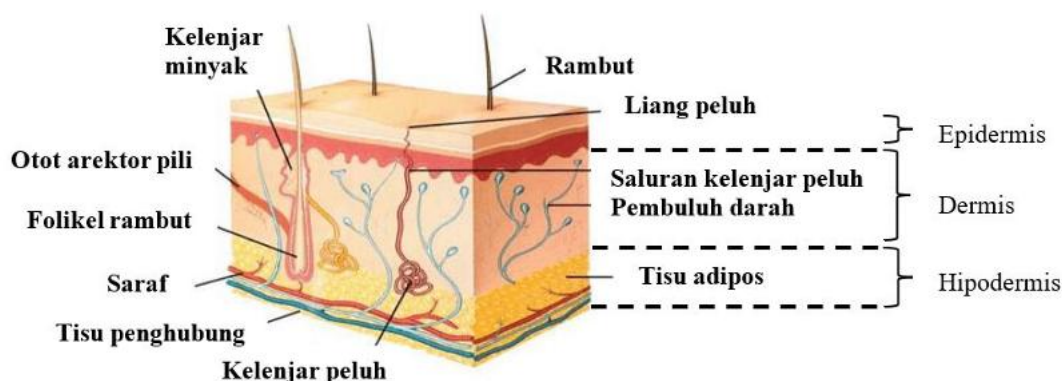
KAJIAN PERPUSTAKAAN

2.1 KULIT

Kulit manusia merupakan organ yang menakjubkan dan berfungsi sebagai pelindung utama tubuh terhadap persekitaran luar. Sebagai organ terbesar, kulit meliputi kawasan permukaan sekitar 1.5 hingga 2 meter persegi pada orang dewasa dan menyumbang kira-kira 15% daripada jumlah berat badan (Lai-Cheong & McGrath 2017). Selain saiznya yang besar, kulit adalah organ yang kompleks dan mempunyai pelbagai fungsi, menjadikannya subjek yang menarik untuk kajian saintifik. Bidang kajian tentang kulit, atau dermatologi, telah mengalami perkembangan pesat, daripada amalan tradisional kepada kemajuan perubatan moden. Memahami struktur dan fungsi kulit adalah penting untuk membangunkan rawatan bagi pelbagai masalah kulit serta meningkatkan kesihatan keseluruhan kulit.

2.2 STRUKTUR KULIT

Setiap struktur kulit mempunyai peranan tersendiri dan memainkan peranan penting untuk membentuk kulit yang sihat. Kulit terdiri daripada tiga lapisan utama seperti yang ditunjukkan dalam Gambar 2.1 dan Gambar 2.2: epidermis, dermis, dan hipodermis, yang masing-masing mempunyai peranan tersendiri. Epidermis bertindak sebagai lapisan penghalang dan perlindungan utama yang melindungi tubuh daripada faktor persekitaran seperti mikroorganisma, bahan kimia dan sinaran UV (Chen & Hao 2025). Dermis memberikan sokongan struktur, dan hipodermis berfungsi sebagai penebat dan pelindung kepada tubuh. Gabungan fungsi lapisan-lapisan ini membolehkan kulit melaksanakan pelbagai peranan, termasuk perlindungan terhadap patogen, pengawalan suhu badan, persepsi deria, dan sintesis nutrien penting seperti vitamin D (McKnight et al. 2022).

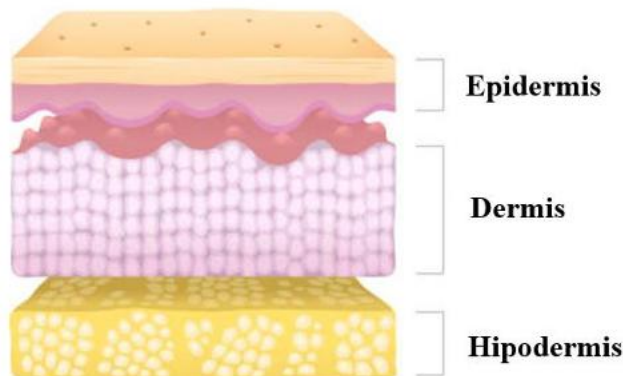


Gambar 2.1 menunjukkan lapisan kulit dan struktur apendaj pada kulit (Sudam & Suresh 2016).

2.2.1 Epidermis

Epidermis ialah lapisan paling luar kulit seperti ditunjukkan di Gambar 2.2 yang terutamanya terdiri daripada epitelium skuamosa berstrata keratin. Lapisan ini berbeza-beza dalam ukuran ketebalan bergantung pada kawasan badan contohnya lapisan epidermis ini lebih tebal. Ini kerana kawasan ini melibatkan banyak geseran seperti tapak tangan dan tapak kaki. Lapisan pelindung ini terdiri daripada lima strata yang berbeza iaitu lapisan yang pertama ialah stratum korneum yang merupakan lapisan paling luar yang terdiri daripada keratinosit mati. Lapisan ini bertindak sebagai penghalang terhadap kerosakan daripada sekitar dan kehilangan air (Yousef et al. 2017). Seterusnya, lapisan kedua ialah lapisan stratum lucidum. Lapisan ini ialah lapisan yang lut sinar dan hanya terdapat dalam kulit tebal yang bertindak sebagai penghalang tambahan dan terdiri daripada keratinosit mati (Ganceviciene et al. 2012). Selain itu, lapisan ketiga dinamakan stratum granulosum. Pada lapisan ini, keratinosit mula kehilangan nukleus dan organel sambil mengumpul butiran keratohyalin yang memudahkan proses keratinisasi (Matsui 2023). Seterusnya, bagi lapisan keempat ia dikenali sebagai stratum spinosum yang terdiri daripada beberapa lapisan keratinosit yang disambungkan oleh desmosome. Lapisan ini memberikan kekuatan dan fleksibiliti kepada struktur kulit (Arda et al. 2014; Yousef et al. 2017). Manakala lapisan terakhir iaitu lapisan yang kelima adalah stratum basal yang merupakan lapisan terdalam. Lapisan ini mengandungi sel basal aktif mitosis yang menjana keratinosit baharu, melanosit yang menghasilkan melanin dan sel Merkel yang terlibat dalam persepsi deria (Agrawal et al. 2023). Struktur berlapis ini bukan sahaja memainkan peranan penting

dalam melindungi badan daripada ancaman luaran tetapi juga menyumbang kepada fungsi dan daya tahan keseluruhan kulit.



Gambar 2.2 menunjukkan bahagian lapisan-lapisan kulit (Sreeraj et al. 2024).

2.2.2 Dermis

Dermis ialah lapisan yang terletak di bawah epidermis yang mana ia jauh lebih tebal dan terdiri daripada tisu penghubung. Lapisan ini memainkan peranan penting dalam menyokong dan melindungi kulit. Ia terbahagi kepada dua lapisan, iaitu dermis papilari dan dermis retikular. Dermis papilari merupakan lapisan atas yang terdiri daripada tisu penghubung longgar dan mengandungi papila dermal yang berhubung rapat dengan epidermis. Struktur ini meningkatkan pertukaran nutrien dan memberikan penderiaan sentuhan melalui korpuskel Meissner (Monteiro-Riviere 2020). Dermis retikular merupakan lapisan bawah yang lebih tebal dalam dermis. Ia terdiri daripada tisu penghubung padat tidak teratur yang memberikan kekuatan dan keanjalan melalui kehadiran gentian kolagen dan elastin. Lapisan ini kaya dengan saluran darah, saluran limfa, folikel rambut, kelenjar sebum (minyak) dan kelenjar peluh yang semuanya menyumbang kepada keseluruhan fungsi kulit (Krishna 2021). Kolagen dan gentian elastik tertanam dalam matriks dermis yang berbentuk gel likat. Gel ini terdiri daripada kolagen bukan fibrillar, proteoglikan dan glikoprotein berkaitan mikrofibril (MAGP). Komponen ini mempunyai keupayaan tinggi untuk mengikat air sekali gus membantu mengekalkan kelembapan dan kestabilan struktur kulit. Komposisi struktur dermis membolehkannya mengekalkan integriti kulit sambil memudahkan pelbagai proses fisiologi menjadikannya penting untuk kesihatan kulit secara keseluruhan. Fibrosit ialah sel yang bertanggungjawab untuk mensintesis komponen dermis. Sel ini banyak

didapati dalam tisu muda berbanding tisu yang lebih tua (Humbert et al. 2020). Susunan komponen dalam dermis membolehkan kulit kekal kukuh dan berfungsi dengan baik. Pada masa yang sama, ia menyokong pelbagai proses biologi yang penting untuk mengekalkan kesihatan kulit secara keseluruhan.

2.2.3 Hipodermis

Hipodermis dikenali sebagai lapisan subkutanus. Lapisan ini adalah lapisan kulit yang paling dalam yang terdiri daripada tisu adiposa dan tisu penghubung longgar. Ia mempunyai beberapa fungsi penting, termasuk penebat, kusyen, penyimpanan tenaga dan penguat pada struktur asas kulit. Lapisan lemak atau tisu adiposa dalam hipodermis membantu mengawal suhu badan di mana tisu adiposa ini bertindak sebagai penebat yang berkesan terhadap kehilangan haba (Chanda & Singh 2023). Selain itu, hipodermis melindungi otot dan tulang yang daripada trauma luaran dengan bertindak sebagai kusyen dengan menyerap tenaga dan mengagihkan tekanan secara merata ke seluruh badan (Winston et al. 2023). Tisu adiposa dalam hipodermis berfungsi sebagai tempat simpanan tenaga badan. Sel lemak menyimpan tenaga berlebihan dalam bentuk trigliserida yang boleh digunakan semula apabila diperlukan (Agrawal et al. 2023). Tisu penghubung dalam lapisan ini menghubungkan kulit ke otot dan tulang dengan memastikan kekal di tempatnya dan membolehkan pergerakan lancar (Humbert et al. 2020). Ketebalan hipodermis berbeza-beza di seluruh badan, dengan tisu lemak terkumpul di kawasan yang berbeza berdasarkan hormon dan genetik. Apabila individu semakin tua, hipodermis cenderung menjadi nipis, membawa kepada kulit kendur kerana tisu penghubung yang menghubungkan dermis ke otot dan tulang berkurangan (Liu, Lu, et al. 2024). Lapisan kulit ini berperanan penting sebagai penebat dan pelindung dengan memberikan sokongan mekanikal kepada tisu di bawahnya. Selain itu, ia juga berfungsi sebagai tempat simpanan tenaga dan menyokong struktur kulit sekali gus membantu mengekalkan fungsi sistem integumen secara keseluruhan.

2.3 FUNGSI KULIT

Kulit melaksanakan banyak fungsi penting untuk mengekalkan kesihatan dan kesejahteraan keseluruhan. Antaranya ia bertindak sebagai pertahanan penghalang fizikal, kimia dan imunologi daripada pelbagai ancaman luaran, seperti patogen, bahan kimia, dan kecederaan fizikal (Liu, Lu, et al. 2024; Winston et al. 2023). Stratum corneum pada epidermis yang mengandungi dinding sel kulit mati dapat melindungi kulit daripada kerosakan dan jangkitan (Yousef et al. 2017). Kulit juga menghasilkan peptida antimikrob yang boleh mengimbangi pHnya untuk memberikan pertahanan tambahan terhadap patogen yang menyerang (Chanda & Singh 2023). Seterusnya, kulit berfungsi sebagai deria rasa di mana ia mengandungi pelbagai reseptor deria dalam dermis dimana ia dapat mengesan sentuhan, tekanan, kesakitan, dan suhu (Schiffman 2019). Reseptor seperti sel Meissner dan sel Merkel, menghantar maklumat deria ke sistem saraf pusat, membolehkan manusia bertindak balas terhadap rangsangan luaran (Marzvanyan & Alhawaj 2019). Selain itu, kulit boleh berfungsi sebagai termoregulasi dalam mengawal suhu badan. Lapisan kulit yang lebih dalam mengandungi sel lemak yang membantu melindungi tubuh. Selain itu, kulit mengawal suhu badan melalui peluh dan perubahan saiz salur darah untuk melepaskan atau mengekalkan haba. (Chanda & Singh 2023; Ganceviciene et al. 2012). Fungsi termoregulasi ini membantu mengekalkan suhu badan dalaman menjadi stabil walaupun terdapat perubahan pada persekitaran luaran. Selain itu, kulit mempunyai fungsi imun dimana ia menempatkan pelbagai sel imun, termasuk sel Langerhans, sel dendritik dan sel T. Sel imun ini berfungsi bersama dengan sel struktur pemastautin kulit untuk melindungi daripada jangkitan dan kecederaan (Agrawal et al. 2023). Sel-sel ini mengambil bahagian dalam kedua-dua tindak balas imun semula jadi dan adaptif dalam membantu mengekalkan integriti penghalang kulit (Eyerich et al. 2018). Akhir sekali, kulit bertanggungjawab untuk mensintesis vitamin D apabila terdedah kepada sinaran UVB daripada cahaya matahari (Holick 2020). Vitamin D adalah penting untuk mengekalkan homeostasis kalsium dan menggalakkan kesihatan tulang, dan ia juga mempunyai pelbagai fungsi fisiologi lain di seluruh badan. Kulit adalah organ yang kompleks dengan lapisan dan fungsi yang berbeza untuk mengekalkan kesihatan dan homeostasis secara keseluruhan. Memahami anatomi dan histologi kulit adalah penting untuk mengenal pasti perubahan

serta merawat masalah kulit dengan lebih berkesan. Pengetahuan ini juga membantu mengekalkan kesihatan kulit sepanjang proses penuaan.

2.4 SINARAN ULTRAUNGU (UV) DAN KEROSAKAN KULIT

Sinaran UV ialah komponen penting cahaya matahari yang menimbulkan pelbagai risiko kepada kulit manusia. Radiasi UV ialah sebahagian daripada cahaya matahari yang memberi kesan besar kepada kesihatan kulit. Ia terbahagi kepada tiga jenis utama: UVA, UVB, dan UVC. Sinaran UVC diserap hampir sepenuhnya oleh lapisan ozon bumi. Manakala UVA dan UVB berjaya menembusi atmosfera dan sampai ke permukaan. Radiasi ini memberi kesan langsung terhadap struktur dan fungsi kulit (Xiaoyou et al. 2024). Memahami perbezaan antara jenis radiasi ini adalah penting untuk melindungi kulit dengan berkesan. Walaupun radiasi UV tidak dapat dilihat oleh mata manusia, ia boleh memberi kesan serius kepada tisu biologi. Sinar UVA dan UVB boleh menembusi kulit dan menyebabkan kerosakan jangka pendek serta jangka panjang seperti selaran matahari, penuaan pramatang dan peningkatan risiko kanser kulit (Kim et al. 2024). Oleh itu, langkah perlindungan seperti penggunaan pelindung matahari dan pakaian pelindung bagi mengelakkan pendedahan matahari pada waktu puncak adalah sangat penting.

2.4.1 Kesan UVA terhadap kulit

Sinar UVA mempunyai gelombang paling panjang dan mampu menembusi jauh ke dalam dermis dan merupakan lapisan kulit yang paling tebal. UVA tidak menyebabkan kerosakan DNA secara langsung, sebaliknya menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang mencetuskan tekanan oksidatif dalam sel kulit. Pendedahan kepada UVA merosakkan kolagen dan serat elastin. Ini menyebabkan kedutan, kehilangan keanjalan serta hiperpigmentasi (Krutmann et al. 2017). ROS ini mengaktifkan laluan isyarat seperti activator protein-1 (AP-1) dan nuclear factor-kappa B (NF- κ B). Seterusnya, laluan isyarat ini merangsang penghasilan enzim matrix metalloproteinases (MMPs) yang memecahkan kolagen dan elastin dalam matriks ekstraselular (Jin et al. 2022). Proses ini dikenali sebagai penuaan akibat cahaya yang menyebabkan kulit menjadi lebih kasar dan kemunculan tompok-tompok penuaan.

Selain itu, UVA juga boleh merosakkan DNA melalui tekanan oksidatif dari ROS. Tekanan ini menyebabkan pembentukan 8-oxo-deoxyguanosine (8-oxo-dG) yang merupakan lesi kerosakkan oksidatif dan menjadi indikasi utama kepada kelainan DNA dalam sel. Kerosakkan ini boleh membawa kepada mutasi jika tidak diperbaiki. (Urbaniak et al. 2020) (Hahm et al. 2022) Mutasi ini meningkatkan risiko kanser kulit seperti melanoma (Jin et al. 2022). Kesan UVA juga lebih halus tetapi tetap berbahaya. Sinar UVA juga boleh menembusi awan dan kaca, menjadikannya berisiko walaupun pada hari mendung atau ketika berada di dalam bangunan berhampiran tingkap (Wang et al. 2019; Yang et al. 2023). Oleh itu, penggunaan pelindung matahari spektrum luas setiap hari amat digalakkan bagi melindungi kulit daripada kesan UVA dan UVB.

2.4.2 Kesan UVB terhadap kulit

Sinar UVB mempunyai gelombang lebih pendek dan memberi kesan utama pada lapisan kulit paling luar iaitu lapisan epidermis. UVB merupakan penyebab utama selaran matahari. Ini kerana UVB merosakkan DNA secara langsung melalui pembentukan dimer pirimidina siklobutana atau dimer timina yang mengganggu struktur normal (Merin et al. 2022). Dimer timina ialah kecacatan DNA yang berlaku apabila dua bes timina bersebelahan bergabung secara tidak normal (Shah & He 2015). Apabila kerosakan ini tidak dapat diperbaiki, sel akan mencetuskan proses apoptosis, menghasilkan pembentukan sel selaran matahari dalam epidermis sebagai tanda kerosakan tisu akibat pendedahan UVB.

Selaran matahari mencetuskan tindak balas keradangan yang menyebabkan kemerahan, bengkak, dan kesakitan (Merin et al. 2022). Gejala ini dihasilkan melalui sitokin pro-radang seperti interleukin-1 (IL-1) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) (Ansary et al. 2021). Pada masa yang sama, kerosakan DNA akibat UVB mengaktifkan protein p53 yang berfungsi sebagai penjaga genom dalam mengawal pembaikan DNA atau mencetuskan apoptosis. Sekali gus ia membawa kepada pembentukan sel selaran matahari dalam epidermis sebagai tanda kerosakan tisu akibat pendedahan UVB (Carvalho et al. 2024). Secara keseluruhannya, mekanisme UVB terhadap kulit melibatkan kedua-dua tindak balas keradangan dan pengaktifan laluan apoptosis

Pendedahan UVB secara berterusan turut meningkatkan risiko kanser kulit seperti karsinoma sel basal (BCC) dan karsinoma sel skuamosa (SCC) (Wunderlich et al. 2024). Risiko ini bergantung kepada keamatan sinaran UVB. Ia berubah mengikut musim, altitud dan waktu. Contoh keamatan tahap tertinggi adalah pada waktu siang terutama pada lewat pagi hingga tengah hari (Diffey 2018; Sasaki et al. 2011). Pendedahan yang berpanjangan bukan sahaja menyebabkan penuaan pramatang, malah turut melemahkan sistem imun dan mengurangkan keupayaan kulit untuk memperbaiki kerosakan DNA (Agrez et al. 2023; Tang et al. 2024). Oleh itu, pelindung matahari dengan Faktor Perlindungan Matahari (SPF) iaitu tahap perlindungan terhadap sinaran UV tinggi disarankan. Selain itu, menggunakan pakaian pelindung serta mengelakkan pendedahan pada waktu puncak adalah penting bagi mencegah kerosakan kulit.

2.4.3 Kesan UVC terhadap kulit

Sinar UVC mempunyai gelombang paling pendek dan tenaga tertinggi tetapi kebanyakannya diserap oleh lapisan ozon bumi. Namun, sumber buatan seperti lampu germisidal yang digunakan untuk pembasmian kuman boleh mengeluarkan sinar UVC (Memarzadeh 2021). UVC bukan ancaman dalam pendedahan harian di luar rumah kerana ia tidak mencapai permukaan bumi dalam jumlah yang signifikan. UVA dan UVB mempunyai kesan yang lebih menonjol.

2.5 KAEDAH PELINDUNG MATAHARI

Pada masa kini, dalam pasaran kosmetik terdapat pelbagai produk perlindungan dari pancaran UV. Lazimnya produk perlindungan ini dikomersialkan dalam bentuk stik, losyen, semburan, gel, buih dan serbuk (Ngoc et al. 2019). Majoriti produk perlindungan ini adalah topikal iaitu dengan cara penggunaan disapu di bahagian luar kulit (Perugini et al. 2019). Salah satu strategi untuk menghalang radiasi UV ialah dengan penggunaan pelindung matahari berspektrum luas dengan SPF minimum 30 (Guan et al. 2021). SPF mengukur keberkesanan pelindung matahari dalam melindungi kulit daripada sinaran UVB, yang merupakan punca utama selaran matahari dan menyumbang kepada perkembangan kanser kulit. Nilai SPF yang lebih tinggi menunjukkan tempoh perlindungan yang lebih lama terhadap kerosakan akibat UVB. Ini menunjukkan pelindung matahari dengan SPF yang tinggi dapat melambatkan kesan

kerusakan kulit akibat UVB berbanding tanpa perlindungan. Pelindung matahari spektrum luas (broad-spectrum sunscreen) melindungi daripada kedua-dua sinaran UVB dan UVA, di mana UVA dikaitkan dengan penuaan kulit pramatang dan kerosakan dermis yang lebih mendalam. Untuk diklasifikasikan sebagai pelindung matahari spektrum luas, sekurang-kurangnya 90% penyerapan UV mesti berlaku pada panjang gelombang ≥ 300 nm, yang (Portilho et al. 2022).

Pelindung matahari terbahagi kepada fizikal dan kimia. Pelindung matahari fizikal, yang mengandungi zink oksida atau titanium dioksida, berfungsi sebagai penghalang yang memantulkan dan menyebarkan sinaran UV, menjadikannya sesuai untuk kulit sensitif. Sebaliknya, pelindung matahari kimia, yang mengandungi sebatian aktif seperti oxybenzone dan avobenzone, menyerap sinaran UV dan menukarnya kepada haba, memerlukan 20-30 minit selepas aplikasi untuk menjadi berkesan. Gabungan penapis fizikal dan kimia sering digunakan untuk memberikan perlindungan spektrum luas, memastikan perlindungan menyeluruh bergantung pada keperluan kulit individu dan pendedahan kepada persekitaran (Portilho et al. 2022). Walau bagaimanapun, produk fizikal ini mempunyai beberapa kelemahan yang membuatkan pengalaman pengguna produk tersebut tidak selesa dan kurang efektif.

2.6 KELEMAHAN PERLINDUNGAN MATAHARI

Pelindung matahari topikal diiktiraf secara meluas sebagai langkah perlindungan penting terhadap pendedahan UV. Walau bagaimanapun, mereka datang dengan beberapa kelemahan yang boleh menjejaskan keberkesannya. Satu isu utama ialah ketidakkonsistenan dalam penggunaan kerana ramai individu tidak menggunakan pelindung matahari yang mencukupi untuk mencapai SPF yang dilabelkan. Kajian telah menunjukkan bahawa untuk mencapai SPF penuh, orang dewasa mesti menggunakan kira-kira 35 ml pelindung matahari pada keseluruhan permukaan badan (González et al. 2022).

Selain itu, pelindung matahari boleh kehilangan keberkesannya disebabkan oleh faktor seperti berpeluh, berenang, dan pengeringan tuala (Sander et al. 2020). Selain itu, sesetengah pelindung matahari kimia boleh menyebabkan kerengsaan kulit atau tindak

balas alahan terutamanya pada individu yang sensitif yang membawa kepada ketidakselesaian dan pengurangan penggunaan (González et al. 2022). Terdapat juga kebimbangan bahawa pergantungan pada pelindung matahari boleh memupuk rasa selamat yang palsu dan menggalakkan individu menghabiskan masa yang berlebihan di bawah sinar matahari (Autier et al. 2007). Faktor-faktor ini menyerlahkan keperluan untuk pendekatan komprehensif terhadap perlindungan matahari yang termasuk penyepaduan strategi perlindungan lain.

Penggunaan pelindung matahari oral berasaskan tumbuhan telah mendapat perhatian sebagai bahan yang berpotensi melindungi kulit dari sinaran UV. Pelindung matahari oral memberikan perlindungan sistemik melalui mekanisme antioksidan yang membantu mengurangkan tekanan oksidatif, keradangan dan kerosakan DNA akibat sinaran UV. Bahan aktif seperti polifenol dan ekstrak tumbuhan turut meningkatkan sistem antioksidan endogen serta meningkatkan toleransi kulit terhadap sinaran UV dengan mengurangkan pembentukan eritema dan kerosakan sel kulit (Natarelli et al. 2025; Parrado et al. 2018). Selain itu, pelindung oral boleh menjadi pelindung tambahan seiring dengan pelindung matahari topikal bagi mendapatkan hasil yang lebih efektif. Suplemen oral dari ekstrak botani memberikan perlindungan sistemik bermanfaat bagi individu yang kerap terdedah kepada cahaya matahari.

Sifat fotoprotektif ekstrak botani yang mengandungi sebatian semula jadi mampu mengurangkan kesan sinaran UV, mengurangkan tekanan oksidatif, dan menghalang tindak balas keradangan. Secara sistemik, sebatian bioaktif seperti polifenol akan diserap melalui saluran gastrointestinal, memasuki peredaran darah dan diagihkan ke tisu kulit. Di dalam kulit, sebatian ini tidak menyerap sinaran UV secara langsung seperti pelindung matahari topikal tetapi bertindak meneutralkan spesies oksigen reaktif (ROS), mengurangkan keradangan dan menyokong mekanisme pembaikan DNA. Sebagai contoh, ekstrak daripada tumbuhan seperti *Echinacea* spp. dan spesies *Buddleja* telah menunjukkan aktiviti antioksidan dan keupayaan untuk mengurangkan kerosakan kulit yang disebabkan oleh pendedahan UV (Green et al. 2011; Mishra et al. 2011). Sebatian seperti flavonoid dan asid fenolik yang terdapat dalam tumbuhan ini telah terbukti mengais radikal bebas dan memodulasi laluan isyarat yang berkaitan dengan keradangan kulit dan karsinogenesis (Adhami et al. 2008). Terkini, ekstrak

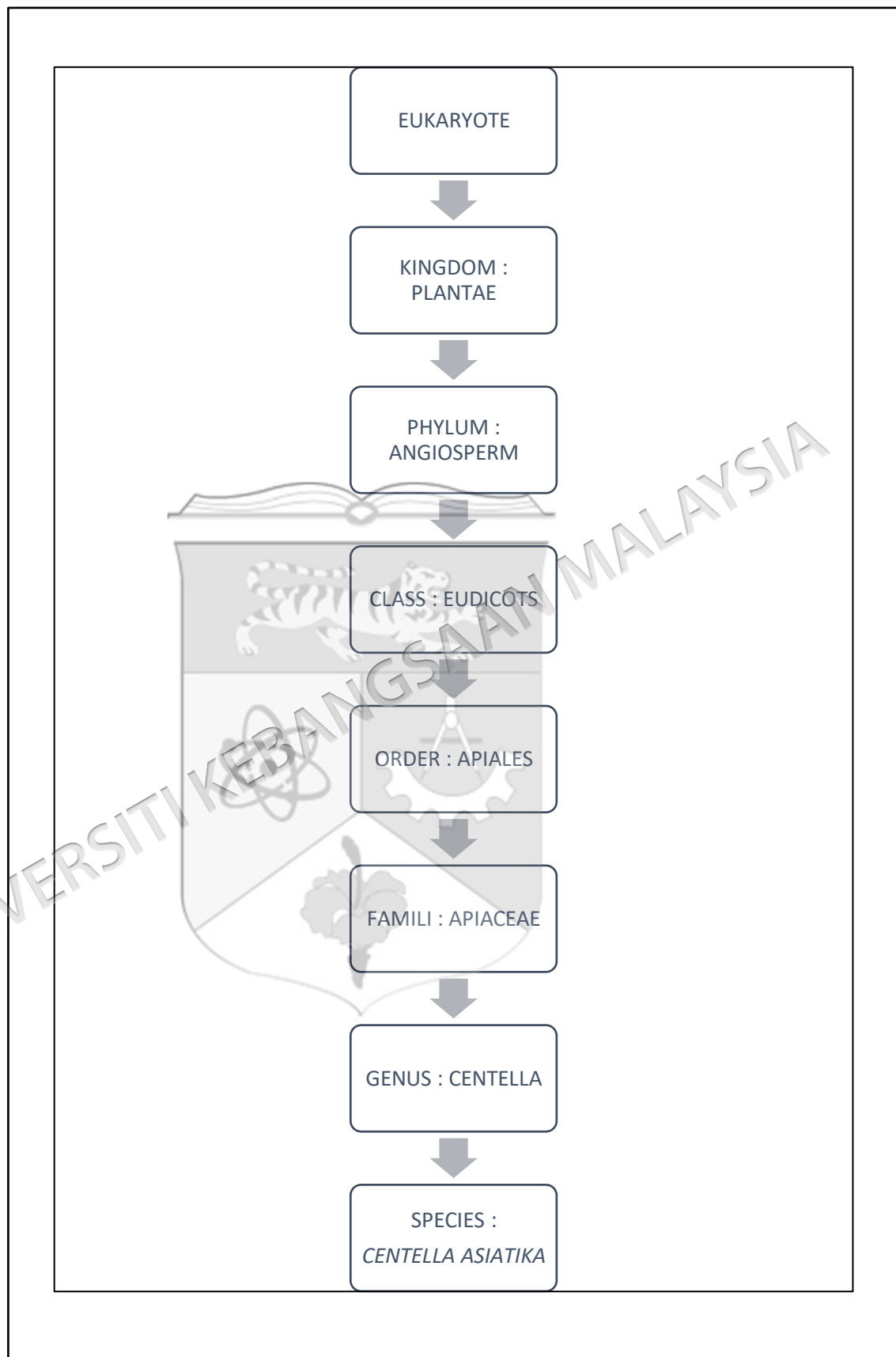
Polypodium leucotomos telah di buktikan dapat memberi perlindungan kulit dari radiasi UV dan telah di komersialkan sebagai Heliocare® (Desai et al. 2024). Tumbuhan yang kaya dengan komponen fenolik ini terkenal dalam kalangan dermatologist Brazil yang digunakan untuk menghalang dan merawat pelbagai keadaan kulit yang disebabkan radiasi UV (Schalka 2015).

2.7 *CENTELLA ASIATIKA (CA)*

Centella asiatica (L.) (CA) dalam Gambar 2.3 biasanya dikenali sebagai pegaga di Malaysia. *CA* diklasifikasikan dalam Kingdom Plantae, Divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledoneae, Order Apiales dan Family Apiaceae seperti dalam Gambar 2.4 (Hein et al. 2025). Tumbuhan ini di kenali sebagai herba serba boleh dengan sejarah panjang dalam perubatan tradisional (Aszrin et al. 2024). Ia juga dirujuk sebagai *Hydrocotyle asiatica L.* dan mempunyai pelbagai nama dalam budaya yang berbeza mencerminkan kepentingan globalnya (Noppradit et al. 2024). Daun atau keseluruhan tumbuhan *CA* seperti dalam Gambar 2.3 digunakan dalam terapi alternatif selain perubatan moden. Ia juga dijadikan sebagai makanan tambahan di kawasan seperti India, China, Malaysia, Hawaii, Indonesia, Amerika Syarikat, Fiji, Perancis dan Mauritius. Tumbuhan ini terutamanya berasal dari Asia Tenggara, Afrika Selatan, dan Madagascar yang menonjolkan habitat dan taburan semula jadinya (Alfarra & Omar 2013; Bylka, Znajdek-Awizen, et al. 2013; Girma et al. 2024; Orhan 2012).



Gambar 2.3 menunjukkan tumbuhan *Centella asiatica (CA)*.



Gambar 2.4 menunjukkan susunan pangkat taksonomi bagi tumbuhan *CA*.

2.7.1 Ciri fizikal *C4*

C4 ialah tumbuhan herba kecil yang tumbuh menjalar di permukaan tanah dan biasanya ditemui di kawasan lembap. Tumbuhan ini mempunyai batang yang halus dan menjalar, dengan akar yang tumbuh pada setiap batang. Daunnya berbentuk bulat atau seperti buah pinggang (reniform), berwarna hijau terang dengan tepi yang sedikit berlekuk, serta mempunyai tangkai daun yang panjang seperti dalam Gambar 2.5. Bunganya kecil, berwarna putih hingga merah jambu, dan biasanya tumbuh dalam kelompok kecil berhampiran pangkal daun. Buahnya pula bersaiz kecil, berbentuk bujur dan mengandungi biji yang halus (Hein et al. 2025).



Gambar 2.5 menunjukkan ciri-ciri fizikal bagi tumbuhan *C4* (Hein et al. 2025).

2.7.2 Metabolit penting *C4*

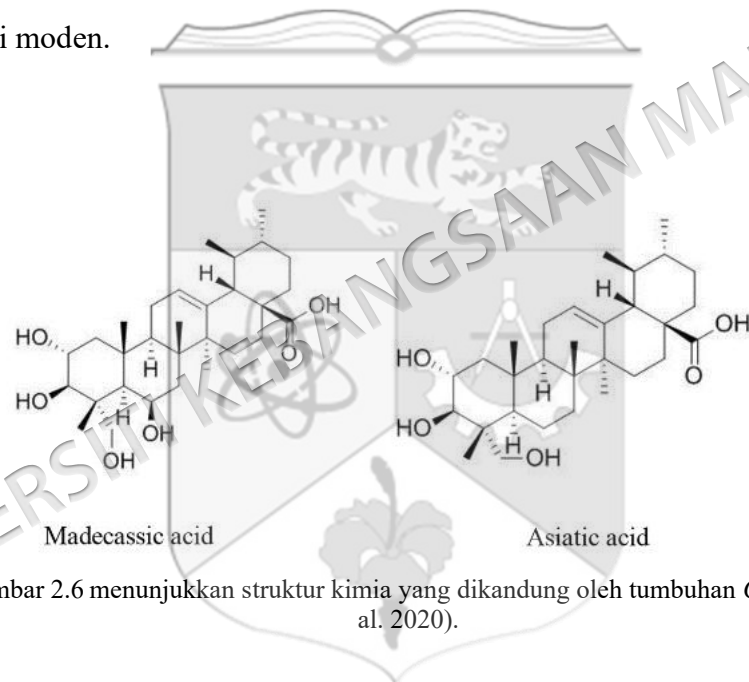
Komponen fitokimia dalam tumbuhan terutamanya metabolit sekunder yang bertanggungjawab kepada nilai terapeutik. Metabolit sekunder ialah sebatian yang tidak terlibat secara langsung dalam pertumbuhan tumbuhan tetapi memainkan peranan penting dalam perlindungan terhadap tekanan persekitaran seperti sinaran UV dan

patogen (Khan et al. 2025). Dalam penyelidikan terdahulu, fitokimia *CA* terdiri daripada triterpena, karotenoid, glikosida, minyak meruap dan asid lemak, flavonoid serta sebatian lain (Chandrika & Prasad Kumarab 2015). *CA* mengandungi beberapa triterpenoid utama yang memainkan peranan penting dalam mencegah kerosakan foto pada kulit terutamanya melalui sifat antioksidan dan anti-radangnya. Di antara triterpenoid ini ialah asid asiatik. Struktur kimia ditunjukkan dalam Gambar 2.6. Bahan ini mempamerkan aktiviti antioksidan yang kuat, berkesan meneutralkan radikal bebas yang dihasilkan oleh sinaran UV. Penyelidikan telah menunjukkan bahawa asid asiatik boleh mengurangkan tekanan oksidatif dan menggalakkan sintesis kolagen yang penting untuk mengekalkan keanjalan dan integriti kulit (Wang et al. 2022). Dengan meningkatkan pengeluaran kolagen, asid asiatik membantu dalam pembaikan kulit dan membantu mencegah tanda-tanda penuaan disebabkan radiasi sinaran matahari.

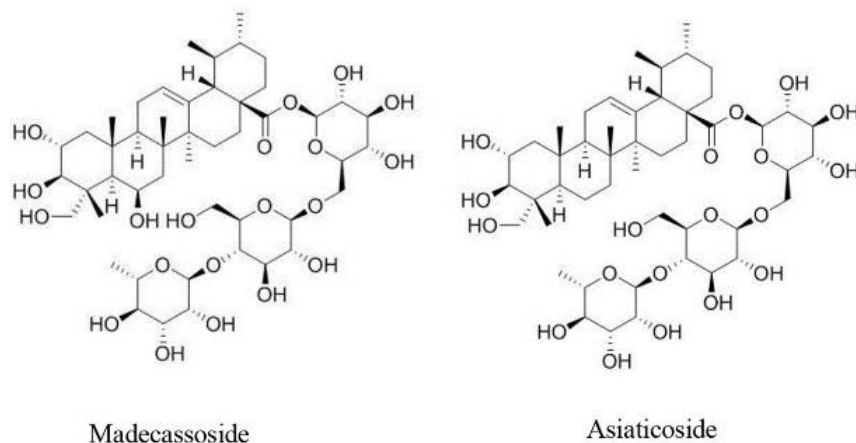
Asiatikosida juga menyumbang dengan ketara kepada kesan fotoprotektif *CA*. Metabolit ini telah didapati meningkatkan penyembuhan luka dan meningkatkan penghidratan kulit. Ini menjadikannya bermanfaat untuk pemulihan kulit selepas pendedahan UV (Gohil et al. 2010). Struktur Asiatikosida pada Gambar 2.7 mempamerkan kesan anti-radang. Ini yang membantu mengurangkan keradangan yang disebabkan oleh UV dan seterusnya melindungi kulit daripada kerosakan (Lee et al. 2012). Selain itu, asiaticoside telah terbukti menghalang ekspresi matriks metalloproteinase (MMP) iaitu enzim yang memecahkan kolagen dan boleh dikawal selia oleh pendedahan UV. Ini mencadangkan peranan pelindung terhadap penuaan disebabkan radiasi UV (Gohil et al. 2010).

Madecassoside pada Gambar 2.7 satu lagi metabolit utama triterpenoid yang mempunyai sifat anti-radang yang kuat. Kajian menunjukkan bahawa madecassoside boleh menghalang ekspresi sitokin pro-radang sekali gus mengurangkan keradangan yang disebabkan oleh pendedahan UV (Lee et al. 2012). Tindakan ini penting dalam mencegah akibat jangka panjang kerosakan UV seperti kanser kulit dan penuaan pramatang. Selain itu, madecassoside telah terbukti meningkatkan fungsi penghalang kulit dan seterusnya menyumbang kepada kesan perlindungannya terhadap tekanan alam sekitar (Cavinato et al. 2017).

Asid madecassic seperti Gambar 2.6 dan triterpenoid yang berkaitan juga menyumbang kepada kesan fotoprotektif *CA*. Ia telah terbukti mempunyai sifat antioksidan dan anti-radang yang membantu dalam mengurangkan tekanan oksidatif dan keradangan pada kulit (Gohil et al. 2010). Kesan gabungan metabolit ini menggariskan potensi *CA* sebagai agen semula jadi untuk perlindungan foto menjadikannya tambahan yang berharga kepada formulasi penjagaan kulit yang bertujuan untuk mencegah kerosakan kulit dan penuaan yang disebabkan oleh UV. Ringkasnya, metabolit *CA* termasuk asid asiatic, asiaticoside, madecassoside, dan asid madecassic menyumbang kepada keupayaannya untuk mencegah kerosakan disebabkan radiasi sinaran matahari melalui sifat antioksidan, anti-radang dan menggalakkan kolagen. Ini menyerlahkan kepentingan tumbuhan ini dalam kedua-dua perubatan tradisional dan aplikasi dermatologi moden.



Gambar 2.6 menunjukkan struktur kimia yang dikandung oleh tumbuhan *CA* (Sun et al. 2020).



Gambar 2.7 menunjukkan struktur kimia yang dikandung oleh tumbuhan *CA* (Sun et al. 2020).

2.7.3 Kesan terapeutik *CA*

a. Antioksidan

Antioksidan merupakan sebatian kimia yang berfungsi melindungi sel daripada kerosakan yang disebabkan oleh molekul radikal bebas. Kajian yang dijalankan ke atas *CA* mengesahkan potensinya sebagai sumber antioksidan semula jadi yang berkesan. Keupayaan antioksidan *CA* dikaitkan dengan kehadiran metabolit sekunder seperti triterpenoid, flavonoid, alkaloid, polifenol, dan steroid (Padmiswari et al. 2023). Penyelidikan menunjukkan bahawa penambahan ekstrak *CA* ke dalam nasi segera dapat meningkatkan aktiviti antioksidan serta kandungan fenol. Kajian oleh Hidayati et al. (2016) melaporkan bahawa penambahan 15% ekstrak *CA* menghasilkan aktiviti antioksidan yang tinggi (67.88%). Ini menunjukkan peranan sebatian bioaktif dalam meningkatkan nilai fungsi makanan. Selain itu, *CA* digunakan dalam produk anti-penuaan kerana kemampuan melindungi kulit dari kerosakan akibat radikal bebas (Purdiyanti 2022). Kompaun aktif yang terdapat dalam *CA* menunjukkan prospek yang baik untuk aplikasi terapeutik khususnya dalam meneutralkan radikal bebas.

Kajian *in vitro* mendapati bahawa sebatian terpenoid dalam *CA* mempunyai aktiviti antioksidan yang ketara (Kasote et al. 2015). Empat sebatian utama dalam kumpulan ini asid madecassic, asid asiatik, madecassoside, dan asiaticoside dikenali sebagai centellosida terpenoid. Empat sebatian utama dalam kumpulan ini iaitu asid madecassic, asid asiatik, madecassoside dan asiaticoside dikenali sebagai centellosida terpenoid. Kajian melaporkan bahawa jumlah kandungan triterpenoid dalam *CA* boleh mencecah sekitar 1-8% daripada berat kering tumbuhan dengan madecassoside dan asiaticoside sebagai komponen dominan. Kehadiran sebatian ini bersama flavonoid menyumbang kepada aktiviti antioksidan yang tinggi yang telah dibuktikan melalui ujian seperti DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power). Aktiviti antioksidan ekstrak *CA* dilaporkan menunjukkan perencatan radikal bebas sekitar 60-80% dalam ujian DPPH. Nilai ini adalah kompetitif dan hampir setanding dengan vitamin C yang menunjukkan sekitar 85-95% serta ekstrak biji anggur sekitar 70-90% perencatan radikal bebas yang merupakan sumber antioksidan semula jadi yang diiktiraf (Hashim 2013). Oleh itu, *CA* berpotensi sebagai

agen antioksidan yang berkesan dalam menangani kesan negatif radikal bebas khususnya dalam melindungi kulit daripada kerosakan akibat pendedahan UVB.

b. Anti radang

Aktiviti antioksidan *CA* memainkan peranan penting dalam mengawal tindak balas keradangan melalui modulasi tekanan oksidatif. Pendedahan kepada faktor seperti sinaran UVB akan meningkatkan penghasilan ROS dalam sel kulit. ROS ini seterusnya mengaktifkan laluan isyarat keradangan seperti nuclear factor-kappa B (NF- κ B) dan activator protein-1 (AP-1) yang merangsang penghasilan sitokin pro-radang seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Selain itu, pengaktifan AP-1 juga meningkatkan ekspresi enzim MMPs yang memecahkan kolagen dalam matriks ekstraselular (Baek et al. 2024; Wei et al. 2024). Ini sekali gus menyumbang kepada kerosakan tisu dan penuaan kulit.

Dalam konteks ini, sebatian bioaktif dalam *CA* seperti madecassoside dan asid asiatik bertindak sebagai antioksidan dengan meneutralkan ROS dan mengurangkan tekanan oksidatif. Pengurangan ROS ini seterusnya menghalang pengaktifan laluan NF- κ B dan AP-1 sekali gus menurunkan penghasilan sitokin pro-radang serta aktiviti MMPs. Kesan ini membantu mengekalkan integriti struktur kulit dan mengurangkan keradangan (Gao et al. 2018; Limtrakul et al. 2016). Oleh itu, mekanisme antioksidan *CA* secara tidak langsung menyumbang kepada kesan anti-radang melalui pengawalan laluan molekul yang terlibat dalam kerosakan kulit akibat pendedahan UVB.

2.7.4 Kesan *CA* terhadap kulit

Beberapa kajian telah meneroka pelbagai manfaat *CA* dalam meningkatkan kesihatan kulit. Banyak pemerhatian ke atas kesan *CA* telah dilakukan dalam menangani tanda-tanda penuaan, meningkatkan kelembapan kulit, dan mengurangkan kerosakan akibat pendedahan UV terutama melalui penggunaan topikal. Kajian terdahulu mendapati salah satu sebatian bioaktif utama yang berasal daripada *CA* iaitu madecassoside bermanfaat pada kulit tikus yang mengalami penuaan disebabkan radiasi cahaya. Kajian menunjukkan bahawa madecassoside mampu merangsang sintesis kolagen secara signifikan dalam fibroblas kulit manusia walaupun pada kepekatan

rendah. Ini menunjukkan hubungan bergantung dos dan keberkesanan bioaktifnya dalam membaiki kulit (Thong-on et al. 2024). Kolagen amat penting untuk mengekalkan integriti struktur dan keanjalan kulit dan pengeluarannya cenderung menurun dengan usia. Ini menyebabkan kulit kendur dan pembentukan kedutan. Madecassoside membantu menangani kesan penuaan radiasi akibat cahaya dengan meningkatkan sintesis kolagen. Selain itu, kajian tersebut mendapati bahawa madecassoside dapat mengawal mediator keradangan. Molekul ini menyumbang kepada keradangan yang kronik dan dapat mempercepatkan penuaan kulit. Madecassoside boleh mengurangkan kerosakan kulit akibat keradangan dengan mengawal mediator ini (Kanlayavattanakul & Lourith 2015). Dapat disimpulkan, medecassoside dapat menjadikan kulit yang sihat dan mengurangkan tanda-tanda penuaan.

Kajian terdahulu juga melanjutkan kefahaman tentang manfaat *CA* dengan menumpukan kepada keupayaannya untuk meningkatkan kelembapan kulit. Kajian menonjolkan penggunaan topikal *CA* dapat mengurangkan kehilangan air trans-epidermis (TEWL) dengan berkesan. TEWL merujuk kepada proses di mana air meruap secara pasif daripada kulit ke persekitaran (Green et al. 2022). Kehilangan air ini tidak terkawal boleh menyebabkan kulit kering dan mengalami dehidrasi. Ini menjadikannya lebih terdedah kepada kerengsaan dan kerosakan. *CA* TEWL melalui beberapa mekanisme yang menyokong fungsi penghalang kulit. Sebatian bioaktif seperti madecassoside dan asiaticoside merangsang sintesis kolagen serta memperbaiki struktur dermis. Ini meningkatkan integriti tisu kulit. Selain itu, *CA* turut meningkatkan penghasilan lipid epidermis dan memperbaiki organisasi lapisan stratum korneum yang bertindak sebagai penghalang utama terhadap kehilangan air. *CA* juga mempunyai kesan antioksidan dan anti-radang yang membantu mengurangkan kerosakan sel akibat tekanan oksidatif. Ini dapat mengekalkan fungsi penghalang kulit. Secara keseluruhannya, mekanisme ini menyumbang kepada pengurangan TEWL dan membantu mengekalkan kelembapan serta kesihatan kulit (Ratzky et al. 2019). Sifat pengkalan kelembapan ini amat bermanfaat bagi individu yang mengalami kulit kering atau sensitif kerana ia meningkatkan mekanisme pertahanan semulajadi kulit terhadap tekanan persekitaran seperti sinaran UV. Dalam kajian lain tumpuan diberikan kepada kesan *CA* terhadap pigmentasi khususnya dalam konteks pendedahan UV. Kajian ini

menggunakan krim topikal yang mengandung 10% ekstrak *CA* yang digunakan pada tikus guinea jantan (*Cavia porcellus*) yang terdedah kepada sinaran UVB. Sinaran ini menyebabkan kerosakan kulit dan gangguan pigmentasi. Sinaran UVB boleh merangsang pengeluaran melanin dan pigmen yang bertanggungjawab untuk warna kulit. Rangsangan UVB yang berlebihan ini boleh menyebabkan hiperpigmentasi, bintik matahari, dan tona kulit tidak sekata. Kajian ini mendapati bahawa ekstrak *CA* berkesan menghalang ekspresi faktor transkripsi yang berkaitan dengan mikroftalmia (MITF). Ia merupakan gen yang memainkan peranan utama dalam mengawal melanogenesis dan proses menghasilkan melanin dalam kulit. Dengan merencat MITF, ekstrak *CA* mengurangkan jumlah melanin yang dihasilkan sebagai tindak balas kepada pendedahan UVB. Ini dapat membantu mencegah hiperpigmentasi disebabkan oleh sinaran UV (Idana et al. 2022). Penemuan ini menempatkan *CA* sebagai bahan semulajadi yang menjanjikan untuk menguruskan masalah pigmentasi dan melindungi kulit daripada kerosakan UV.

CA yang juga dikenali sebagai *Gotu Kola* telah lama dikenali dengan kelebihan untuk kegunaan topikal khususnya bagi merawat kerosakan keadaan kulit disebabkan radiasi UVB. Radiasi tersebut merupakan penyebab utama kepada selaran matahari kepada kulit dan secara ketara meningkatkan risiko kanser kulit. Radiasi UVB ini merosakkan DNA dalam sel kulit ini menjadikan sel kulit rentan kepada BCC, SCC dan juga melanoma. *CA* memainkan peranan yang penting dalam menghadang masalah pada sel kulit dengan mekanisme melawan radikal bebas kerana tumbuhan ini kaya dengan komponen antioksidan (Tan et al. 2025). Ini membuktikan kelebihan *CA* dalam keupayaan memelihara kesihatan kulit dari kerosakan sel dan kerengsaan kulit. Justeru, tumbuhan *CA* layak dan sesuai dieksplorasi dengan lebih dalam untuk kegunaan yang lebih maksima dan di olah sebagai pelindung matahari yang diambil secara oral bagi memberi perlindungan keseluruhan. Kajian lain pula, mengetengahkan sifat perlindungan terhadap sel keratinosit manusia dari kerosakan disebabkan radiasi UVB dengan memodulasi ekspresi mikroRNA. Sebagai contoh, perawatan sel keratinosit dengan ekstrak titrasi *CA* (TECA) dapat merencatkan sel apoptosis dan mengalakkan percambahan sel. Selain itu, terdapat juga kesan positif kepada sel kulit fibroblas (NHDFs) yang dirawat menggunakan TECA. Kajian tersebut menunjukkan pengembalian kebolehhidupan sel yang dirawat setelah dikenakan radiasi UVB (An et

al. 2012). Disimpulkan, kesan positif ini bergantung kepada kebolehan *CA* dalam memodulasi *micro ribonucleic acid* (mikroRNA).

Selain itu, kajian terdahulu juga mendapati *CA* mempunyai sifat pemulihan dan anti-penuaan. Penggunaan *CA* atau centellosida dalam produk topikal dapat memberikan kelebihan kepada kesihatan kulit. Kajian menunjukkan bahawa bahan-bahan ini dapat memperbaiki struktur kulit yang rosak dengan merangsang fibroblas untuk menghasilkan kolagen serta menyokong fungsi keratinosit dalam memulihkan lapisan epidermis, di samping mengurangkan degradasi kolagen oleh MMP. Penggunaan tumbuhan *CA* atau centellosida secara sendiri dapat mengekalkan keanjalan kulit serta mengurangkan kedutan. Dalam masa yang sama, ia juga turut memperbaiki tona kulit keseluruhan. Selain itu, ia juga dapat mengekalkan kelembapan dalam kulit yang terdedah kepada kerosakan akibat cahaya matahari (Bylka et al. 2013). Ini menunjukkan potensi produk berasaskan *CA* sebagai rawatan anti-penuaan yang berkesan, terutamanya bagi individu yang terdedah kepada tahap sinaran UV yang tinggi atau mereka yang ingin mengurangkan kesan penuaan pada kulit. Kajian secara konsisten menunjukkan bahawa *CA* menawarkan banyak manfaat kepada kulit yang terdedah kepada radiasi UV. *CA* digunakan secara topikal dilihat dapat meningkatkan kelembapan dan sintesis kolagen hingga kesan anti-pigmentasi dan anti-penuaan. Walaupun terdapat banyak kajian yang menyokong manfaat topikal *CA* keatas kulit yang terdedah kepada radiasi UV, terdapat jurang penyelidikan yang penting apabila membincangkan kesan pengambilan oral *CA* terhadap kulit yang terdedah kepada radiasi UVB. Oleh itu, penyelidikan lanjutan ini diperlukan untuk memahami sepenuhnya potensi *CA* yang diambil secara oral terhadap kesihatan kulit yang terdedah kepada radiasi UVB.

Penggabungan *CA* dalam produk pelindung matahari adalah signifikan kerana ia bukan sahaja meningkatkan aktiviti antioksidan tetapi juga meningkatkan SPF yang merupakan komponen penting dalam melawan kesan buruk sinaran UV. Kajian menunjukkan gabungan gel *CA* transfersome dan nanoemulsi menunjukkan bagaimana formulasi topikal ini boleh meningkatkan keberkesanan pelindung matahari dengan mempengaruhi proses biologi seperti pengaturan semula faktor pertumbuhan transformasi beta (TGF- β) s e t i n d a k b a l a s p e n d e d a h a n t e r h a d a p r a d i a s i U V B

(Khotimah et al. 2022). Ini seterusnya dapat memperkukuhkan mekanisme perlindungan kulit. Selain itu, *CA* mempunyai potensi sifat anti kanser *CA* yang merupakan komponen penting dalam konteks kerosakan kulit yang disebabkan oleh UVB kerana penyelidikan telah menunjukkan ia boleh mengurangkan kejadian tumor dalam model haiwan. Kesan ini berkait rapat dengan keupayaannya mengawal mekanisme molekul yang terlibat dalam karsinogenesis akibat UVB. Sinaran UVB menyebabkan kerosakan DNA secara langsung melalui pembentukan dimer timina. Ini akan mengganggu struktur normal DNA dan boleh menyebabkan mutasi jika tidak diperbaiki. Selain itu, UVB juga meningkatkan ROS yang seterusnya mengaktifkan laluan isyarat seperti p53, NF- κ B dan Mitogen-activated protein kinase (MAPK). Pengaktifan laluan ini boleh membawa kepada keradangan kronik, ketidakstabilan genetik, dan percambahan sel yang tidak terkawal. Walaupun protein p53 berfungsi untuk memperbaiki DNA atau mencetuskan apoptosis, kerosakan berulang akibat pendedahan UVB boleh menyebabkan kegagalan mekanisme ini. Ini membolehkan sel yang rosak terus membiak. Proses ini akhirnya menyumbang kepada pembentukan kanser kulit seperti BCC dan SCC. (Rahmawati et al. 2019). Ini meningkatkan kepentingannya, kerana pendedahan kepada UVB adalah faktor utama dalam perkembangan kanser kulit. Oleh itu, penggabungan *CA* dalam produk pelindung matahari bukan sahaja membantu mencegah penuaan akibat cahaya matahari dan kerosakan kulit tetapi juga mungkin menawarkan manfaat tambahan dalam mengurangkan risiko kanser kulit. Ini menjadikan *CA* sebagai bahan yang sangat relevan dan berpotensi dalam pembangunan formulasi oral pelindung matahari semulajadi yang lebih berkesan secara keseluruhan.

BAB III

KAEDAH KAJIAN

3.1 PENGESAHAN TUMBUHAN

Sampel tumbuhan dihantar ke Herbarium Universiti Kebangsaan Malaysia (UKMB) untuk pengenalpastian dan disahkan sebagai *Centella asiatica (L.)* daripada keluarga *Umbelliferae* dengan baucar bernombor 1D047/2022. Tumbuhan ini biasanya dikenali sebagai pegaga di Malaysia.

3.2 PENYEDIAAN EKSTRAK CA

3.2.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam penyediaan ekstrak CA adalah bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, pengoncang mekanikal (Yihder®) China, kertas penapis (Whatman®) UK.

3.2.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam penyediaan ekstrak CA adalah etanol tulen (HmbG®) Jerman, air suling.

3.2.3 Kaedah

Daun CA kering diperoleh daripada HERBagus Trading Sdn Bhd sebuah pembekal yang berpangkalan di Pulau Pinang, Malaysia. Kaedah pengekstrakan maserasi telah digunakan. Pengekstrakan ini melibatkan penggunaan etanol 80% sebagai pelarut (Thong-On et al. 2021). Pelarut ini disediakan dengan menggunakan etanol tulen. Etanol tulen disukat dengan menggunakan silinder penyukat 1000 mL sebanyak 800ml. Air suling ditambah hingga ke paras 1000 mL bagi menjadikan etanol berkepekatan 80% dengan keseluruhan kuantiti sebanyak 1000 mL. Langkah tersebut diulang bagi mendapatkan kuantiti yang diperlukan dalam proses ekstraksi. Proses ekstrak memerlukan nisbah satu kilogram CA kering memerlukan 4000 mL etanol berkepekatan 80% (Azmi et al. 2020). Proses ekstrak bermula dengan bahan tumbuhan kering direndam dalam larutan etanol dalam bikar. CA kering ditimbang sebanyak satu kilogram setiap kali rendaman dan CA yang di timbang diletakkan dalam bikar 3000 mL. Untuk memastikan penyerapan partikal kering secara sekata, campuran tumbuhan kering dan etanol berkepekatan 80% yang diletakkan dalam bikar di goncang selama satu jam menggunakan pengoncang mekanikal. Selepas tempoh rendaman awal ini, campuran dibiarkan berehat selama 24 jam untuk memastikan pengekstrakan efektif sebatian aktif. Selepas tempoh rendaman, campuran yang terhasil telah ditapis untuk memisahkan ekstrak cecair daripada sisa tumbuhan pepejal. Penapisan ini dilakukan menggunakan kertas penapis Whatman bagi memastikan pemisahan komponen cecair dan partikal tumbuhan. Sisa pepejal tidak dibuang sebaliknya, ia menjalani dua kitaran ekstrak tambahan. Setiap kitaran terdiri daripada merendam sisa dalam larutan etanol segar, diikuti dengan penapisan untuk memaksimumkan hasil ekstrak.

3.3 PROSES PENYEJATAN EKSTRAK

3.3.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam penyediaan ekstrak CA adalah penyejat berputar (Rotavapor® R-100 Buchi) Switzerland, kertas penapis (Whatman®) UK.

3.3.2 Kaedah

Proses ekstrak *CA* diubahsuai dari laporan Dwivedi dan Sharma (2022). Etanol rendaman *CA* kering disaring dan dikumpul. Cecair ethanol yang diperolehi daripada beberapa kitaran pengekstrakan ini digabungkan menjadi satu bekas. Pelarut etanol telah disejat menggunakan penyejat putar Rovapor R-100 Buchi untuk memekatkan ekstrak. Semasa proses penyejatan ini, suhu dikawal dengan penangas air yang ditetapkan pada 40°C dan kelajuan penyejatan dilaraskan kepada tetapan 3 (80-100 rpm). Selepas kira-kira enam jam penyejatan berterusan, ekstrak *CA* dalam bentuk cecair likat telah diperolehi. Oleh kerana kapasiti penyejat terhad, cecair yang disaring dibahagikan kepada beberapa kumpulan yang lebih kecil untuk proses penyejatan. Setelah peroses penyejatan selesai, ekstrak disimpan dalam balang kaca legap. Ini untuk melindungi ekstrak daripada terdedah kepada cahaya yang boleh menyebabkan degradasi sebatian aktif. Ekstrak yang telah likat disimpan dalam peti sejuk sehingga sedia untuk digunakan. Proses pengekstrakan yang menyeluruh dan teliti ini untuk memastikan sebatian aktif dalam *CA* terpelihara dan efektif.

3.4 HAIWAN KAJIAN

Haiwan kajian yang digunakan ialah mencit betina jenis ICR (Institute for Cancer Research mice) yang berumur kira-kira 5-7 minggu dengan berat badan dalam lingkungan 20-25g. Sebanyak 40 ekor mencit diperlukan dan dibahagikan kepada lima kumpulan. Mencit-mencit ini dibekalkan oleh Unit Haiwan, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM). Sebelum kajian dijalankan, mencit-mencit ini akan diberikan masa selama dua minggu untuk proses penyesuaian. Mencit-mencit ini ditempatkan di dalam sangkar yang beralaskan habuk kayu. Dua ekor mencit ditempatkan di dalam setiap sangkar. Semua sangkar diletakkan di dalam bilik yang menerima cahaya matahari pada siang hari dan dibiarkan gelap pada waktu malam. Bilik ini juga lengkap dengan penghawa dingin dengan suhu 24°C di Bilik Haiwan, Jabatan Farmakologi, Fakulti Perubatan UKM.

Mencit diberikan palet makanan khusus untuk mencit yang diperolehi daripada Unit Haiwan Universiti Kebangsaan Malaysia. Diet ini serta air minuman dari paip

d i b e r i k a n k e p a d a s e m u a k u m p u l a n m e n c i t s e c a rawatan.

Kaedah pengendalian mencit-mencit ini telah mendapat kelulusan daripada Jawatankuasa Etika Haiwan Universiti Kebangsaan Malaysia dengan nombor kelulusan (UKMAEC: FAR/PP/2022/NORLIZA/28-SEPT./1279-SEPT.-2022-SEPT-2024).

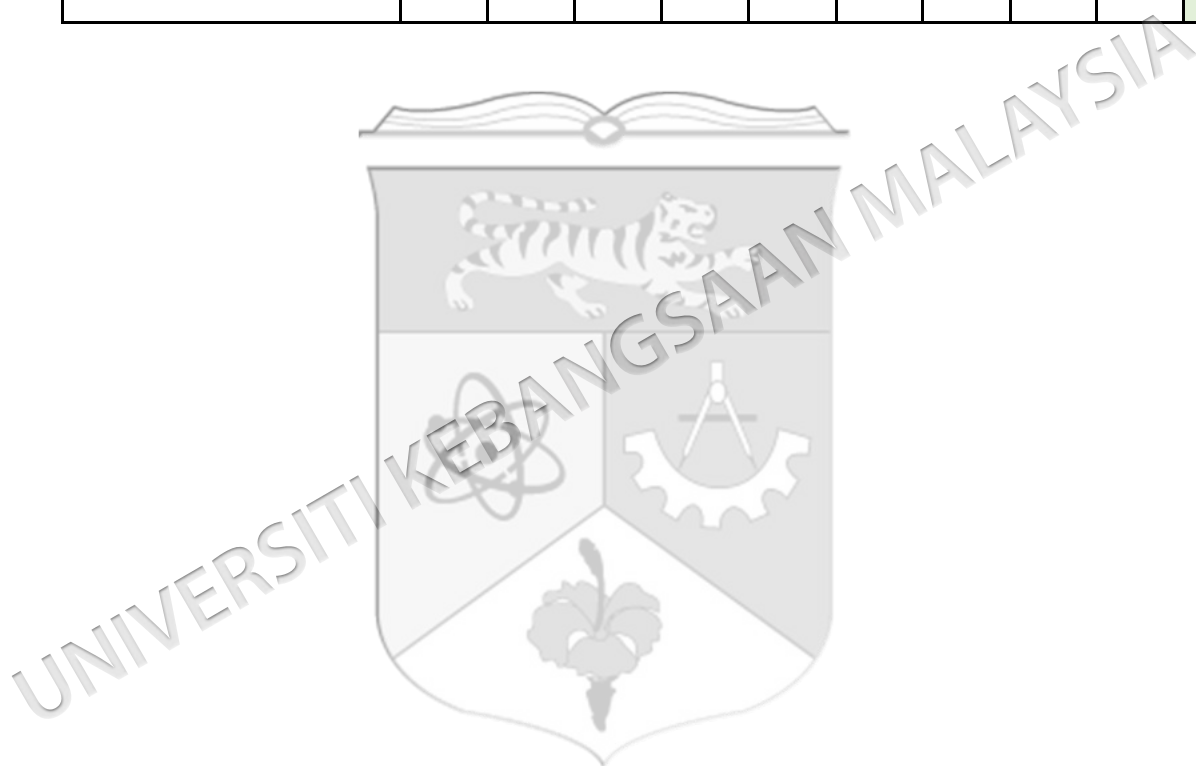
3.5 REKA BENTUK KAJIAN

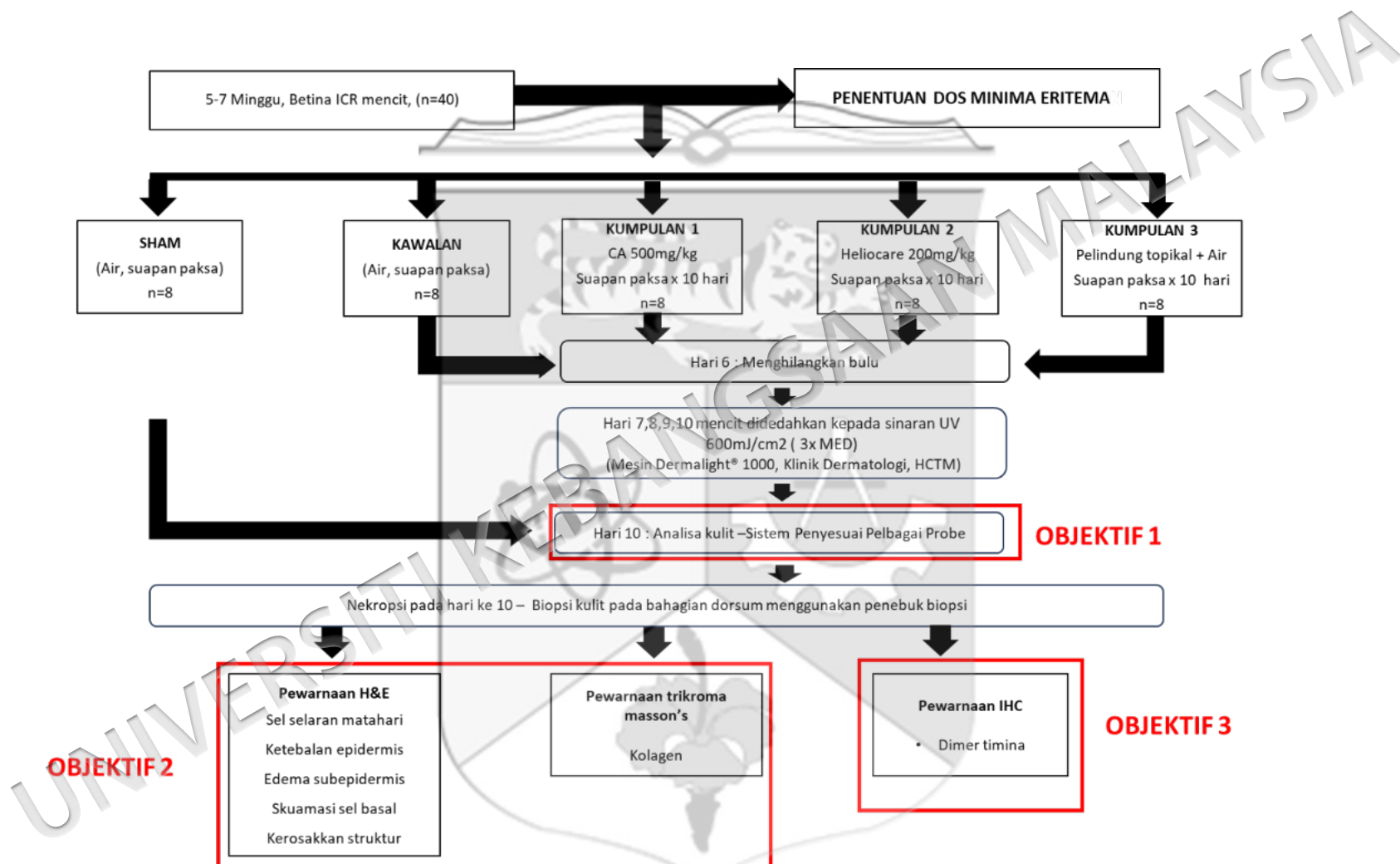
Kajian ini melibatkan sebanyak 40 ekor mencit betina jenis ICR berumur antara 5 hingga 7 minggu. Haiwan-haiwan tersebut dibahagikan secara rawak kepada lima kumpulan dengan lapan ekor mencit bagi setiap kumpulan ($n=8$) seperti dalam Jadual 3.1. Dua kumpulan kawalan telah digunakan dalam kajian ini, iaitu kumpulan Sham yang menerima air secara oral tanpa sebarang pendedahan kepada sinaran UVB, dan kumpulan kawalan yang turut menerima air secara oral tetapi didedahkan kepada sinaran UVB. Rawatan diberikan selama 10 hari berturut-turut melalui kaedah suapan paksa (oral gavage) bagi semua kumpulan dan pendedahan kepada sinaran UVB dikenakan pada hari 7, 8, 9, 10 pada semua kumpulan kecuali kumpulan Sham seperti yang di tunjukkan dalam Jadual 3.2 dan Jadual 3.3. Kumpulan 1 diberikan ekstrak CA pada dos 500 mg/kg, manakala Kumpulan 2 menerima Heliocare® pada dos 200 mg/kg. Kumpulan 3 pula menerima rawatan kombinasi iaitu pelindung matahari secara sapuan topikal pada bahagian belakang badan yang telah dibuang bulu sebelum didedahkan pada sinaran UVB, serta air secara oral melalui suapan paksa. Rawatan yang diberikan bertujuan untuk menilai kesan perlindungan setiap bahan yang diuji terhadap kerosakan kulit yang disebabkan oleh pendedahan kepada sinaran UVB.

Untuk sinaran UVB pada hari ke-7,8,9,10, dos UVB yang digunakan ialah tiga kali ganda daripada dos eritema minimum ($MED \times 3$) iaitu 600 mJ/cm^2 seperti yang ditunjukkan dalam carta aliran cara kerja keseluruhan kajian Rajah 3.1. Dos MED telah ditentukan pada 200 mJ/cm^2 yang mampu menyebabkan kemerahan (eritema) pada kulit selepas 24 jam iaitu. Sinaran UVB ini menggunakan mesin Dermalight®800 di Klinik Dermatologi, HCTM. Semua kumpulan didedahkan pada sinaran UVB kecuali kumpulan Sham. Pada hari 10 setelah mencit didedahkan pada UVB, analisa fizikal kulit dijalankan menggunakan sistem penyesuai pelbagai probe. Di akhir kajian, semua

Jadual 3.3 menunjukkan jadual rawatan mencit kumpulan kawalan, CA, Heliocare®, topikal.

HARI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PEMBERIAN ORAL	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PEMBUANGAN BULU						✓				
SINARAN UVB							✓	✓	✓	✓
ANALISA KULIT										✓
NEKROPSI										✓





Rajah 3.1 ini menunjukkan carta aliran cara kerja keseluruhan kajian.

3.6 PENYEDIAAN RAWATAN

3.6.1 Ekstrak CA sepanjang tempoh rawatan

Bagi kumpulan rawatan ekstrak CA dos yang diberikan adalah sebanyak 500 mg/kg berat badan yang dilarutkan dengan air dan di berikan secara suapan paksa. Larutan stok CA disediakan dengan kepekatan 20 mg/ml. Larutan ini disediakan dengan menimbang 20 mg ekstrak CA pekat dan mencairkannya dengan 1 ml air suling. Larutan ini disediakan dengan secukupnya dan digunakan secara segera. Berat mencit ditimbang dan jumlah kuantiti suapan paksa oral di kira berdasarkan berat mencit. Kemudian, dos yang dikira ditukar kepada isipadu dengan menggunakan formula berikut:

Isipadu ekstrak per mencit

Isipadu ekstrak Berat

Kepekatan larutan

Dos 500 mg/kg

Kepekatan 20 mg/kg

Berat mencit 25 g 0.025

Isipadu $\frac{500 \times 0.025}{20}$

20

0.025 ml

3.6.2 Heliocare®

Heliocare ialah produk fotoprotektif oral yang telah dikomersial dan mengandungi ekstrak Polypodium leucotomos (PLE), iaitu sejenis antioksidan semula jadi yang diperoleh daripada paku pakis tropika yang berasal dari Amerika Tengah dan Selatan. PLE telah dikaji secara meluas dan dikenali kerana sifat antioksidan, anti-radang, imunomodulatori, serta perlindungan terhadap DNA yang kesemuanya menyumbang kepada keberkesannya dalam mengurangkan kerosakan kulit yang disebabkan oleh sinaran UV (Kohli et al. 2017). Selain itu, kesan perlingungannya PLE adalah melalui pelbagai laluan biologi seperti meneutralkan spesies oksigen reaktif (ROS), mengurangkan pengeluaran sitokin keradangan, dan mencegah kerosakan DNA akibat

pendedahan kepada sinaran UV sama seperti CA (Rodríguez-Luna et al. 2023). Oleh itu, Heliocare® digunakan sebagai kumpulan kawalan positif. Dos yang diberikan adalah sebanyak 200mg/kg yang dilarutkan dengan air dan di berikan secara suapan paksa (Murbach et al. 2015; Pourang et al. 2021). Larutan Heliocare® disediakan dengan kepekatan 20mg/ml. Larutan ini disediakan dengan menimbang 20mg ekstrak Heliocare® dan dilarutkan dengan 1 ml air suling. Larutan ini disediakan dengan secukupnya dan digunakan secara segera. Berat mencit ditimbang dan jumlah kuantiti suapan paksa oral di kira berdasarkan berat mencit. Kemudian, dos yang dikira ditukar kepada isipadu dengan menggunakan formula berikut:

Mengiraan dos untuk kiscapa mencit

Isipad $\frac{D \times m}{K}$ Berat

Kepekatan larutan

Dos 200 mg/kg

Kepekatan 20 mg/kg

Berat mencit $5 \text{ g} \times 0.025$

Isipad $\frac{200 \times 0.025}{20}$

0.25 ml

0.25 ml

3.7 PENENTUAN BERAT BADAN MENCIT

Mencit yang diterima dari pembekal akan ditimbang setiap ekor dan berat setiap mencit akan direkodkan. Setiap hari mencit akan ditimbang bagi mengira dos rawatan untuk suapan paksa secara tepat bagi kumpulan CA dan kumpulan Heliocare®.

3.8 PENENTUAN DOS ERITEMA MINIMUM (‘MINIMUM ERYTHMED’)

3.8.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan sinaran ultraungu adalah kabin pendedahan UVB (Dermalight®800) Jerman.

3.8.2 Kaedah

Dos Eritema Minimum (MED) merujuk kepada jumlah sinaran UV yang diperlukan untuk menyebabkan kemerahan yang boleh dilihat, dikenali sebagai eritema pada kulit berikutan pendedahan kepada cahaya UV (Hodnik et al., 2021). Mencit yang digunakan untuk penentuan MED adalah dari kumpulan berbeza dan tidak digunakan sebagai haiwan kajian. Untuk penentuan ini, sinaran UVB digunakan dan mesin Dermalight®800 digunakan untuk radiasi UVB. Dos-dos radiasi yang digunakan untuk menentukan MED ialah 50, 100, 200, 300, 400 mJ/cm². Dos pendedahan UVB ditingkatkan secara beransur-ansur mengikut protokol mesin. Seekor mencit tertakluk kepada satu dos radiasi. Sebelum kulit mencit didedahkan kepada sinaran UVB, bulu di bahagian dorsal mencit dibuang dengan menggunakan krim depilator untuk mendedahkan kulit belakang mencit. Selepas itu, mencit disinari dengan dos penyinaran yang berbeza setiap satu ekor. Kulit yang disinari kemudiannya diperhatikan pada selang masa 24, 48 dan 36 jam selepas pendedahan. Dos di mana eritema pertama kali muncul telah dikenal pasti pada 200 mJ/cm² dan digunakan sebagai asas untuk protokol rawatan berikutnya.

3.9 KAEDAH SUAPAN PAKSA ORAL

3.9.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan untuk pemberian rawatan melalui oral adalah picagari 1mL (MIKRO SYRINGE®) China, jarum gavaj melengkung 24 G (GavageNeedle®) US.

3.9.2 Kaedah

Pemberian rawatan secara suapan paksa sering dirujuk sebagai oral gavaj. Kaedah ini digunakan untuk memasukkan bahan rawatan terus ke dalam perut. Kaedah ini melibatkan penggunaan jarum gavaj yang bersaiz kecil iaitu 24 G dan berbentuk melengkung. Jarum ini dimasukkan melalui mulut ke dalam esofagus. Cara ini memerlukan pengendalian mencit yang betul bagi menghadkan pergerakan. Mencit dipegang di bahagian kulit belakang leher untuk meminimumkan tekanan dan memastikan keselamatan mencit. Dos yang di perlukan diambil menggunakan picagari 1ml, kemudian ia disambungkan ke jarum paksa oral. Sambil mengekalkan kedudukan

yang betul, jarum dimasukkan dengan teliti ke dalam esofagus dan cecair dalam picagari dilepaskan perlahan-lahan sebelum jarum dikeluarkan. Mencit dipantau dengan teliti selepas prosedur untuk sebarang perubahan dalam keadaan fizikal atau tingkah laku.

3.10 PROSES PEMBUANGAN BULU KULIT

3.10.1 Reagen

Reagen yang digunakan dalam prosedur depilasi pembuangan depilatory (Veet®) UK

Sebelum sesi radiasi UVB dan analisis fizikal kulit dibuat dengan menggunakan krim depilatory Veet®. Walaupun teknik penghilangan bulu ini kadangkala pucat pada kulit ia biasanya reda dalam masa 24 jam (Kulikov et al. 2010). Blok akses terus kepada diperlukan semasa prosedur berikutnya.

3.11 KAEDAH PENDEDAHAN TERHADAP UVB

3.11.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan pendedahan sinaran ultraungu adalah set sangkar (TECHNIPLAST®) Itali, kabin pendedahan UVB (Dermalight®800) Jerman.

3.11.2 Kaedah

Setelah MED ditentukan, dos tersebut digunakan sebagai dos radiasi UVB. Mencit ditempatkan dalam sangkar tikus makmal berserta penutup besi tahan karat bagi mengelak haiwan terlepas. Sangkar tersebut ditempatkan dibawah lampu UVB di bilik makmal dermatologi, HCTM. Setiap sangkar ditempatkan dengan 2 ekor mencit tanpa habuk kayu agar setiap mencit mendapat sinaran yang sekata. Mencit juga dibiarkan bergerak bebas semasa proses radiasi UVB dan tempoh masa radiasi bagi mendapatkan dos UVB yang dikehendaki ditetapkan mengikut protokol mesin Dermalight® 800 yang digunakan iaitu selama 3 minit 6 saat.

3.12 ANALISA KULIT

3.12.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam proses analisa kulit adalah sistem Penyesuai Pelbagai Probe (Cutometer® dual MPA 580) Jermany, sapuan beralkohol (Nur Care®) Malaysia.

3.12.2 Kaedah

Pada hari terakhir rawatan, mencit dibawa ke bilik analisa kulit, Jabatan Biokimia, Fakulti Perubatan UKM bagi menjalani pemeriksaan kulit menggunakan mesin penganalisa kulit. Empat jenis prob analisa kulit digunakan bagi menentukan keadaan kulit mencit. Prob yang digunakan ialah prob penganalisa eritema dan melanin (mexameter), prob penganalisa kehilangan air transepidermis (TEWL meter), prob penganalisa kelembapan kulit (Tewameter) dan prob penganalisa keadaan pH kulit (pH meter). Kulit mencit dipastikan tanpa bulu bagi lekapan penuh kepada mata prob dan kulit disapukan dengan sapuan beralkohol sebelum prob diletakkan diatas kulit. Prob penganalisa juga dibersihkan dengan sapuan beralkohol bagi memastikan probe bersih daripada bendasing. Kepala mencit ditutup dengan kain dan badan mencit dipegang bagi mengurangkan pergerakan untuk mendapat bacaan yang lebih stabil. Setelah prob diletakkan atas kulit 3 bacaan diambil di setiap analisa kulit mencit. Nilai purata 3 bacaan dikira dan di catatkan.

3.13 PROSES PELALIAN

3.13.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam proses pelalian adalah picagari 1mL (MIKRO SYRINGE®) China, picagari 5mL (MIKRO SYRINGE®) China. Jarum 26 G x ½ (Terumo®) Japan, Jarum 21 G x 1 ½ (Terumo®) Japan, sapuan beralkohol (Nur Care®) Malaysia.

3.13.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses pelalian mencit ketamil (ilium®) Australia, Xylazil-100 (ilium®) Australia, air suling.

3.13.3 Penyediaan larutan koktail pelalian

Koktail ini disediakan dengan menyukat ketamil sebanyak 6mL dan xylazil sebanyak 2mL menggunakan picagari dan 21 G x 1 ½. Seterusnya, air suling disukat sebanyak 2mL menggunakan picagari 21 G x 1 ½. Ketiga-tiga cecair ini dicampur dan di simpan dalam peti sejuk 4°C sehingga untuk digunakan.

3.13.4 Kaedah

Mencit dilalikan dengan menggunakan koktail campuran Ketamil dan Xylazil. Dos koktail sebanyak 0.1ml/100g berat badan mencit. Berat mencit di timbang dan dos akan dikira berdasarkan berat untuk setiap mencit. Koktail pelalian diambil menggunakan picagari 1ml dan jarum suntikan bersaiz 26 G x ½ dipasangkan untuk menyuntik pelali kepada mencit. Bahagian yang disuntik dikenakan sapuan beralkohol sebelum suntikan pelali. Setelah suntikan diberikan dibahagian intraperitoneal mencit biarkan 1-2 minit supaya mencapai tahap tidak sedar. Setelah mencit berada dalam keadaan tidak sedar, gambar bahagian dorsal mencit diambil untuk dianalisa menggunakan Investigator Global Assessment (IGA). Analisa ini ialah kaedah penilaian visual menggunakan skala ordinal untuk menentukan keadaan kulit berdasarkan pemerhatian keseluruhan. Skor 0 hingga 5 digunakan untuk menilai kulit mencit, di mana skor lebih tinggi menunjukkan tahap kulit yang lebih teruk (Isedeh et al. 2016).

3.14 PROSES BIOPSI KULIT

3.14.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam proses biopsi kulit adalah bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, penebuk biopsi (6mm) (Kai Medical®) Jerman, pad pembedahan (hedo-pet®) China, skapel (B.Braun®) Jerman, forsep (B.Braun®) Jerman.

3.14.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses biopsi kulit penimbal salin fosfat, 10% formalin (Sigma-Aldrich) Jerman, air suling.

3.14.3 Penyediaan larutan

i. Larutan penimbal salin fosfat

Larutan penimbal salin fosfat telah digunakan untuk mencuci specimen sampel sebelum disimpan. Untuk menyediakan larutan ini, 500 mL of air disukat. Kemudian bahan berikut telah dilarutkan dalam air suling yang disukat; 4 g natrium klorida (NaCl), 0.1 g of kalium klorida (KCl), 0.71 g natrium fosfat diasas (Na_2HPO_4), 0.12 g kalium fosfat monobas (KH_2PO_4). pH larutan telah diukur dan dilaraskan dengan beberapa titis asid hidroklorik (HCl) sehingga pH mencapai 7.4. Larutan yang disediakan di simpan dalam bekas kedap udara berlabel dan diletakkan pada suhu bilik untuk kegunaan.

ii. Larutan formalin

Nisbah larutan formalin dan specimen ialah satu bahagian tisu bersamaan 15-20 bahagian larutan formalin. Bagi persediaan 1000 mL formalin dengan berkepekatan 10% memerlukan 100 mL formalin 100% dan 900 mL air suling. Kedua-dua cecair telah di sukut menggunakan silinder penyukat berkapasiti 1000 mL. Formalin 10% yang disediakan disimpan dalam bekas kedap udara berlabel dan diletakkan yang sejuk dan gelap jauh daripada cahaya matahari langsung serta suhu yang melampau. Larutan formalin telah di letakan didalam beberapa bekas specimen kecil bagi tujuan penyimpanan tisu kulit.

3.14.4 Kaedah

Setelah mencit dilalakan, mencit diletakkan di atas pad pembedahan dengan kedudukan mendedahkan bahagian dorsal mencit yang telah dihilangkan bulu. Penebuk biopsi bersaiz 6mm digunakan untuk mendapatkan sampel kulit mencit. Sampel kulit yang telah diambil dicuci dahulu dengan larutan penimbal salin fosfat sebelum penyimpanan.

Sampel kulit yang telah dibiopsi disimpan dalam larutan formalin berkepekatan 10% untuk analisa.

3.15 PEMPEROSAN SAMPEL KULIT DAN PENYEDIAAN SLAID

3.15.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam penyediaan sampel kulit dan slid adalah kaset tisu (Sigma-Aldrich) Jerman, bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, mesin pembenaman tisu (Leica® EG1150 H & C) Jerman, acuan pembenaman (Bio Optica®) Itali, mesin mikrotom (Leica® RM2235) Jerman, pisau mikrotom (Leica®) Jerman, tab air panas (Leica®) Jerman, slaid kaca poli-L-lisin (Sigma aldrich®) US, Plat panas (Premiere® XH □2001) Jepun, forsep (B.Braun®) Jerman, berus halus.

3.15.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses penyediaan sampel kulit dan slid adalah etanol tulen (System®) Malaysia, toluena 100% (System®) Malaysia, air suling, parafin cair (Sigma aldrich®) US.

3.15.3 Kaedah

Sampel tisu kulit terlebih dahulu dikeluarkan daripada formalin dan dimasukkan ke dalam kaset tisu. Kaset mengandungi tisu kulit kemudian menjalani proses dehidrasi melalui rendaman berturutan dalam etanol 50%, 70% dan 80% selama 1 jam setiap satu. Etanol ini disediakan sebelum digunakan. Untuk menyediakan etanol, sebanyak 500 mL, 700 mL, 800 mL etanol tulen (100%) diukur menggunakan silinder penyukat dan dipindahkan ke dalam bikar kaca. Kemudian, etanol dicampurkan dengan air suling sebanyak 500mL untuk etanol 50 %, 700 mL untuk etanol 70 % dan 800 mL untuk etanol 80 %. Ini diikuti tiga rendaman dalam etanol 100% selama 1 jam setiap satu untuk menyingkirkan air sepenuhnya. Seterusnya, tisu direndam dalam campuran toluena dan alkohol (50:50) selama 30 minit sebelum direndam semalaman dalam 100% toluena untuk proses penjernihan. Sebanyak 500 mL toluena diukur menggunakan silinder penyukat dan dipindahkan ke dalam bikar kaca. Seterusnya, 500 mL etanol 100% diukur menggunakan silinder penyukat dan ditambah ke dalam bikar yang sama

untuk menjadikan campuran toluena:alkohol (50:50). Tisu kemudian disusup dengan parafin cair melalui tiga rendaman selama 2 jam setiap satu di dalam ketuhar bagi memastikan penyerapan parafin yang lengkap.

Tisu yang telah disusup parafin seterusnya dibenamkan menggunakan mesin pembenaman (Leica EG1150 H) dengan menuangkan parafin cair ke dalam acuan. Acuan disejukkan pada permukaan sejuk (Leica EG1150 C) untuk membentuk blok parafin pepejal. Blok parafin kemudian dihiris menggunakan mikrotom (Leica RM2235) kepada kepingan nipis setebal kira-kira 5 μm . Kepingan tisudipindahkan ke dalam tab mandian air pada suhu 50°C untuk meratakan lipatan sebelum diangkat menggunakan teknik mana id kana bersadap poli-E-lisin.e t a k k a

Akhir sekali, slaid dikeringkan pada suhu 60°C menggunakan plat panas bagi memastikan specimen melekat dengan baik pada slaid. Prosedur ini memastikan pemeliharaan struktur tisuyang optimum untuk analisis histologi dan diubah suai daripada kaedah yang dilaporkan oleh Ahmed (2016).

3.16 PEWARNAAN HEMATOKSILIN DAN EOSIN

3.16.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam perwarnaan hematoksilin dan eosin adalah plat panas (Premiere® XH 2001) Jepun, rak slaid, jar pewarnaan / Coplin jar (Sigma aldrich®) US, bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, kaca penutup (Topcare®) Filipina, mikroskop cahaya (Olympus®) Jepun.

3.16.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses perwarnaan hematoksilin dan eosin adalah xilena (Merck®) Jerman, etanol tulen (System®) Malaysia, air suling, hematoxylin (Leica®) Jerman, larutan pembeza (differentiator) (Leica®) Jerman, larutan kebiruan (bluing reagent) (Leica®) Jerman, eosin (Leica®) Jerman, medium pemasangan slid (Merck®) Jerman.

3.16.3 Kaedah

Pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E) merupakan teknik asas dalam histologi untuk menilai struktur tisu dan morfologi sel. Kaedah ini digunakan untuk menilai ketebalan epidermis serta mengenal pasti ciri-ciri seperti sel selaran matahari, edema subepidermis, squamasi sel basal dan kerosakan struktur sel. Slaid kaca yang mengandungi tisu terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 55–60°C selama 2 jam menggunakan plat panas untuk mencairkan lilin parafin. Slaid kemudian disusun dalam rak slaid dan dinyahparafinkan melalui rendaman dalam xilena sebanyak dua kali selama 2 minit setiap satu. Dua proses ini dilakukan agar lilin dapat ditanggalkan tanpa tisu tertanggal dari slid. Proses rehidrasi dilakukan dengan merendam slaid dalam etanol 100% sebanyak dua kali selama 2 minit, diikuti etanol 95% selama 2 minit dan seterusnya dibilas dengan air mengalir selama 2 minit.

Slaid kemudian diwarnakan dengan hematoksilin selama 30 saat untuk mewarnakan nukleus. Ini diikuti pembilasan dengan air mengalir selama 1 minit. Seterusnya, slaid dirawat dengan larutan pembeza selama 1 minit untuk membezakan pewarnaan nukleus daripada latar belakang. Kemudian, slid dibilas dengan air selama 1 minit. Proses kebiruan dilakukan selama 1 minit bagi meningkatkan kontras nukleus dan diikuti pembilasan air. Seterusnya, slaid direndam dalam etanol 95% selama 1 minit. Etanol 95% disediakan dengan 950 mL etanol tulen diukur menggunakan silinder penyukat dan dimasukkan ke dalam bikar kaca dan ditambah 50 mL air suling. Kemudian slid direndam dengan eosin selama 45 saat untuk mewarnakan sitoplasma. Selepas pewarnaan, slaid didehidrasi semula melalui rendaman dalam etanol 95% selama 1 minit diikuti dua rendaman dalam etanol 100% selama 1 minit setiap satu. Slaid kemudian dibersihkan dalam xilena sebanyak dua kali selama 2 minit dan ditutup dengan kaca penutup menggunakan medium pemasangan.

Pemerhatian dilakukan menggunakan mikroskop Olympus yang dilengkapi dengan perisian ZEN 2.6 Lite pada pembesaran 4×, 10× dan 40×. Bagi setiap sampel tisu kulit mencit, lima slaid disediakan untuk tujuan pewarnaan dan sekurang-kurangnya lima imej diambil bagi setiap pembesaran pada kawasan berbeza. Kaedah

ini diubah suai daripada protokol kit H&E (Leica) serta kajian terdahulu (Cardiff et al. 2014).

3.17 PEWARNAAN TRIKROMA MASSON' S

3.17.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam pewarnaan trikroma Masson (Premiere® XH □2001) Jepun, rak slaid, jar pewarnaan / Coplin jar (Sigma aldrich®) US, bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, kaca penutup (Topcare®) Filipina, mikroskop cahaya (Olympus®) Jepun.

3.17.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses perwarnaannya adalah kit Masson's trichrome goldner (Bio-Optica®) Itali, xilena (Merck®) Jerman, etanol tulen (System®) Malaysia, medium pemasangan slid (Merck®) Jerman, air suling.

3.17.3 Kaedah

Prosedur pewarnaan trikroma masson □ salah teknik khusus yang digunakan dalam histologi untuk menggambarkan gentian kolagen dalam bahagian tisu. Proses pewarnaan ini tertakluk kepada kaedah yang di dihuraikan dalam kajian terdahulu beserta perubahan mengikut protokol kit pewarnaan Bio-Optica (Van De Vlekkert et al.). Slaid kaca yang mengandungi tisu dipanaskan pada suhu 55 □60°C selama 2 jam menggunakan plat panas untuk mencairkan lilin parafin. Slaid kemudian disusun dalam rak slaid dan menjalani proses deparafinisasi dengan rendaman dalam xilena sebanyak dua kali selama 2 minit setiap satu. Dua proses ini dilakukan agar lilin dapat ditanggalkan tanpa tisu tertanggal dari slid. Seterusnya, slaid direndam dalam etanol 100% sebanyak dua kali selama 2 minit setiap sat. Ini diikuti rendaman dalam etanol 95% selama 2 minit untuk proses rehidrasi tisu.

Selepas itu, slaid diletakkan pada rod pewarnaan dan proses pewarnaan dimulakan dengan menambahkan reagen A dan B dalam jumlah yang sama ke atas tisu kulit mencit dan dibiarkan selama 5 minit sebelum dibuang dengan diserap dengan kertas tisu. Seterusnya, reagen C ditambah dan diinkubasi selama 4 minit serta diikuti pembilasan ringkas dengan air mengalir selama 3-4 saat. Reagen D kemudian ditambahkan dan dibiarkan selama 4 minit diikuti pembilasan dengan air. Reagen E seterusnya digunakan dan diinkubasi selama 5 minit tanpa pembilasan. Reagen F ditambah dan dibiarkan selama 9 minit. Slaid kemudian dibasuh dengan air mengalir, dan keamatan warna diperiksa di bawah mikroskop. Jika perlu, reagen F diulang selama 1-2 minit.

Seterusnya, slaid menjalani proses dehidrasi melalui rendaman berturutan dalam etanol 95% selama 30 saat, diikuti etanol 100% sebanyak dua kali selama 1 minit setiap satu. Slaid kemudian dibersihkan dalam xilena sebanyak dua kali selama 2 minit sebelum dipasang dengan kaca penutup menggunakan medium pemasangan. Pemerhatian dilakukan menggunakan mikroskop Olympus yang dilengkapi dengan perisian ZEN 2.6 Lite pada pembesaran 4 \times , 10 \times dan 40 \times . Sekurang-kurangnya lima imej diambil bagi setiap pembesaran pada kawasan berbeza. Prosedur ini membolehkan visualisasi dan penilaian gentian kolagen dalam tisu. Bagi setiap sampel tisu kulit mencit, lima slaid disediakan untuk tujuan pewarnaan.

3.18 PEWARNAAN IMUNOHISTOKIMIA (IHC) DIMER TIMINA

3.18.1 Alat radas

Alat radas yang digunakan dalam pewarnaan immunohistokimia adalah plat panas (Premiere® XH 2001) Jepun, rak slaid, jar pewarnaan / Coplin jar (Sigma aldrich®) US, bikar kaca (PYREX®) US, silinder penyukat (PYREX®) US, kaca penutup (Topcare®) Filipina, ketuhar gelombang mikro (Panasonic®) Malaysia, tiub mikroemparan (FC-BIOS®), pipet mikroliter (Eppendorf®) dan tip pipet (Eppendorf®), mikroskop cahaya (Olympus®) Jepun.

3.18.2 Reagen

Reagen yang digunakan dalam proses perwarnaan immunohistokimia adalah etanol tulen (System®) Malaysia, Kit immunohistokimia (Abcam®) UK, anti-Thymine Dimer mAb, clone KTM53 (Kamiya®) US, penimbal basuhan 10x (Dako®) Denmark, xilena (Merck®) Jerman, medium pemasangan slid (Merck®) Jerman, air suling.

3.18.3 Kaedah

Pewarnaan ini adalah untuk mengesan dimer timina atau dikenali sebagai *dimer cyclobutane pyrimidine*. Dimer timina ialah sejenis lesi DNA. Dimer timina ialah struktur abnormal yang terbentuk apabila dua bes timina dalam DNA terikat bersama akibat pendedahan cahaya UV. Mengesan dimer timina berfungsi sebagai penanda untuk kerosakan DNA yang disebabkan oleh UVB dalam badan. Sel mempunyai mekanisme perbaikan untuk membetulkan dimer timina tetapi kadangkala proses perbaikan itu sendiri boleh menyebabkan mutasi (Mallet et al. 2016). Metodologi pewarnaan ini mengikut kajian terdahulu dan diubah suai daripada protokol yang disediakan oleh pembekal kit dimer immunohistokimia timin serta jumlah sel di terjemah dalam bentuk gred peratusan (%). Sel yang diwarnakan dikira secara manual pada setiap imej. Peratus sel dimer timina dikira dengan membahagikan bilangan sel yang menunjukkan warna coklat kehitaman dengan jumlah keseluruhan sel yang dianalisis dan didarab dengan 100 (Young et al. 2018).

Slaid polilisin terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 55–60°C selama 2 jam menggunakan hot plate untuk mencairkan lilin parafin. Slaid kemudian disusun pada rak dan direndam dalam xilena sebanyak dua kali selama 5 minit bagi proses deparafinisasi. Seterusnya, slaid dihidrat semula melalui rendaman berturutan dalam alkohol 100% dan 95% (dua kali setiap satu, 5 minit setiap rendaman). Proses diikuti dengan pembilasan dalam larutan penimbal fosfat (PBS) sebanyak dua kali selama 2 minit dan air suling selama 2 minit. Untuk proses pemulihan antigen, slaid direndam dalam penimbal sitrat 1:100. Untuk menyediakan 100 mL larutan, sebanyak 1 mL penimbal sitrat pekat diukur menggunakan pipet dan dicampurkan dengan 99 mL air suling. Kemudian slaid dipanaskan menggunakan ketuhar gelombang mikro sehingga

mendidih, kemudian diteruskan pemanasan selama 10 minit. Slaid dibiarkan sejuk selama 20 minit sebelum dibilas dengan air dan PBS. Aktiviti peroksidase endogen dihentikan menggunakan hidrogen peroksida selama 10 minit. Slide dibilasan dengan PBS. Seterusnya, slaid dirawat dengan larutan penghalang protein selama 10 minit untuk mengurangkan pewarnaan tidak spesifik.

Larutan antibodi primer (Anti-Thymine Dimer) disediakan dengan nisbah pencairan 1:40. Sebanyak 1 μ L antibodi primer ditambah ke dalam 39 μ L larutan pencair antibodi di dalam tiub mikroemparan berlabel. Larutan kemudian dicampurkan secara perlahan menggunakan pipet. Antibodi primer dititiskan ke atas tisu dan diinkubasi selama 1 jam dalam keadaan gelap dan diikuti dengan bilasan menggunakan PBS. Slaid kemudian dirawat dengan reagen penghalang tambahan (mouse specifying reagent) sebelum inkubasi dengan antibodi sekunder konjugat HRP anti-arnab kambing selama 15 minit. Pewarnaan divisualisasikan menggunakan larutan DAB selama 5 minit. Untuk menyediakan campuran DAB, satu titis kromogen DAB ditambahkan ke dalam kira-kira 1.5 mL (\pm 50 titis) penimbal substrat DAB di dalam tiub mikroemparan. Larutan DAB menghasilkan warna coklat pada sel positif. Slaid seterusnya diwarnakan dengan hematoxylin selama 30 saat sebagai pewarna penentang dan diikuti proses dehidrasi melalui alkohol berturutan dan xilena sebelum dipasang dengan penutup kaca. Pemerhatian dilakukan menggunakan mikroskop Olympus yang dilengkapi dengan perisian ZEN 2.6 Lite pada pembesaran 4 \times , 10 \times dan 40 \times . Sekurang-kurangnya lima imej diambil bagi setiap slaid pada kawasan berbeza. Prosedur ini membolehkan visualisasi dan penilaian kerosakan DNA dalam tisu kulit. Bagi setiap sampel tisu kulit mencit, lima slaid disediakan untuk tujuan pewarnaan. Kaedah ini diubah suai daripada protokol kit imunohistokimia Abcam menggunakan antibodi Anti-Thymine Dimer (clone KTM53, Kamiya).

3.19 ANALISIS STATISTIK

□ e r i *Statistical Package for the Social Sciences* □ (SPSS) versi 27 digunakan untuk menganalisis semua data parameter ujian. Bagi menentukan taburan data, ujian Shapiro-Wilk digunakan dalam analisis ini. Data yang bertaburan normal dianalisis dengan menggunakan ujian parametrik analisis varian satu hala (one-way ANOVA) dan

diikuti dengan ujian Post-hoc Tukey bagi mengenalpasti kumpulan yang menunjukkan perbezaan yang signifikan ($p < 0.05$). Berbeza dengan data yang bertaburan tidak normal, ujian Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U dan Wilcoxon Signed-Rank pula digunapakai dalam menganalisis data. Nilai $p < 0.05$ diterima sebagai signifikan dan data dinyatakan sebagai nilai purata \pm ralat piawai (SEM) di dalam setiap graf.



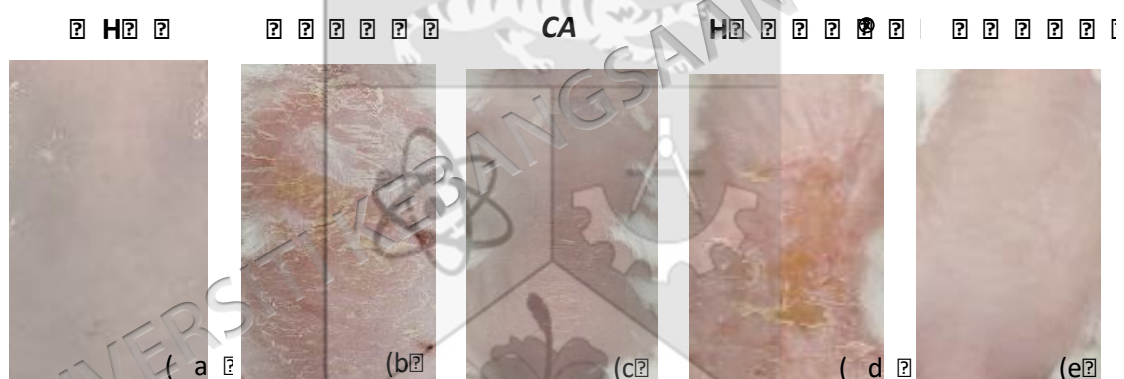
BAB IV

DAPATAN KAJIAN

4.1 PEMERHATIAN KULIT FIZIKAL

4.1.1 Pemerhatian visual eritema

Gambar 4.1 menunjukkan perbandingan keadaan kulit antara kumpulan mencit. Melalui pemerhatian visual, kumpulan kawalan, CA dan Heliocare® menunjukkan kelembapan kulit dan kemerahan eritema berbanding kumpulan Sham dan topikal.



Gambar 4.1 menunjukkan perbandingan keadaan kulit setelah 10 hari rawatan mengikut 5 kumpulan mencit.

Sham = Kulit normal tanpa pendedahan UVB dan tanpa rawatan.

Kawalan = Kulit terdedah kepada UVB tanpa rawatan.

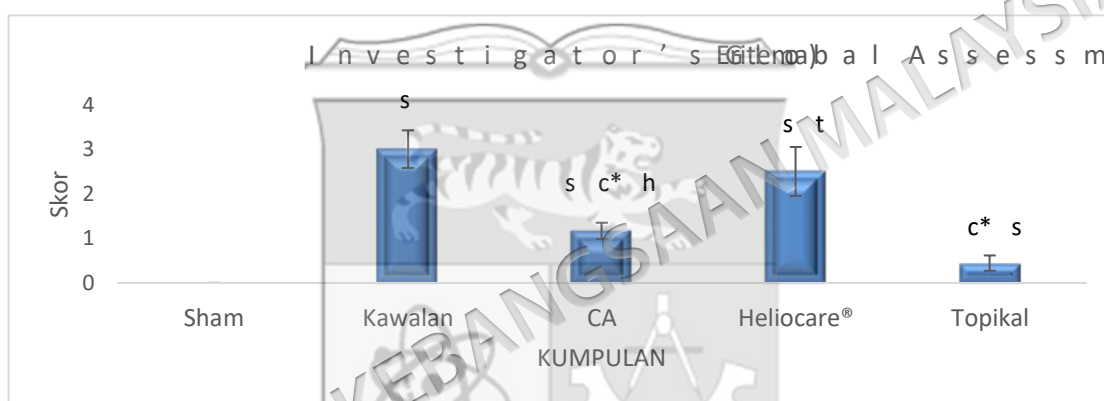
CA = Kulit terdedah kepada UVB dan dirawat dengan ekstrak CA (oral, 500mg/kg).

Heliocare® = Kulit terdedah kepada UVB dan dirawat dengan Heliocare® (oral, 200mg/kg).

Topikal = Kulit terdedah kepada UVB dan dirawat dengan formulasi topikal (Sunplay Skin Aqua SPF50+).

Gr 4 1 menunjukkan skor eritema berdasarkan IGA selepas 10 hari rawatan. Data menunjukkan keadaan eritema pada hari ke-10 untuk setiap kumpulan. Skor eritema untuk kumpulan Sham adalah 0.00 ± 0.42 , menandakan tahap

selepas pendudnphu6Ama h W B n j u k k a n p e n u r u n a n k e t a e r i t e m a k e p a d a 1.17 ± 0.1 k a s u b l e a r b a k t o l o n i p l y d k l a u m p u l a n m e n c a t a t k a n s k o r p a l i n g r e n d a h d a l a m k a l a n g a n l i m i e n u n j u k k a n p e n g u r a n g a n e r i t e m a m a r y a k g l l a e b i h b k u m p u l a n H e l i o c a r e [®] m e n c a l t m e i t n k u a n r j s i k e a r 2 p 5 0 g u o r . a s k e s e a r n i t H e e m a i o l c a e b e h r e n d a b a l e a t o p a s k e i l t n g m a s i h m e n g h a m p i r i t a k h a p l o a l u n e n p u b a r i k a j m i e n u n j u k a n b a h a d a p a t m e n g u r a n g k a n e r i t e m a b e r b a n p d i k a g l d t e l i o c a m e n g u r a n g k a n e r i c a e m a b e r b a n d i n g



Graf 4.1 menunjukkan perbandingan eritema secara visual antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

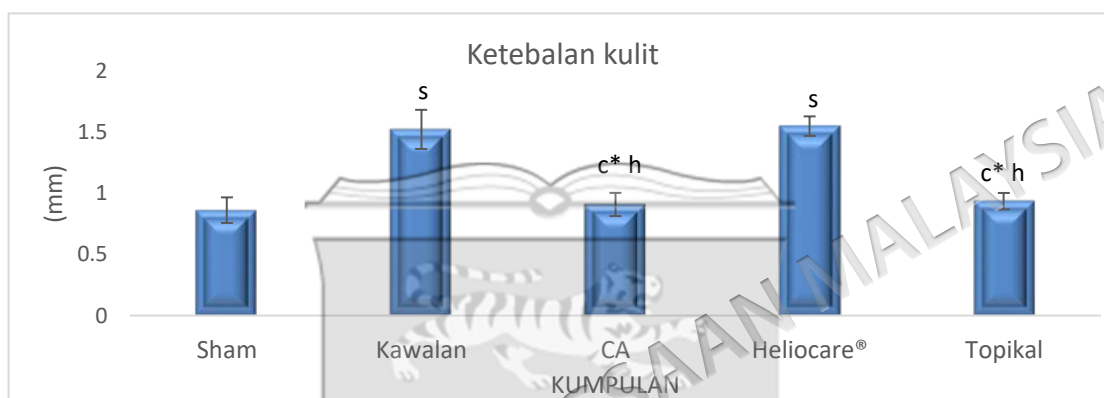
h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.1.2 Ukuran ketebalan kulit mencit

Ketebalan kulit dapat dilihat di graf dalam Graf 4.2. Kumpulan sham yang tidak terdedah kepada UVB dan tidak menerima rawatan mempunyai ketebalan kulit purata terendah iaitu 0.86 ± 0.1 mm. Sebaliknya, kumpulan kawalan yang terdedah kepada UVB tanpa rawatan menunjukkan ketebalan kulit purata tertinggi pada 1.52 ± 0.35 mm. Ini menandakan penebalan kulit yang signifikan akibat UVB ($p = 0.001 \pm$ berbanding sham). Rawatan dengan CA dan topikal menghasilkan ketebalan kulit purata hampir

kepada normal yang masing-masing 0.91 ± 0.04 mm dan 0.93 ± 0.008 mm. Keduanya menunjukkan perbezaan yang signifikan berbanding kawalan ($p = 0.001\pm$). Sementara itu, kumpulan Heliocare® dengan ketebalan kulit purata 1.55 ± 0.03 mm menunjukkan peningkatan ketebalan kulit yang serupa dengan kawalan. Ketebalan ini meningkat dengan signifikan berbanding *CA* dan topikal ($p = 0.001$). Kajian ini menunjukkan bahawa rawatan *CA* dan topikal dapat mengurangkan ketebalan kulit kepada ukuran yang normal kumpulan Sham.



Graf 4.2 menunjukkan perbandingan ketebalan kulit antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

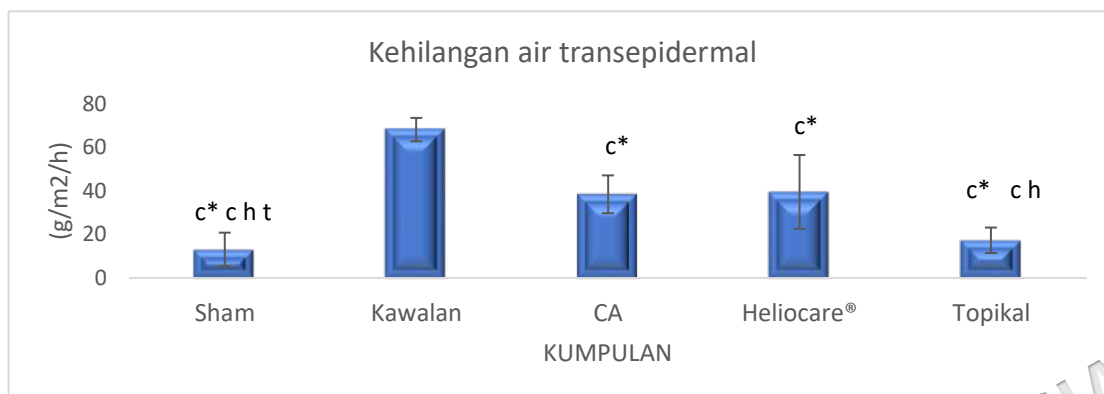
c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

4.1.3 Tahap kehilangan air transepidermal (TEWL)

Kumpulan Sham mencatatkan nilai TEWL purata terendah iaitu 13.15 ± 7.7 $\text{g/m}^2/\text{h}$, manakala kumpulan kawalan menunjukkan nilai tertinggi sebanyak 68.12 ± 5.4 $\text{g/m}^2/\text{h}$ dalam Graf 4.3. Kumpulan *CA* mencatatkan nilai 38.42 ± 8.7 $\text{g/m}^2/\text{h}$, lebih rendah secara signifikan berbanding kawalan ($p = 0.0002\pm$) tetapi masih lebih tinggi daripada Sham ($p = 0.0014\pm$). Kumpulan Heliocare® menunjukkan nilai 39.52 ± 16.9 $\text{g/m}^2/\text{h}$. Ini tidak berbeza secara signifikan dengan *CA* ($p = 0.9997\pm$), namun lebih tinggi daripada Sham ($p = 0.0008\pm$) dan lebih rendah daripada kawalan ($p = 0.0003\pm$). Kumpulan topikal mencatatkan nilai 17.32 ± 5.9 $\text{g/m}^2/\text{h}$, lebih rendah daripada *CA* dan Heliocare®. Manakala, lebih tinggi daripada Sham ($p = 0.0084\pm$), tetapi jauh lebih rendah secara signifikan berbanding kawalan ($p < 0.0001$). Kajian menunjukkan bahawa *CA*,

Heliocare® dan topikal dapat mengurangkan TEWL berbanding kawalan. Namun, topikal dapat mengurangkan kadar TEWL lebih baik dari *CA* dan Heliocare®.



Graf 4.3 menunjukkan perbandingan kehilangan air transepidermal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* c.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

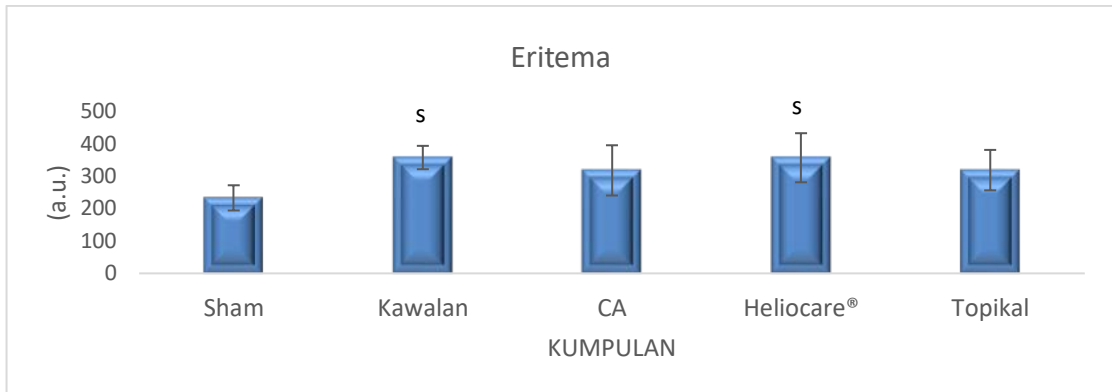
c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

c = signifikan berbanding *CA* ($p < 0.05$)

4.1.4 Nilai eritema dan melanin

Graf 4.4 menunjukkan perbandingan bacaan eritema pada kulit antara kumpulan sham, kawalan, *CA*, heliocare® dan topikal selepas 10 hari rawatan. Rajah 4.4 menunjukkan bacaan eritema bagi kumpulan kawalan mencatatkan purata eritema tertinggi iaitu 357.39 ± 36.02 a.u., manakala kumpulan sham yang tidak terdedah kepada UVB menunjukkan nilai lebih rendah iaitu 233.00 ± 38.82 a.u. Kumpulan *CA* menunjukkan penurunan nilai eritema kepada 317.72 ± 77.54 a.u. berbanding kumpulan kawalan. Namun, perbezaan ini tidak signifikan secara statistik ($p = 0.7885 \pm$). Kumpulan topikal mencatatkan purata 318.56 ± 62.34 a.u. Ini hampir sama dengan *CA* dan juga tidak menunjukkan perbezaan signifikan ($p = 1.0000 \pm$).

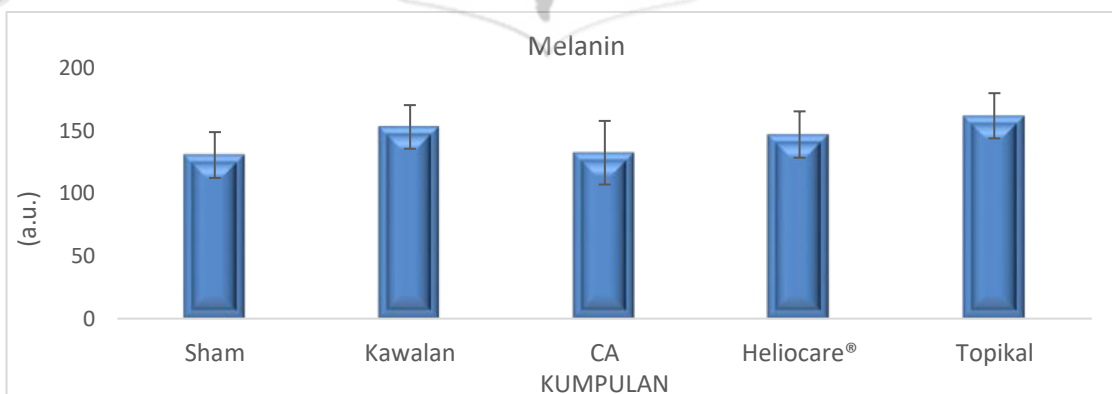
Manakala, kumpulan Heliocare® mencatatkan purata 356.72 ± 75.68 a.u., hampir setara dengan kumpulan kawalan dan tidak menunjukkan perbezaan signifikan ($p = 1.0000 \pm$). Secara keseluruhan, walaupun terdapat trend penurunan eritema dalam kumpulan *CA* dan topikal, perubahan tersebut tidak signifikan secara statistik.



Graf 4.4 menunjukkan perbandingan eritema antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

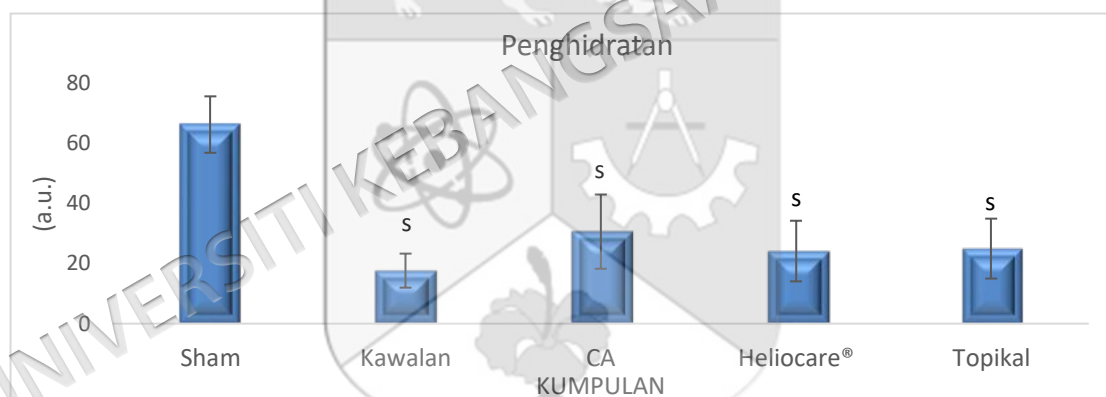
Graf 4.5 menunjukkan perbandingan penghasilan melanin antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s. Perbezaan yang signifikan berbanding kumpulan sham ($p < 0.05$) ditunjukkan dengan anotasi s. Nilai melanin dalam kumpulan Sham adalah 124.78 ± 25.14 a.u., kumpulan Kawalan adalah 147.72 ± 18.40 a.u., kumpulan CA adalah 131.72 ± 18.40 a.u., kumpulan Heliocare® adalah 147.72 ± 18.40 a.u., dan kumpulan Topikal adalah 161.72 ± 18.40 a.u. Perbezaan yang signifikan berbanding kumpulan sham ditunjukkan oleh anotasi s.



Graf 4.5 menunjukkan perbandingan penghasilan melanin antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan.

4.1.5 Nilai penghidratan kulit

Kumpulan sham menunjukkan tahap penghidratan kulit purata tertinggi sebanyak 66.03 ± 9.4 . Kumpulan kawalan mencatatkan tahap penghidratan purata yang jauh lebih rendah iaitu 17.58 ± 5.65 dalam Graf 4.6. Ini menunjukkan dehidrasi kulit yang ketara akibat kerosakan UVB ($p < 0.0001$). Kumpulan CA menunjukkan peningkatan penghidratan dengan purata 30.53 ± 12.32 , lebih tinggi daripada kumpulan kawalan tetapi masih lebih rendah berbanding kumpulan sham ($p < 0.0001$). Walaupun terdapat peningkatan berbanding kawalan, ia tidak signifikan secara statistik ($p = 0.1751$). Kumpulan Heliocare® dan topikal masing-masing mempunyai tahap penghidratan purata 24.07 ± 10.05 dan 24.89 ± 9.94 tetapi tidak berbeza secara signifikan daripada CA ($p = 0.7778$ dan $p = 0.8506$) dan masih jauh lebih rendah daripada kumpulan sham ($p < 0.0001$). Oleh itu, CA, Heliocare® dan topikal tidak mengekalkan penghidratan kulit.



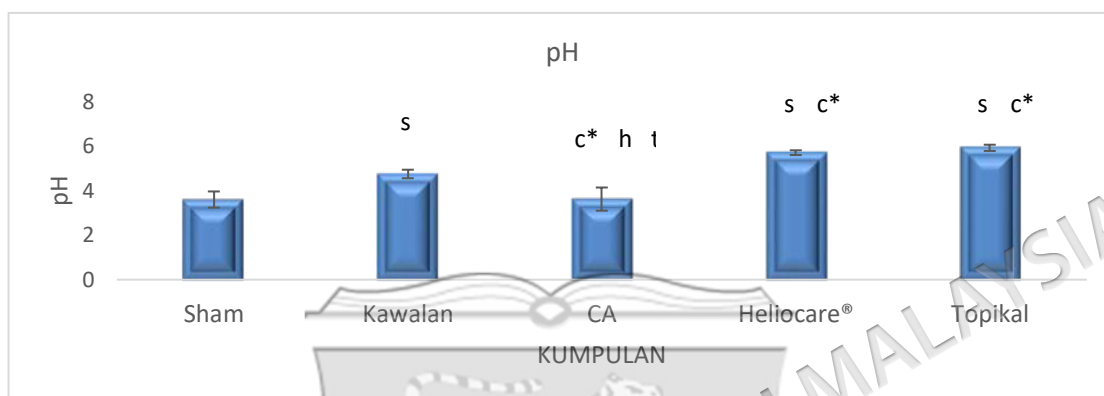
Graf 4.6 menunjukkan perbandingan penghidratan antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

4.1.6 Pemerhatian keasidan kulit

Graf 4.7 menunjukkan perbandingan nilai pH kulit selepas 10 hari rawatan. Kumpulan Sham mencatatkan pH purata 3.61 ± 0.37 . Ini menunjukkan keadaan kulit yang sihat dan berasid. Kumpulan kawalan menunjukkan peningkatan signifikan kepada 4.76 ± 0.19 ($p < 0.0001$), menandakan gangguan fungsi lapisan kulit akibat UVB. Kumpulan CA mengekalkan pH pada 3.63 ± 0.52 . Dapatan ini hampir sama dengan Sham ($p = 1.0000$), ini menunjukkan kesan perlindungan terhadap perubahan pH. Sebaliknya,

kumpulan Heliocare® dan topikal mencatatkan pH lebih tinggi iaitu 5.72 ± 0.11 dan 5.94 ± 0.14 , yang signifikan lebih tinggi berbanding Sham dan CA ($p < 0.0001$). Nilai pH Heliocare® juga lebih tinggi berbanding kawalan ($p = 0.0001$), manakala tiada perbezaan signifikan antara Heliocare® dan topikal ($p = 0.7284$). Oleh itu, kajian ini menunjukkan bahawa CA dapat mengekalkan pH berbanding Heliocare® dan topikal.



Graf 4.7 menunjukkan perbandingan nilai pH kulit antara 5 kumpulan anencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

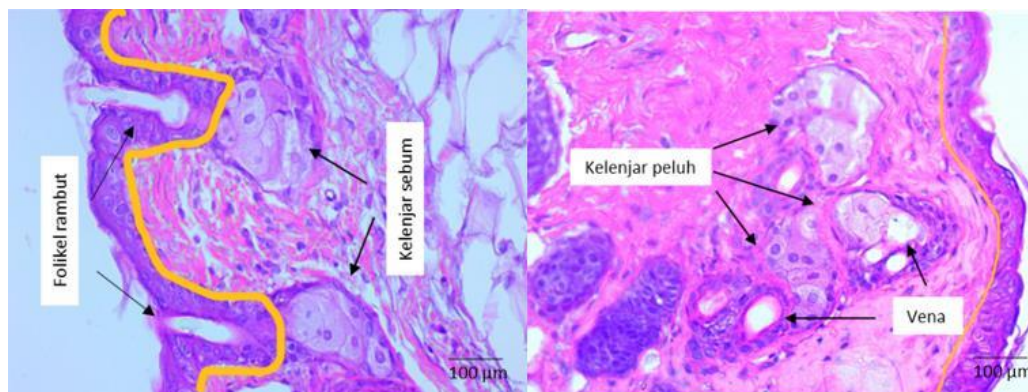
h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.2 PEMERHATAN HISTOLOGI

4.2.1 Kumpulan Sham

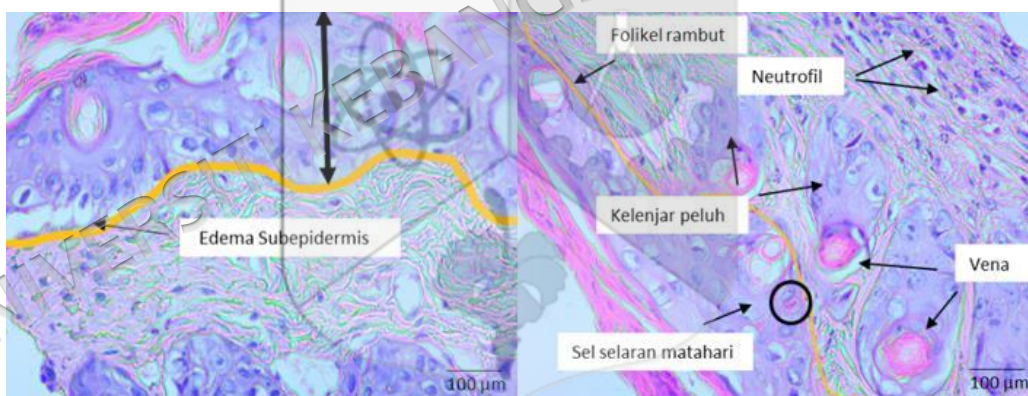
Histologi kumpulan Sham dalam Gambar 4.2 menunjukkan struktur histologi kulit yang normal dengan susunan epidermis dan dermis yang teratur. Struktur apendaj tambahan seperti folikel rambut, kelenjar sebum dan kelenjar peluh dapat dikenal pasti dengan jelas. Tiada tanda infiltrasi sel radang, edema atau perubahan morfologi tisu diperhatikan.



Gambar 4.2 menunjukkan histologi kulit kumpulan Sham menunjukkan morfologi kulit yang normal tanpa perubahan patologi. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm.

4.2.2 Kumpulan Kawalan

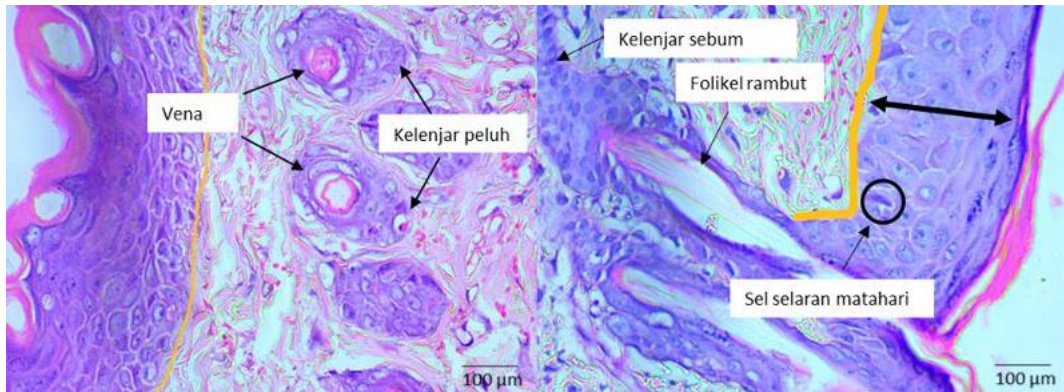
Gambar 4.3 Perubahan histologi kumpulan kawalan yang ketara selepas pendedahan UVB. Penebalan epidermis, edema subepidermis serta kehadiran sel radang seperti neutrofil dapat diperhatikan. Selain itu, terdapat juga kehadiran sel selaran matahari (sunburn cells) yang menunjukkan kerosakan sel akibat pendedahan UVB.



Gambar 4.3 menunjukkan histologi kulit kumpulan kawalan selepas pendedahan UVB menunjukkan perubahan morfologi yang ketara berbanding kumpulan Sham. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 µm.

4.2.3 Kumpulan CA

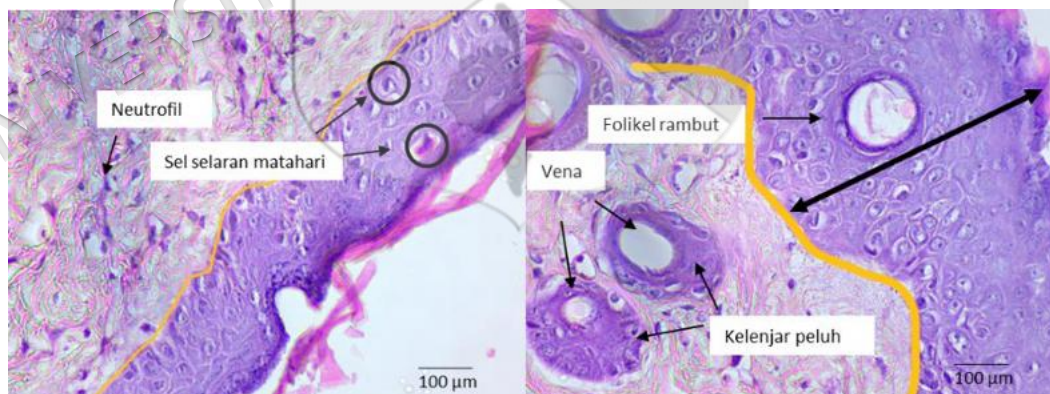
Struktur histologi kulit Kumpulan CA diperhatikan dalam gambar yang lebih terpelihara berbanding kumpulan kawalan. Epidermis kelihatan lebih teratur dengan pengurangan tanda keradangan. Struktur apendek tambahan seperti folikel rambut, kelenjar sebum dan kelenjar peluh masih dapat dikenal pasti dengan jelas. Ini menunjukkan kesan perlindungan terhadap kerosakan tisu.



Gambar 4.4 menunjukkan histologi kulit kumpulan CA selepas 10 hari rawatan menunjukkan struktur kulit yang lebih terpelihara berbanding kumpulan kawalan. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

Umpu Dealni ocare

Histologi kulit kumpulan Heliocare® di Gambar 4.5 masih menunjukkan beberapa perubahan histologi akibat pendedahan UVB. Kehadiran sel radang seperti neutrofil dan sel selaran matahari dapat diperhatikan dalam epidermis dan dermis. Walaupun struktur apendaj tambahan masih dapat dikenal pasti tetapi susunan tisu kelihatan kurang teratur berbanding kumpulan Sham dan CA.

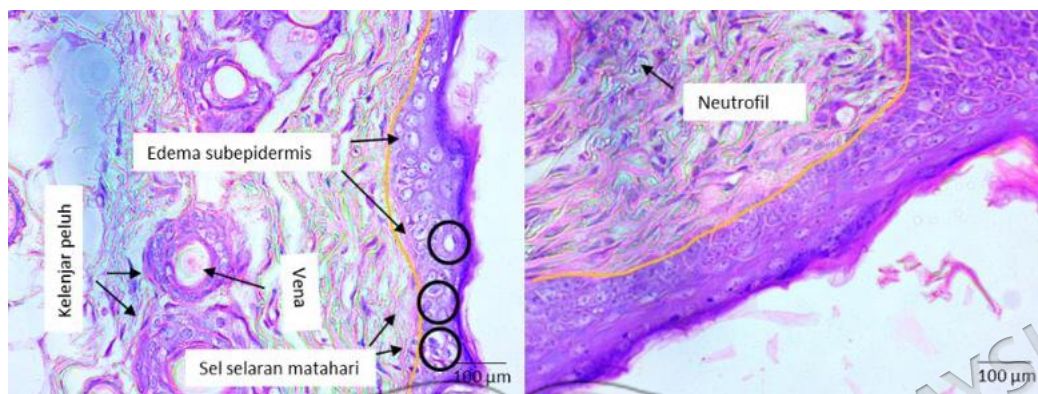


Gambar 4.5 menunjukkan histologi kulit kumpulan Heliocare® selepas 10 hari rawatan menunjukkan perubahan morfologi kulit yang masih ketara selepas pendedahan UVB. Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

Umpu amikal

Kumpulan topikal menunjukkan perubahan histologi sederhana dengan kehadiran edema subepidermis dan beberapa sel radang dalam dermis dalam Gambar 4.6. Sel

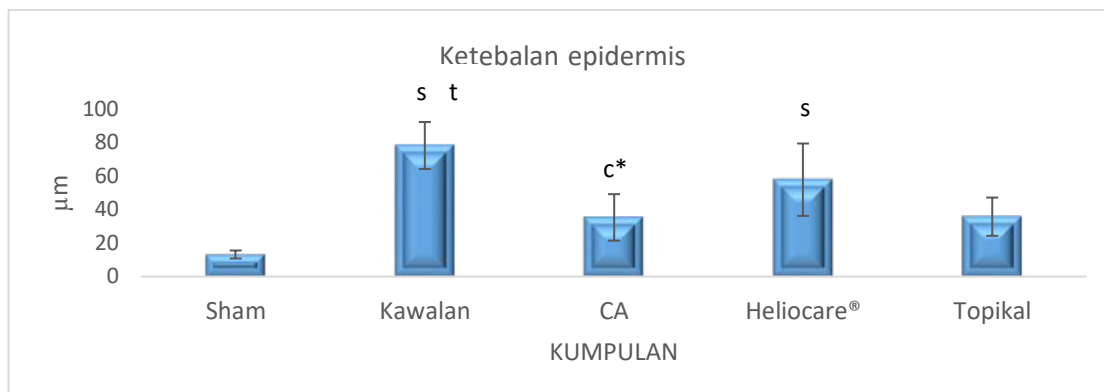
selaran matahari juga dapat diperhatikan dalam epidermis. Walau bagaimanapun, struktur apendaj tambahan kulit seperti kelenjar peluh dan salur darah masih dapat dikenal pasti.



Gambar 4.6 menunjukkan histologi kulit kumpulan topikal selepas 10 hari rawatan menunjukkan perubahan morfologi kulit akibat pendedahan UVB. Pewarnaan Hematoksylin dan Eosin (H&E), objektif 40 \times ; skala bar = 100 μ m.

4.2.4 Ukuran ketebalan epidermis

Dalam Graf 4.8 menunjukkan kumpulan sham mempunyai ketebalan epidermis purata terendah sebanyak $13.15 \pm 2.4 \mu\text{m}$. Sebaliknya, kumpulan kawalan yang terdedah kepada UVB tanpa rawatan menunjukkan ketebalan epidermis purata tertinggi sebanyak $78.11 \pm 14.0 \mu\text{m}$. Penebalan ini berbeza secara signifikan berbanding sham ($p < 0.0001$). Kumpulan CA yang dirawat selepas pendedahan UVB mempunyai ketebalan epidermis purata sebanyak $35.27 \pm 13.9 \mu\text{m}$. Ia lebih rendah secara signifikan berbanding kawalan ($p = 0.0002$). Ini menunjukkan keberkesanan CA dalam mengurangkan penebalan akibat UVB tetapi masih lebih tinggi daripada sham. Kumpulan heliocare mempunyai ketebalan purata $57.74 \pm 21.6 \mu\text{m}$ lebih rendah daripada kawalan tetapi lebih tinggi daripada CA dengan perbezaan dari CA tidak signifikan secara statistik ($p = 0.0718$). Kumpulan topikal pula menunjukkan ketebalan purata $35.70 \mu\text{m}$ serupa dengan CA tanpa perbezaan signifikan antara kedua-duanya ($p = 1.0000$). Kajian menunjukkan bahawa CA dan topikal dapat mengurangkan ketebalan epidermis berbanding kawalan.



Graf 4.8 menunjukkan perbandingan ketebalan lapisan epidermis kulit antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c*.

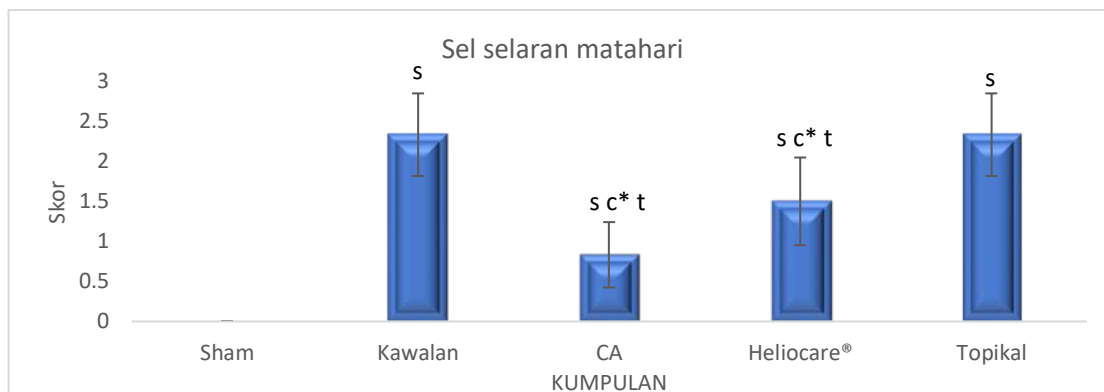
s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.2.5 Pemerhatian pembentukan sel selaran matahari

Kumpulan sham mempunyai purata skor sel selaran matahari sebanyak 0 seperti yang dilihat dalam Graf 4.9 yang menunjukkan tiada kerosakan akibat UVB dan kulit berfungsi dengan baik. Sebaliknya, kumpulan kawalan menunjukkan purata skor sel selaran matahari tertinggi sebanyak 2.33 ± 0.51 . Ini mencerminkan kerosakan kulit yang ketara dan perbezaan secara signifikan berbanding sham ($p < 0.0001$). Kumpulan CA mempunyai purata skor sel selaran matahari sebanyak 0.83 ± 0.41 . Ia lebih rendah daripada kawalan ($p = 0.0000$) tetapi masih berbeza daripada sham ($p = 0.0262$). CA menunjukkan keberkesanan dalam mengurangkan pembentukan sel selaran matahari akibat UVB. Kumpulan Heliocare® mempunyai purata skor sel selaran matahari sebanyak 1.5 ± 0.55 . Ini lebih rendah daripada kawalan tetapi lebih tinggi daripada CA. Keberkesanan yang sederhana dapat dilihat dalam mengurangkan sel selaran matahari ($p = 0.0262$). Kumpulan topikal mempunyai purata skor sel selaran matahari sebanyak 2.33 ± 0.516 . Nilai ini sama dengan kawalan yang menunjukkan bahawa rawatan topikal tidak berjaya mengurangkan pembentukan sel selaran matahari. Oleh itu kajian menunjukkan CA dan Heliocare® dapat mengurangkan sel selaran matahari berbanding topikal.



Graf 4.9 menunjukkan perbandingan sel selaran matahari antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* t.

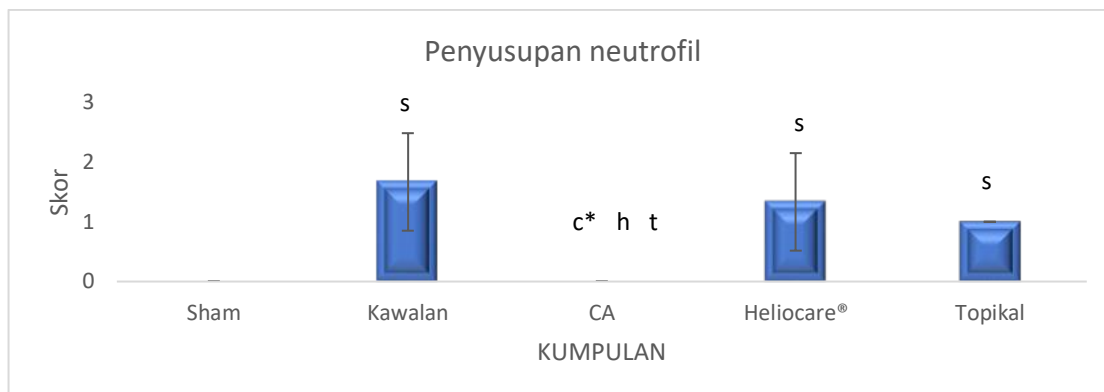
s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.2.6 Pemerhatian kewujudan neutrofil

Graf 4.10 menunjukkan perbandingan penyusupan neutrofil dalam kulit antara kumpulan sham, kawalan, CA, Heliocare® dan topikal selepas 10 hari rawatan. Hasil kajian mendapati kumpulan sham mempunyai tahap penyusupan neutrofil sebanyak 0. Ini menunjukkan tiada keradangan. Sebaliknya, kumpulan kawalan menunjukkan tahap penyusupan neutrofil skor tertinggi sebanyak 1.67 ± 0.82 yang menandakan keradangan yang ketara ($p < 0.0001$). Kumpulan CA yang dirawat selepas pendedahan UVB juga menunjukkan tahap penyusupan neutrofil sebanyak 0. Nilai ini jauh lebih rendah berbanding kumpulan kawalan ($p = 0.0001$). Ini menunjukkan keberkesanan CA dalam mencegah keradangan. Kumpulan heliocare mempunyai tahap skor penyusupan neutrofil sebanyak 1.33 ± 0.82 . Penyusupan ini lebih rendah daripada kawalan tetapi lebih tinggi daripada CA. Perbezaan ini tidak signifikan secara statistik ($p = 0.7956$) yang menunjukkan keberkesanan sederhana. Kumpulan topikal pula mempunyai tahap skor penyusupan neutrofil sebanyak 1.00 ± 0.82 . Ia lebih rendah daripada kawalan dan heliocare® tetapi lebih tinggi daripada CA dan sham ($p = 0.0195$). Ini menunjukkan tahap perlindungan yang sederhana terhadap keradangan yang disebabkan oleh UVB. Oleh itu, CA dapat mengurangkan penyusupan neutrofil berbanding Heliocare® dan topikal.



Graf 4.10 menunjukkan perbandingan penyusupan neutrofil antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam min \pm SEM ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikasi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

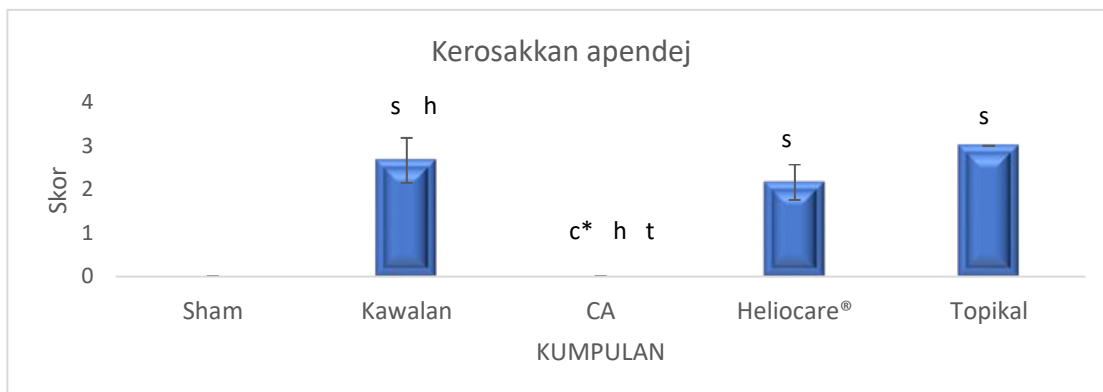
c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.2.7 Penilaian apendek kulit

Kumpulan sham dan CA menunjukkan tahap kemusnahan purata skor sebanyak 0. Ini menandakan tiada kerosakan pada apendek kulit dan menunjukkan pengekalan integriti dan menghalang kerosakan. Sebaliknya, kumpulan kawalan menunjukkan tahap kemusnahan purata skor sebanyak 2.67 ± 0.52 yang merupakan kerosakan yang ketara pada apendek kulit dengan perbezaan signifikan secara statistik berbanding kumpulan sham dan CA ($p < 0.0001$). Ini mengesahkan kesan perlindungan CA. Kumpulan Heliocare® mencatatkan tahap kemusnahan purata skor sebanyak 2.17 ± 0.41 . Iaitu sedikit lebih rendah daripada kumpulan kawalan tetapi masih menunjukkan kerosakan yang ketara pada apendek kulit dengan perbezaan signifikan secara statistik berbanding kawalan ($p = 0.0495$). Pemerhatian ini juga mencadangkan Heliocare® memberikan perlindungan yang kurang berkesan berbanding CA. Kumpulan topikal mempunyai tahap kemusnahan purata skor tertinggi sebanyak 3.0 yang jauh lebih tinggi daripada kumpulan lain ($p < 0.0001$). Hasil kajian dapat diperhatikan dalam graf dalam Graf 4.11. Secara keseluruhan, CA mengurangkan kerosakan apendek berbanding Heliocare® dan topikal.



Graf 4.11 menunjukkan perbandingan kerosakkan apendej antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* h t.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

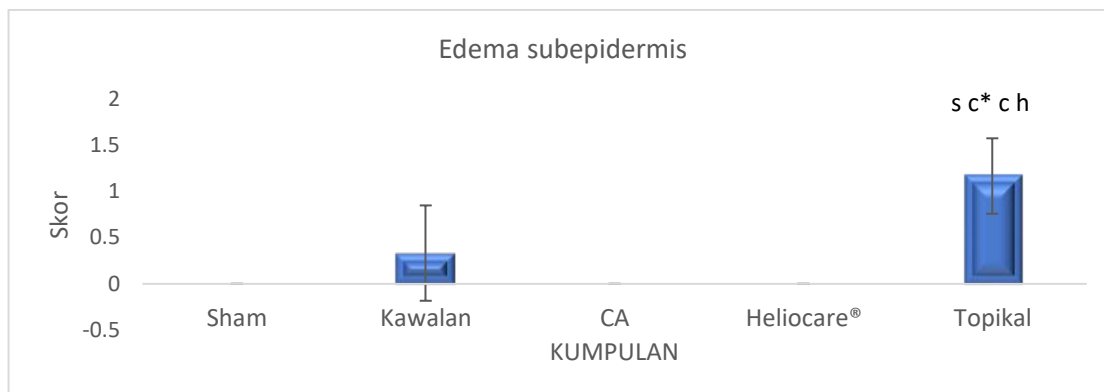
c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

c = signifikan berbanding CA ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

4.2.8 Penilaian edema subepidermal pada kulit

Graf 4.12 menunjukkan perbandingan edema subepidermal antara kumpulan sham, kawalan, CA, heliocare® dan topikal selepas 10 hari rawatan. Kumpulan sham mempunyai tahap edema subepidermal purata skor sebanyak 0. Ini menunjukkan tiada pembengkakan di kawasan epidermal dan kulit sihat tanpa edema. Sebaliknya, kumpulan kawalan yang terdedah kepada UVB tanpa rawatan menunjukkan tahap edema subepidermal purata skor sebanyak 0.33 ± 0.52 . Edema akibat pendedahan UVB tiada perbezaan ketara daripada kumpulan sham ($p = 0.3132$). Kumpulan CA dan Heliocare® mempunyai tahap edema subepidermal purata skor sebanyak 0. Ini sama seperti kumpulan sham yang menunjukkan keberkesanan dalam mencegah pembentukan edema subepidermal. Sebaliknya, kumpulan topikal mempunyai tahap edema subepidermal purata skor tertinggi sebanyak 1.17 ± 0.41 yang jauh lebih tinggi daripada semua kumpulan lain ($p < 0.0001$). Rawatan menunjukkan CA dan Heliocare® dapat mengurangkan edema berbanding topikal.



Graf 4.12 menunjukkan perbandingan edema subepidermal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* c h.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

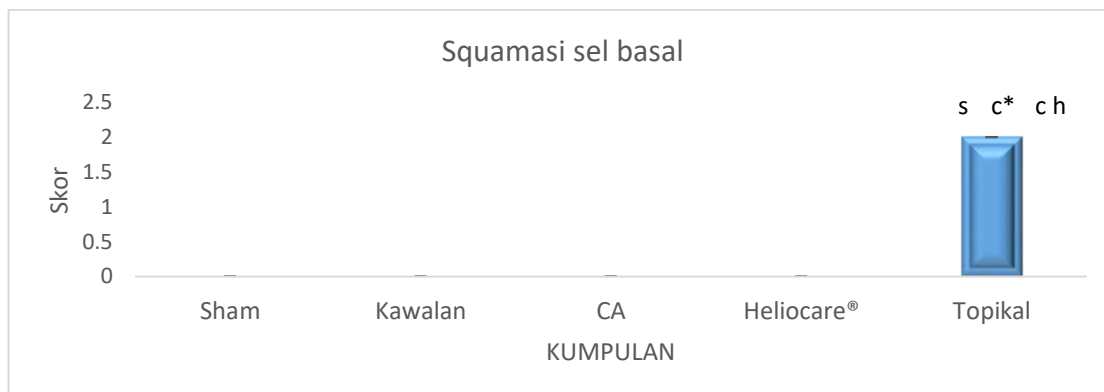
c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

c = signifikan berbanding CA ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

4.2.9 Pemerhatian skuamasi sel basal

Kumpulan Sham, kawalan, CA, dan Heliocare® semuanya mempunyai tahap skuamasi purata skor sebanyak 0. Keadaan menunjukkan tiada skuamasi yang diperhatikan dalam sel basal di kalangan kumpulan ini. Oleh itu, ini mencadangkan bahawa kumpulan-kumpulan tersebut mempunyai keadaan kulit yang normal tanpa kerosakan histologi sel basal. Hasil kajian dapat diperhatikan dalam graf dirajah Graf 4.13. Sebaliknya, kumpulan topikal menunjukkan tahap purata skor skuamasi sebanyak 2.0 yang jauh lebih tinggi daripada semua kumpulan lain ($p < 0.0001$) dan menunjukkan bahawa rawatan topikal menyebabkan skuamasi sel basal yang ketara. Dapatan ini mencadangkan bahawa rawatan penggunaan seiring CA dengan produk pelindung matahari topikal mungkin dapat menghalang iritasi yang disebabkan bahan aktif pelindung matahari topikal didedahkan pada UVB.



Graf 4.13 menunjukkan perbandingan skuamasi sel basal antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* c h.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

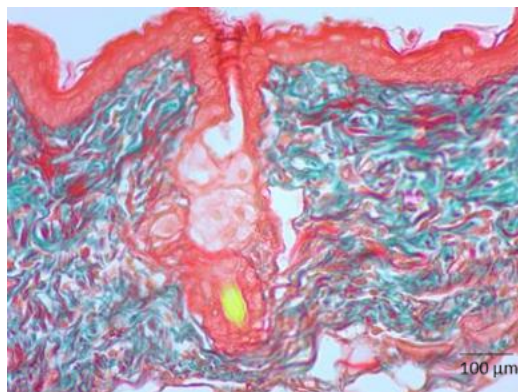
c = signifikan berbanding CA ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

4.2.10 Penilaian kolagen

a. Kumpulan Sham

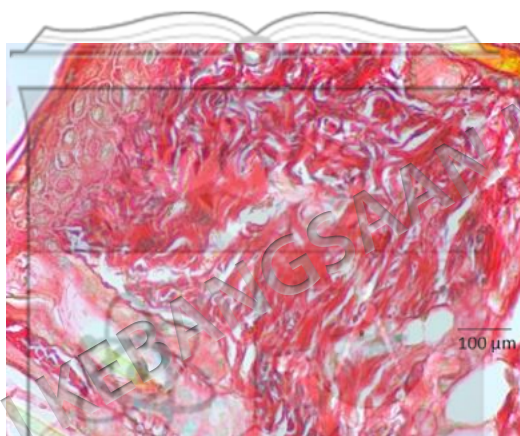
Struktur histologi kulit Kumpulan Sham diperhatikan dalam Gambar 4.7 menunjukkan keadaan yang normal tanpa perubahan patologi. Ikatan kolagen di dermis jelas diwarnakan biru dengan pewarnaan \square rikroma \square asa juga kelihatan tinggi menunjukkan integriti matriks ekstraselular yang baik. Ini mencerminkan struktur kulit yang sihat tanpa degradasi kolagen.



Gambar 4.7 menunjukkan histologi kulit kumpulan Sham menunjukkan struktur kulit yang normal tanpa perubahan patologi. Ikatan kolagen dalam dermis yang diwarnakan biru oleh pewarnaan Trikroma asason kis 40 \times pada bar = 100 μm .

b. Kumpulan Kawalan

Gambar 4.8 menunjukkan struktur histologi kulit Kumpulan kawalan. Dalam pewarnaan $\text{Masson's trichrome}$, pengurangan menunjukkan penurunan kandungan kolagen dalam dermis. Ikat kolagen dalam kumpulan kawalan berketumpatan rendah. Ini menandakan degradasi matriks ekstraselular dan keadaan ini mencerminkan kerosakan struktur kulit akibat pendedahan UVB.



Gambar 4.8 menunjukkan histologi kulit kumpulan kawalan menunjukkan perubahan struktur kulit. Pengurangan pewarnaan biru bagi ikatan kolagen dalam dermis. 40 \times ; skala bar = 100 μm .

c. Kumpulan CA

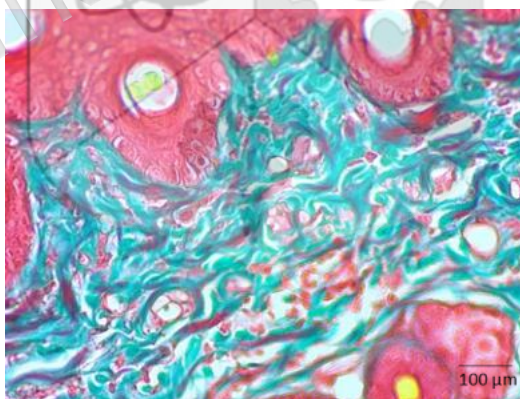
Struktur histologi CA menunjukkan keadaan kolagen yang lebih terpelihara berbanding kumpulan kawalan. Ini menunjukkan pengurangan degradasi ekstraselular. Keadaan ini mencerminkan kesan kerosakan kulit akibat pendedahan UVB.



Gambar 4.9 menunjukkan histologi kumpulan CA menunjukkan struktur kulit yang lebih terpelihara dengan peningkatan pewarnaan biru bagi ikatan kolagen dalam dermis. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan lebih tinggi. □ e w a r n a a n □ r i k r u k i f a 40 × ; s k a l a b a r = 100 μ m , o b j e

d. Kumpulan Heliocare®

Histologi perwarnaankolagenmenGajnbkankum
 4. m mempunyai struktur kolagen yang padat yang d
 Masson's. Ini menunjukkan peningkatan pada ke
 degradasi matriksestraselular dengan rawat
 kes an per li ndr uen® g ta en r h eal di aopck er o s a k a n k u l i t a k i l

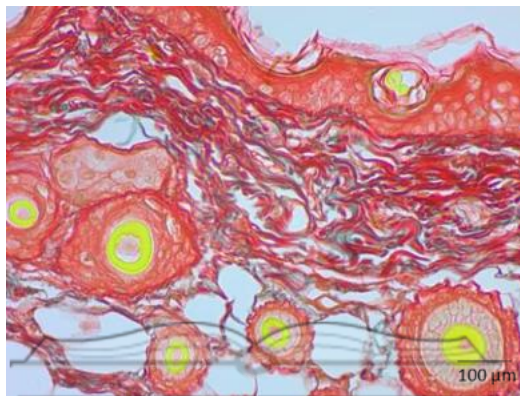


Gambar 4.10 menunjukkan histologi kumpulan Heliocare® menunjukkan struktur kolagen yang terpelihara. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan tinggi. □ e w a r n a a n □ r i k r u k i f a 40 × ; □ a s s o n □ s k a l a b a r = 100 μ m .

e. Kumpulan Topikal

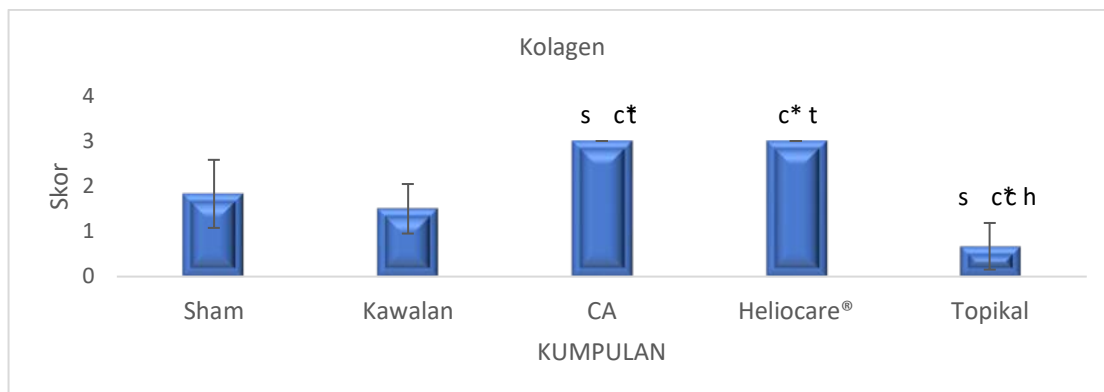
Struktur histologi kulit kumpulan topikal dalam Gambar 4.11 menunjukkan pengurangan kandungan kolagen dalam dermis. D

pewarnaan biru bagi ikatan kolagen adalah minimum. Ini menandakan ketumpatan kolagen yang rendah. Serabut kolagen kelihatan tidak tersusun dan terurai menunjukkan degradasi matriks ekstraselular. Keadaan ini mencerminkan pemulihan kolagen yang kurang berkesan berbanding kumpulan rawatan lain.



Gambar 4.11 menunjukkan histologi kumpulan topikal menunjukkan struktur kolagen yang berkurangan. Ikatan kolagen kelihatan berketumpatan rendah. Pewarnaan trikromasi Masson; skala baron = 100 μ m.

Hasil penilaian tahap kolagen ditunjukkan dalam graf di Graf 4.14. Tahap kolagen dalam kumpulan sham digunakan sebagai rujukan asas yang menunjukkan nilai purata skor 1.83 ± 0.75 . Ini mencerminkan keadaan kulit normal tanpa pendedahan UVB atau rawatan. Bagi kumpulan kawalan yang didedahkan kepada UVB tetapi tidak menerima sebarang rawatan, tahap kolagen yang lebih rendah direkodkan (purata skor 1.5 ± 0.55) berbanding kumpulan sham. Walaupun begitu, perbezaan ini tidak signifikan secara statistik ($p = 0.7442$). Kumpulan CA dan Heliocare® menunjukkan peningkatan yang ketara dalam tahap kolagen (purata 3 bagi setiap kumpulan). Peningkatan ini signifikan secara statistik berbanding kumpulan kawalan ($p = 0.0001$ untuk kedua-dua CA dan Heliocare® vs. kawalan) dan tiada perbezaan signifikan antara kedua-dua rawatan ini ($p = 1.0000$). Kumpulan topikal yang menerima rawatan selepas pendedahan UVB mencatatkan tahap kolagen yang lebih rendah (purata skor 0.67 ± 0.52) berbanding kumpulan CA dan Heliocare®. Kajian mendapati rawatan CA dan Heliocare® dapat mengekalkan tahap kolagen berbanding rawatan topikal.



Graf 4.14 menunjukkan perbandingan kandungan kolagen antara 5 kumpulan mencit. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* t h.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

c = signifikan berbanding CA ($p < 0.05$)

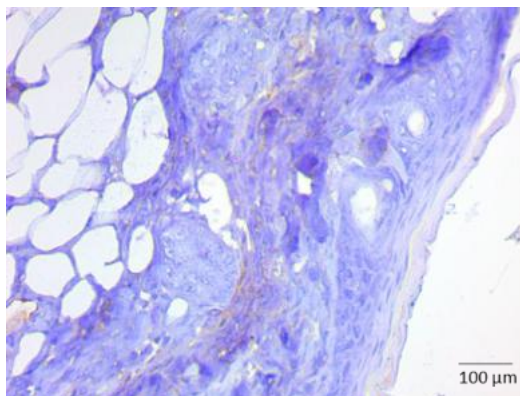
t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)

4.2.11 Pemerhatian pembentukan dimer timina

Kumpulan Sham

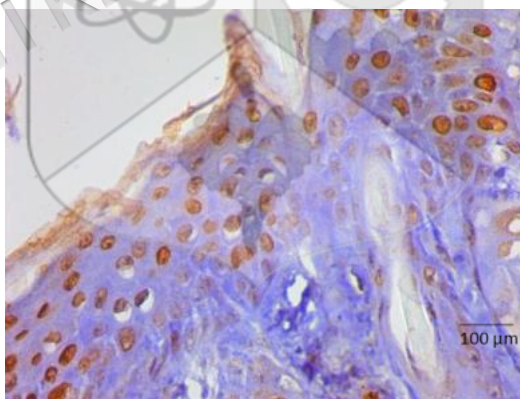
peci mendiwarnai menggunakan teknik imunohistokemahiran sel selaran matahari. el yang diwarnai matahari G a b d a r a 4.12 kumpulan sham memperlihatkan normal tanpa kehadiran sel tersebut. Keadaan ini baik serta keadaan kerosakan akibat pendedahan



Gambar 4.12 menunjukkan histologi kumpulan Sham menunjukkan struktur kulit yang normal tanpa sel selaran matahari. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

a. Kumpulan Kawalan

Struktur kulit kawalan menunjukkan kehadiran sel selaran matahari yang jelas dalam immunohistokimia, sel yang diwarnai coklat menunjukkan sel selaran matahari berbeza dalam epidermis, menandakan kerosakan sel akibat pe-

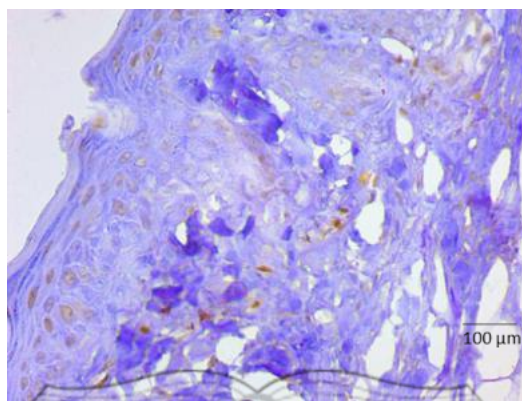


Gambar 4.13 menunjukkan histologi kumpulan kawalan menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan memenuhi kawasan pemerhatian. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

b. Kumpulan CA

Kumpulan CA dalam gambar menunjukkan pengurangan bilangan sel selaran matahari berbeza dalam epidermis, sedikit sel yang diwarnai coklat dapat diperha-

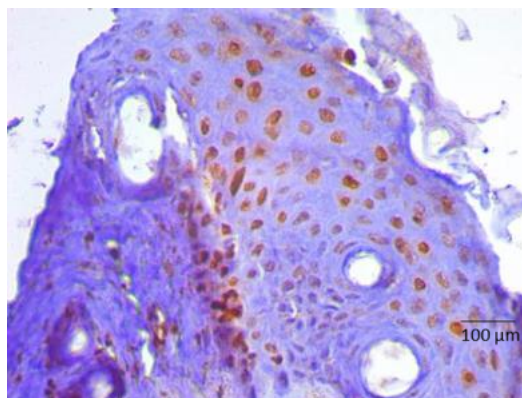
sel selaran matahari juga kelihatan berkurang menunjukkan kesan perlindungan rawatan dalam pendedahan UVB.



Gambar 4.14 menunjukkan histologi kumpulan CA menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

c. Kumpulan Heliocare®

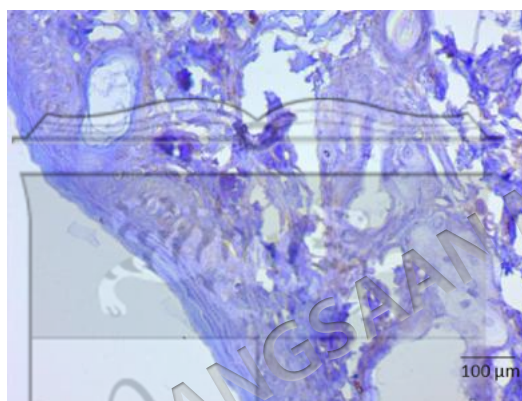
Gambar 4.15 menunjukkan kehadiran sel selaran matahari pada Kumpulan Heliocare®. Beberapa sel yang dinamakan bilangannya lebih rendah berbanding kumpulan matahari kelik dalam keadaan seertaharadi seluruh epidermis menunjukkan kesan perlindungan separa terhadap UVB.



Gambar 4.15 menunjukkan histologi kumpulan Heliocare® menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40×; skala bar = 100 μm.

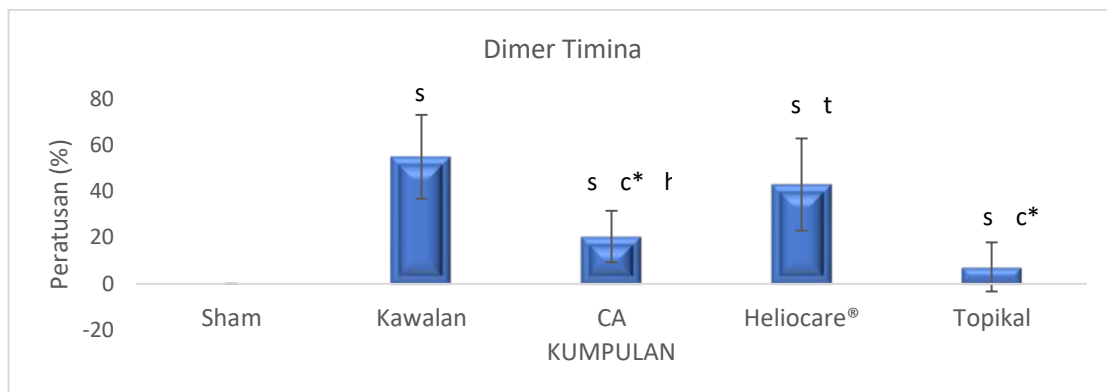
d. Kumpulan Topikal

Sel selaran matahari dalam jumlah yang rendah dalam lapisan epidermis didapati dalam Gambar 4.16 bagi kumpulan topikal. Dalam pewarnaan imunohistokimia, hanya sedikit sel yang diwarnai coklat dapat diperhatikan berbanding kumpulan kawalan. Taburan sel selaran matahari adalah terhad dan tidak meluas. Keadaan ini menunjukkan kesan perlindungan rawatan topikal dalam mengurangkan kerosakan sel akibat pendedahan UVB.



Gambar 4.16 menunjukkan histologi kumpulan topikal menunjukkan struktur kulit yang didedahkan kepada UVB. Sel selaran matahari dapat diperhatikan tetapi kurang dari kumpulan kawalan. Pewarnaan Immunohistokimia (dimer timina), objektif 40 \times ; skala bar = 100 μ m.

Graf 4.14 menunjukkan kumpulan sham yang tidak terdedah kepada penyinaran UVB tiada pembentukan dimer timina (purata = 0%). Kumpulan ini berfungsi sebagai asas perbandingan. Sebaliknya, kumpulan kawalan yang terdedah kepada UVB tanpa rawatan menunjukkan tahap dimer timina tertinggi (purata = $55 \pm 18.14\%$). Kumpulan ini mengalami kerosakan DNA yang ketara dengan tahap yang jauh lebih tinggi berbanding semua kumpulan lain ($p < 0.001$). Kedua-dua rawatan CA dan Heliocare[®] mengurangkan tahap dimer timina dengan ketara berbanding kumpulan kawalan, dengan nilai min masing-masing $20.5 \pm 11.13\%$ dan $43 \pm 19.95\%$ ($p = 0.0012$) untuk kedua-duanya). Kumpulan ini menunjukkan keberkesanan rawatan dalam mengurangkan kerosakan DNA akibat UVB. Kumpulan topikal juga menunjukkan pengurangan dalam dimer timina (purata = $7.33 \pm 10.63\%$) berbanding kumpulan kawalan. Pengurangan dimer timina lebih ketara pada CA dan topikal berbanding kawalan.



Graf 4.14 menunjukkan perbandingan pembentukan dimer timina antara 5 kumpulan haiwan. Nilai dinyatakan dalam $\text{min} \pm \text{SEM}$ ditunjukkan untuk setiap kumpulan. Signifikansi statistik ditunjukkan oleh anotasi s c* t h.

s = signifikan berbanding sham ($p < 0.05$)

c* = signifikan berbanding kawalan ($p < 0.05$)

t = signifikan berbanding topikal ($p < 0.05$)

h = signifikan berbanding heliocare ($p < 0.05$)



BAB V

PERBINCANGAN

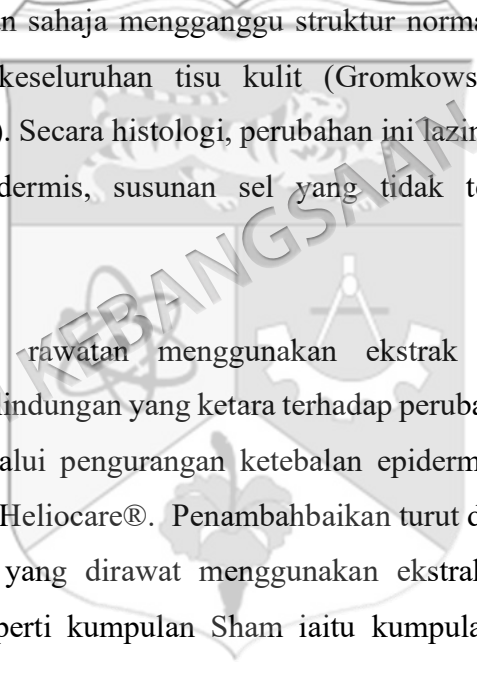
5.1 PENDAHULUAN

Sinaran UVB mempunyai panjang gelombang yang khusus iaitu 280-315 nm. Gelombang UVB lebih pendek tetapi ia membawa lebih banyak tenaga daripada UVA. Gelombang ini juga hanya menyumbang kira-kira 5% daripada sinaran UV yang mencapai permukaan Bumi (Mancebo & Wang 2014). Walaupun tahap capaian lebih rendah, UVB amat berbahaya kerana ia terutamanya menjejaskan epidermis lapisan paling luar kulit. Sinaran UVB adalah punca utama selaran matahari iaitu tindak balas yang menyakitkan terhadap pendedahan yang berlebihan. Lebih kritikal, sinaran UVB berpotensi merosakkan DNA dalam sel kulit secara langsung. Ini menjadikannya faktor penting dalam perkembangan kanser kulit termasuk karsinoma sel basal (BCC), karsinoma sel skuamosa (SCC), dan melanoma yang merupakan bentuk kanser kulit yang paling berbahaya (Matsumura & Ananthaswamy 2004; Narayanan et al. 2010). Oleh kerana kesannya yang kuat, melindungi daripada pendedahan UVB melalui penggunaan pelindung matahari seperti pakaian pelindung dan langkah-langkah lain adalah penting dalam mencegah selaran matahari dan mengurangkan risiko kanser kulit.

Kajian ini memberi tumpuan kepada kesan kerosakkan UVB kerana sinaran ini mempunyai kesan terus kepada DNA dan menyebabkan kerosakkan DNA. Kerosakan ini membawa kepada mutasi DNA yang menjadi permulaan pelbagai jenis kepada kanser kulit jika tidak ditangani dengan baik. Selain itu, UVB mempunyai potensi karsinogenik yang tinggi dimana mutasi berkemungkinan melibatkan gen yang mengawal pertumbuhan dan pembahagian sel seperti p53 penekan tumor (Carvalho et al. 2024). Mutasi ini membawa kepada pertumbuhan sel yang tidak terkawal. Seterusnya, UVB mempunyai kesan segera kepada kulit dan boleh dilihat pada kulit seperti selaran matahari. Kesan ini bukan sahaja merosakkan dipermukaan kulit tetapi juga mengalami kerosakkan selular. Di samping itu, UVB juga mencetuskan reaksi keradangan sehingga menjadi keradangan yang kronik. Ini akan meningkatkan pelbagai

risiko permasalahan kulit (Jin et al. 2022; Pfeifer 2020; Reichrath & Rass 2014) . Oleh itu, kajian ini menonjolkan kesan *CA* keatas kesan UVB bukan sahaja dalam kerosakan kulit fizikal tetapi juga dalam meningkatkan risiko jangka panjang keadaan kulit yang lebih kronik melalui kerosakkan selular.

5.2 KESAN *CA* TERHADAP KETEBALAN DAN INTEGRITI STRUKTUR HISTOLOGI KULIT YANG TERDEDDAH KEPADA UVB

Pendedahan kepada UVB diketahui mencetuskan tindak balas keradangan serta perubahan pada sel keratinosit yang menyebabkan kerosakan kulit. Mekanisma ini melibatkan peningkatan tekanan oksidatif yang seterusnya merangsang proliferasi keratinosit secara tidak terkawal. Ini menyebabkan hiperplasia epidermis dan penebalan kulit. Keadaan ini bukan sahaja mengganggu struktur normal epidermis, malah turut menjejaskan integriti keseluruhan tisu kulit (Gromkowska-pka et al. , 20 Kawashima et al., 2018). Secara histologi, perubahan ini lazimnya ditunjukkan melalui penebalan lapisan epidermis, susunan sel yang tidak teratur serta tanda-tanda keradangan yang jelas.

Walau bagaimanapun, rawatan menggunakan ekstrak *CA* dalam kajian ini menunjukkan kesan perlindungan yang ketara terhadap perubahan ini. Kesan positif *CA* dapat diperhatikan melalui pengurangan ketebalan epidermis berbanding kumpulan kawalan dan kumpulan Heliocare®. Penambahbaikan turut dapat dilihat dalam kualiti struktur apendaj kulit yang dirawat menggunakan ekstrak *CA*. Keadaan struktur kumpulan ini sama seperti kumpulan Sham iaitu kumpulan yang tidak dikenakan sinaran UVB.

Selain itu, peningkatan kepadatan kolagen dalam lapisan dermis turut menunjukkan bahawa *CA* berupaya memperbaiki kerosakan tisu yang disebabkan oleh UVB. Peranan ini dikaitkan dengan keupayaan *CA* untuk merangsang aktiviti fibroblas yang merupakan sel utama dalam penghasilan kolagen. Dalam kajian ini, dapat dilihat kesan positif *CA* dalam merangsang penghasilan kolagen berbanding kumpulan topikal. Kolagen yang mencukupi adalah penting untuk mengekalkan kekuatan, keanjalan, dan integriti struktur kulit.

Secara keseluruhannya, dapatan ini menunjukkan bahawa *CA* mempunyai potensi yang signifikan dalam melindungi dan memulihkan struktur histologi kulit yang terjejas akibat pendedahan UVB. Kesan ini disokong oleh gabungan aktiviti antioksidan, anti-radang serta keupayaan untuk merangsang penghasilan kolagen. Ini menjadikan *CA* sebagai agen semula jadi yang berpotensi dalam pengurusan kerosakan kulit disebabkan UV.

5.3 PERANAN *CA* DALAM MENGURANGKAN ERITEMA DAN TINDAK BALAS KERADANGAN AKIBAT PENDEDAHAN UVB

Pendedahan kepada UVB merupakan faktor utama yang mencetuskan tindak balas keradangan kronik pada kulit yang menyumbang kepada pembentukan eritema (Farida et al. 2024). UVB berupaya menembusi lapisan epidermis dan menyebabkan kerosakan langsung kepada DNA selular serta membran lipid melalui penghasilan spesies ROS (Liu, Wang, et al. 2024). Penghasilan ROS yang berlebihan ini mengakibatkan tekanan oksidatif yang merangsang pengaktifan laluan isyarat keradangan seperti nuclear factor-kappa B (NF- κ B). Pengaktifan laluan ini merangsang pengeluaran sitokin termasuk tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) dan interleukin-6 (IL-6). Laluan ini memainkan peranan penting dalam proses keradangan kulit (D'Orazio et al. 2013).

Tindak balas keradangan yang dicetuskan oleh UVB menyebabkan peningkatan kebolehtelapan vaskular serta vasodilatasi pada saluran darah dermis, yang secara klinikalnya dimanifestasikan sebagai kemerahan atau eritema pada permukaan kulit. Selain itu, penyusupan sel-sel keradangan seperti neutrofil dan makrofaj ke dalam tisu kulit turut menyumbang kepada pembentukan edema serta penebalan epidermis. Keradangan berpanjangan akibat pendedahan UVB juga boleh menyebabkan kerosakan struktur tisu melalui peningkatan aktiviti enzim proteolitik yang merosakkan komponen matriks ekstraselular seperti kolagen dan elastin.

Dalam kajian ini, pemberian ekstrak *CA* menunjukkan kesan perlindungan terhadap pembentukan eritema yang berkesan berbanding kumpulan Heliocare®. Walaupun begitu, produk topikal dapat menghalang pembentukan eritema dengan lebih berjaya. *CA* dapat memberi kesan positif dalam mengawal penyusupan sel

keradangan dalam kulit yang terdedah kepada UVB berbanding Heliocare® dan rawatan topikal. Sebatian bioaktif utama dalam *CA* seperti asiaticoside dan madecassoside telah dilaporkan mempunyai sifat antioksidan yang berupaya meneutralkan radikal bebas serta mengurangkan tekanan oksidatif dalam tisu kulit. Mekanisme ini membantu dalam menghalang pengaktifan laluan isyarat keradangan yang seterusnya mengurangkan penghasilan sitokin pro-radang (Witkowska et al. 2024).

Selain itu, *CA* juga didapati mampu menurunkan ekspresi mediator keradangan seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan IL-1 yang memainkan peranan penting dalam edema. Penurunan tahap sitokin ini seterusnya mengurangkan penghijrahan sel-sel keradangan ke kawasan kulit yang terjejas, sekali gus membantu mengekalkan integriti struktur tisu kulit. Diniz et al. (2023) turut melaporkan bahawa *CA* mempunyai keupayaan dalam memodulasi tindak balas imun dengan menghalang penghasilan mediator keradangan serta mengurangkan kerosakan oksidatif yang disebabkan oleh pendedahan kepada sinaran UVB.

Keupayaan *CA* dalam mengawal tindak balas keradangan ini juga berkait rapat dengan kesannya terhadap pengurangan aktiviti enzim cyclooxygenase-2 (COX-2) serta inducible nitric oxide synthase (iNOS), yang lazimnya meningkat dalam keadaan keradangan akibat pendedahan UVB. Pengurangan ekspresi enzim-enzim ini menyumbang kepada pengurangan penghasilan prostaglandin dan nitric oxide yang terlibat dalam proses vasodilatasi dan pembentukan eritema. Oleh itu, pemberian *CA* membantu dalam mengurangkan kemerahan kulit serta pembengkakan yang lazim berlaku selepas pendedahan kepada UVB.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB mencetuskan tindak balas keradangan melalui penghasilan ROS serta peningkatan ekspresi sitokin pro-radang yang membawa kepada pembentukan eritema (Kumagai et al. 2021). Walau bagaimanapun, rawatan dengan ekstrak *CA* berupaya mengurangkan kesan keradangan tersebut melalui mekanisme antioksidan dan anti-radang, termasuk meneutralkan radikal bebas serta menurunkan ekspresi mediator keradangan seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan IL-1 . Oleh itu, ekstrak *CA* mempunyai potensi yang efektif dan selamat.

dalam mengurangkan eritema dan keradangan kulit akibat pendedahan kepada sinaran UVB.

5.4 KESAN CA TERHADAP SINTESIS KOLAGEN DAN PENGEKALAN HIDRASI KULIT

Pendedahan berterusan kepada sinaran UVB boleh mengganggu homeostasis kolagen dengan merangsang penghasilan ROS yang seterusnya mencetuskan degradasi serat kolagen (Brar et al. 2025). Tekanan oksidatif yang terhasil akan meningkatkan aktiviti enzim matriks metalloproteinase (MMPs), khususnya MMP-1 dan MMP-3, yang berfungsi dalam pemecahan kolagen jenis I dan III dalam lapisan dermis (Pittayapruek et al. 2016). Heliocare® dalam kajian ini menunjukkan peningkatan kolagen, kesan CA adalah setanding atau lebih konsisten dalam memperbaiki kedua-dua parameter struktur (kolagen) dan fungsi (hidrasi dan TEWL). Sebaliknya, rawatan topikal menunjukkan peningkatan yang lebih terhad. Kesan ini mencadangkan bahawa perlindungan secara oral melalui CA mungkin memberikan kesan yang lebih menyeluruh pada tahap tisu dermis.

Dalam kajian ini, bahan rawatan berasaskan tumbuhan seperti kumpulan CA dan Heliocare® merangsang penghasilan kolagen dalam lapisan yang lebih tinggi berbanding kumpulan topikal. Secara khusus, kumpulan CA menunjukkan peningkatan kandungan kolagen yang signifikan berbanding kumpulan kawalan. Ini membuktikan keupayaan CA dalam memulihkan matriks dermis yang terjejas akibat pendedahan UVB. Kandungan kolagen dalam kulit dapat mengekalkan tahap hidrasi tisu dermis dengan kerana peningkatan sintesis asid hyaluronik (Chang, Wu, Huang, Lu, et al. 2025). Soliman et al. (2024) menunjukkan bahawa CA berupaya meningkatkan komponen matriks dermis yang berkait dengan hidrasi kulit. Ini termasuk asid hyaluronik mempunyai keupayaan untuk mengikat molekul air dalam jumlah yang besar. Sekali gus, membantu dalam mengekalkan kelembapan serta meningkatkan keanjalan kulit.

Dengan adanya sokongan struktur daripada kolagen, molekul asid hyaluronik dapat berfungsi dengan lebih efektif dalam mengekalkan hidrasi dermis dan mengurangkan kehilangan air transepidermal. Dapatan kajian ini turut menunjukkan

bahawa rawatan *CA* mengurangkan nilai TEWL dan meningkatkan tahap hidrasi kulit berbanding kumpulan kawalan. Ciri ini menandakan penambahbaikan fungsi penghalang epidermis. Sebatian bioaktif utama dalam *CA* seperti asiaticoside, madecassoside dan asiatic acid telah dilaporkan berupaya merangsang aktiviti fibroblas yang memainkan peranan penting dalam sintesis kolagen. Ko et al. (2025) melaporkan bahawa *CA* mampu meningkatkan ekspresi gen yang terlibat dalam penghasilan kolagen serta mengurangkan aktiviti enzim MMPs yang bertanggungjawab dalam degradasi matriks ekstraselular.

Kesan sinergistik antara kolagen dan asid hyaluronik ini memainkan peranan penting dalam memperbaiki struktur kulit yang terjejas akibat pendedahan UVB. Dalam kajian ini, peningkatan kolagen dalam kumpulan *CA* disertai dengan peningkatan hidrasi kulit yang ketara, menunjukkan hubungan langsung antara pemulihan struktur dermis dan fungsi pengekalan air. Peningkatan kandungan kolagen membantu dalam menstabilkan matriks ekstraselular, manakala peningkatan tahap asid hyaluronik menyumbang kepada pemulihan keseimbangan air dalam tisu kulit. Gabungan kedua-dua faktor ini akhirnya meningkatkan keanjalan kulit serta mengurangkan kesan kekeringan dan kerosakan struktur yang lazim dikaitkan dengan penuaan disebabkan radiasi sinaran cahaya (Papakonstantinou, Roth & Karakiulakis 2012).

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB boleh menyebabkan degradasi kolagen serta gangguan kepada mekanisme hidrasi kulit melalui peningkatan tekanan oksidatif dan aktiviti MMPs (Pittayapruek et al. 2016). Walau bagaimanapun, pemberian ekstrak *CA* berupaya meningkatkan sintesis kolagen serta merangsang penghasilan asid hyaluronik. Ini sekali gus membantu mengekalkan hidrasi dan memperbaiki integriti struktur kulit. Keberkesanan ini jelas ditunjukkan melalui peningkatan kolagen, penurunan TEWL dan peningkatan hidrasi dalam kumpulan *CA* berbanding kawalan. Ini mengukuhkan peranan *CA* sebagai agen pelindung dan pemulih kulit dalam mencegah kerosakan kulit akibat UVB dengan meningkatkan keanjalan, kestabilan struktur serta keseimbangan kelembapan dalam tisu dermis.

5.5 KESAN CA TERHADAP KESEIMBANGAN PH DAN FUNGSI LAPISAN PENGHALANG EPIDERMIS

Keseimbangan pH kulit merupakan faktor penting dalam mengekalkan integriti lapisan penghalang kulit yang berfungsi sebagai pertahanan utama terhadap kerosakan persekitaran termasuk pendedahan kepada sinaran UVB (Mijaljica et al. 2025). Secara fisiologinya, permukaan kulit mempunyai pH yang sedikit berasid, iaitu dalam julat 4.5 hingga 5.5, yang dikenali sebagai acid mantle. Peranan penting dalam menyokong fungsi enzim-enzim yang terlibat dalam sintesis lipid epidermis seperti seramida, kolesterol dan asid lemak bebas, yang merupakan komponen utama dalam pembentukan lapisan penghalang kulit (Bouwstra 2016). Lapisan ini berfungsi dalam mengekalkan kelembapan kulit serta mengawal kehilangan air transepidermal (transepidermal water loss, TEWL).

Walau bagaimanapun, pendedahan kepada UVB boleh mengganggu keseimbangan pH kulit dengan meningkatkan sifat alkali pada permukaan epidermis (Hong et al. 2025). Kajian ini menunjukkan peningkatan dalam pH kulit setelah berberapa kali didedahkan pada UVB. Berdasarkan dapatan kajian, kumpulan kawalan menunjukkan peningkatan pH yang ketara berbanding kumpulan Sham. Ini menunjukkan gangguan fungsi lapisan penghalang kulit akibat pendedahan UVB. Perubahan ini akan menjejaskan glukocerebrosidase dan acidic sphingomyelinase yang berfungsi dalam penghasilan seramida (Fujii 2021). Penurunan penghasilan seramida seterusnya melemahkan struktur lapisan penghalang kulit dan meningkatkan kebolehtelapan epidermis terhadap bahan asing serta kehilangan air dari permukaan kulit. Selain itu, peningkatan pH kulit turut dikaitkan dengan pengaktifan enzim protease yang merosakkan struktur protein dalam stratum korneum, sekali gus menyumbang kepada keradangan serta kekeringan kulit (Ratzyk et al. 2011).

Kerosakan pada lapisan penghalang kulit akibat perubahan pH juga boleh menyebabkan peningkatan tindak balas keradangan melalui pengaktifan mediator pro-radang. Gangguan terhadap struktur lipid epidermis akan memudahkan kemasukan bahan perengsa serta mikroorganisma, yang seterusnya merangsang penghasilan sitokin keradangan seperti interleukin dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Keadaan ini

akan memperburuk kerosakan kulit akibat UVB serta meningkatkan risiko kehilangan hidrasi dan ketidakseimbangan fungsi perlindungan kulit.

Dalam kajian ini, kumpulan yang diberikan ekstrak *CA* dapat mengawal peningkatan pH berbanding rawatan menggunakan Heliocare® dan topikal. Secara khusus, kumpulan *CA* menunjukkan nilai pH yang lebih hampir kepada julat fisiologi (acid mantle) berbanding kumpulan kawalan. Kesan *CA* juga lebih stabil berbanding kumpulan Heliocare® dan topikal yang menunjukkan pH yang lebih tinggi. Ini menunjukkan keberkesanan *CA* dalam mengekalkan persekitaran kulit yang berasid dan optimum untuk fungsi penghalang. Ekstrak *CA* diketahui berpotensi dalam memulihkan keseimbangan pH kulit yang terjejas akibat pendedahan UVB (Su et al. 2025). Anggraeni et al. (2021) melaporkan bahawa *CA* mampu membantu menstabilkan pH kulit melalui kesan antioksidan dan anti-radang yang mengurangkan tekanan oksidatif dalam tisu epidermis.

Pemulihan pH kepada julat optimum membolehkan enzim-enzim yang terlibat dalam sintesis lipid berfungsi secara efektif, sekali gus meningkatkan pembentukan ceramide yang penting untuk mengekalkan integriti lapisan penghalang kulit. Selain itu, Choi et al. (2025) menunjukkan bahawa *CA* berupaya menguatkan fungsi lapisan penghalang kulit dengan meningkatkan organisasi lipid dalam stratum korneum. Kesan ini selari dengan dapatan kajian di mana kumpulan *CA* menunjukkan penurunan TEWL dan peningkatan hidrasi berbanding kumpulan lain. Kesan positif ini menunjukkan hubungan langsung antara kestabilan pH dan fungsi penghalang kulit yang lebih baik. Peningkatan kandungan lipid epidermis membantu dalam mengurangkan kehilangan air transepidermal serta mengekalkan kelembapan kulit.

Tambahan pula, pemulihan fungsi lapisan penghalang kulit melalui kestabilan pH turut menyumbang kepada pengurangan keradangan. Dengan mengekalkan persekitaran kulit yang sedikit berasid, *CA* membantu dalam menghalang pengaktifan enzim proteolitik yang biasanya meningkat dalam keadaan pH alkali. Mekanisme ini membantu dalam mencegah degradasi protein struktur dalam epidermis serta mengurangkan tindak balas keradangan yang berkait rapat dengan kerosakan penghalang kulit.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB boleh mengganggu keseimbangan pH kulit serta melemahkan fungsi lapisan penghalang melalui gangguan sintesis lipid epidermis dan peningkatan TEWL (Alhasaniah et al. 2018). Walau bagaimanapun, rawatan dengan ekstrak *CA* berupaya memulihkan pH kulit ke tahap optimum, menyokong fungsi enzim epidermis serta menguatkan integriti lapisan penghalang kulit. Berbanding rawatan lain, *CA* menunjukkan kesan yang lebih konsisten dalam mengekalkan pH hampir normal. Oleh itu, *CA* berpotensi bertindak sebagai agen pelindung yang efektif secara keseluruhan dalam mengekalkan hidrasi kulit serta mencegah kekeringan dan kerosakan struktur akibat pendedahan kepada sinaran UVB.

5.6 PERANAN *CA* DALAM MELINDUNGI KULIT DARIPADA AKIBAT UVB

Kerosakan foto merupakan salah satu kesan utama akibat pendedahan berpanjangan kepada sinaran UVB yang memberi impak negatif terhadap struktur dan fungsi fisiologi kulit (Amano 2016). Sinaran UVB mampu menembusi lapisan epidermis dan mencapai dermis, seterusnya mencetuskan penghasilan ROS yang berlebihan dalam sel kulit (Jaffri 2023). Penghasilan ROS ini menyebabkan tekanan oksidatif yang merosakkan komponen penting dalam matriks ekstraselular seperti kolagen, elastin serta lipid membran sel. Tekanan oksidatif yang berterusan turut merangsang pengaktifan laluan isyarat keradangan seperti MAPK dan NF- κ B. Ini akan meningkatkan MMPs yang berperanan dalam degradasi kolagen dermis (Wei et al. 2024). Dalam kajian ini, kesan tersebut jelas diperhatikan dalam kumpulan kawalan yang menunjukkan perubahan morfologi kulit, penurunan kolagen serta peningkatan parameter kerosakan seperti TEWL dan pH. Parameter ini mengesahkan peranan utama tekanan oksidatif dalam patogenesis kerosakan kulit disebabkan UVB.

Selain degradasi kolagen, kerosakan kulit disebabkan UVB juga dikaitkan dengan gangguan kepada keseimbangan pH kulit serta fungsi lapisan penghalang epidermis (Rajkumar et al. 2023). Perubahan pH kulit boleh menjejaskan aktiviti enzim yang terlibat dalam sintesis lipid epidermis, seterusnya melemahkan integriti lapisan penghalang kulit (Cui et al. 2016). Gangguan terhadap fungsi lapisan penghalang ini akan meningkatkan TEWL menyebabkan kekeringan kulit serta meningkatkan kerentanan terhadap kerosakan struktur dan keradangan. Seajar dengan itu, dapatan

kajian ini menunjukkan bahawa kumpulan kawalan mengalami gangguan fungsi penghalang yang ketara. Ini menandakan bahawa perubahan biokimia akibat UVB diterjemahkan secara langsung kepada perubahan fisiologi kulit. Oleh itu, perlindungan terhadap kerosakan foto bukan sahaja memerlukan pengurangan tekanan oksidatif malah juga pemulihan komponen struktur seperti kolagen serta keseimbangan pH kulit.

Dalam kajian ini, pemberian ekstrak *CA* menunjukkan kesan perlindungan terhadap kerosakan kulit disebabkan UVB melalui mekanisme antioksidan dan pemulihan struktur kulit (Buranasudja et al. 2021). Choi et al. (2025) melaporkan bahawa sebatian bioaktif dalam *CA* seperti asiaticoside dan madecassoside berupaya mengurangkan tekanan oksidatif dengan menetralkan ROS yang terhasil akibat pendedahan UVB. Pengurangan tekanan oksidatif ini membantu dalam menghalang pengaktifan MMPs yang bertanggungjawab dalam degradasi kolagen. Dapatan kajian ini menyokong mekanisme tersebut apabila kumpulan *CA* menunjukkan pemulihan yang lebih konsisten merentasi beberapa parameter termasuk peningkatan kolagen, penurunan TEWL dan kestabilan pH berbanding kumpulan kawalan.

Selain itu, Bian et al. (2013) menunjukkan bahawa *CA* berupaya merangsang aktiviti fibroblas dalam sintesis kolagen jenis I yang memainkan peranan penting dalam mengekalkan kekuatan serta keanjalan kulit. Peningkatan kandungan kolagen membantu dalam memperbaiki struktur dermis yang terjejas akibat pendedahan UVB. Kolagen juga berfungsi sebagai rangka sokongan kepada komponen lain seperti asid hyaluronik yang penting dalam mengekalkan hidrasi tisu kulit. Teori ini menunjukkan rawatan *CA* dalam kajian ini menunjukkan bahawa *CA* bukan sahaja menghalang degradasi tetapi juga merangsang pemulihan aktif tisu dermis yang terbukti dengan keadaan histologi kulit yang lebih baik berbanding kawalan dan kumpulan rawatan yang lain.

Di samping itu, Chang, Wu, Huang, Wang, et al. (2025) turut melaporkan bahawa *CA* mempunyai keupayaan dalam menstabilkan keseimbangan pH kulit. Ia sekaligus menyokong fungsi lapisan penghalang epidermis. Pemulihan pH kulit kepada julat optimum membantu dalam mengekalkan aktiviti enzim yang terlibat dalam sintesis lipid epidermis yang penting untuk mengurangkan kehilangan air

transepidermal serta meningkatkan perlindungan terhadap faktor persekitaran. Kajian ini membuktikan *CA* dapat memelihara keadaan kulit dengan mengekalkan keseimbangan pH dan integriti lapisan penghalang. *CA* juga memberikan kawalan yang lebih baik terhadap keseimbangan mikropersekitaran kulit.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa ekstrak *CA* berpotensi dalam melindungi kulit daripada kerosakan kulit disebabkan UVB melalui gabungan mekanisme antioksidan, peningkatan sintesis kolagen serta pemulihan keseimbangan pH kulit. Mekanisme ini membantu dalam mengekalkan integriti struktur kulit, meningkatkan keanjalan serta mengurangkan kesan negatif pendedahan UVB. Oleh itu, *CA* boleh dianggap sebagai agen pelindung yang efektif dalam mencegah kerosakan kulit disebabkan UVB serta mengekalkan fungsi fisiologi kulit selepas pendedahan kepada sinaran UV.

5.7 PENGARUH *CA* TERHADAP PROSES MELANOGENESIS AKIBAT PENDEDAHAN UVB

Pembentukan melanin merupakan salah satu mekanisme perlindungan semula jadi kulit terhadap kesan berbahaya sinaran UV, khususnya UVB. Pendedahan kepada UVB merangsang peningkatan aktiviti melanosit dalam lapisan basal epidermis. Ini membawa kepada peningkatan sintesis melanin sebagai tindak balas adaptif terhadap tekanan persekitaran (Yang, Zeng, et al. 2022). Proses melanogenesis ini bermula dengan pengaktifan enzim tirosinase yang memainkan peranan penting dalam penukaran tirosina kepada dihydroxyphenylalanine (DOPA) dan seterusnya kepada melanin. Peningkatan penghasilan melanin ini akan menyebabkan peningkatan pigmentasi kulit yang berfungsi sebagai lapisan perlindungan tambahan dengan menyerap serta menyebarkan sinaran UV bagi mengurangkan kerosakan kepada DNA selular (Wang et al. 2024).

Walaupun peningkatan melanin berfungsi sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerosakan UV, penghasilan melanin yang berlebihan akibat pendedahan UVB yang berpanjangan boleh membawa kepada hiperpigmentasi serta perubahan warna

kulit yang tidak sekata (Solano 2020). Keadaan ini sering dikaitkan dengan tekanan oksidatif yang meningkat dalam sel kulit, di mana penghasilan ROS merangsang laluan isyarat melanogenesis melalui pengaktifan faktor transkripsi seperti microphthalmia-associated transcription factor (MITF) (Yang, Guo, et al. 2022). Pengaktifan MITF akan meningkatkan ekspresi gen-gen berkaitan melanogenesis seperti tirosinase, tirosinase-bekaitan protein-1 (TRP-1) dan tirosinase-bekaitan protein-2 (TRP-2) yang seterusnya meningkatkan sintesis melanin dalam melanosit.

Pemberian ekstrak *CA* menunjukkan potensi dalam mengawal pembentukan melanin akibat pendedahan UVB (Setiawati et al. 2024). Sebatian bioaktif utama dalam *CA* dilaporkan mampu mengurangkan sintesis melanin melalui penghambatan ekspresi gen-gen yang terlibat dalam proses melanogenesis (Seo et al. 2024). Kwon et al. (2014) melaporkan bahawa *CA* berupaya mengurangkan aktiviti enzim tirosinase yang merupakan enzim utama dalam pembentukan melanin. Penghambatan aktiviti tirosinase ini seterusnya mengurangkan penukaran tirosina kepada melanin, sekali gus menurunkan tahap pigmentasi kulit yang disebabkan oleh pendedahan UVB. Walaupun tiada perbezaan signifikan diperhatikan dalam kajian ini, kumpulan *CA* menunjukkan trend penurunan nilai melanin berbanding kumpulan kawalan, mencadangkan potensi kesan modulasi melanogenesis yang mungkin menjadi lebih jelas dalam tempoh rawatan yang lebih panjang.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB dilaporkan meningkatkan sintesis melanin melalui pengaktifan laluan melanogenesis sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerosakan UV (Ma et al. 2023). Walau bagaimanapun, penghasilan melanin yang berlebihan boleh membawa kepada hiperpigmentasi akibat tekanan oksidatif yang berpanjangan. Pemberian ekstrak *CA* berupaya mengawal sintesis melanin melalui penghambatan aktiviti tirosinase serta pengurangan ekspresi gen melanogenesis, di samping mengurangkan tekanan oksidatif dalam sel kulit. Walaupun kesan terhadap melanogenesis dalam kajian ini adalah terhad dan tidak signifikan, *CA* tetap menunjukkan potensi sebagai agen modulasi pigmentasi, terutamanya melalui mekanisme pencegahan awal terhadap tekanan oksidatif. Oleh itu, *CA* berkemungkinan lebih berkesan sebagai agen pencegahan berbanding rawatan langsung untuk hiperpigmentasi yang telah terbentuk.

5.8 KESAN CA TERHADAP PEMBENTUKAN SEL SELARAN MATAHARI DALAM KULIT YANG TERDEDAH KEPADA UVB

Pembentukan sel selaran matahari (sunburn cells) merupakan salah satu indikator histologi utama yang menunjukkan kerosakan kritikal pada kulit akibat pendedahan kepada sinaran UVB (Tanveer et al. 2023). Sel selaran matahari merujuk kepada keratinosit yang mengalami apoptosis akibat kerosakan DNA yang dicetuskan oleh sinaran UVB (Narayanan et al. 2010). Kerosakan ini berlaku apabila tenaga daripada UVB diserap oleh DNA sel epidermis yang menyebabkan pembentukan dimer pirimidina serta gangguan kepada integriti struktur genetik sel (Al-Sadek & Yusuf 2024). Kerosakan DNA yang tidak diperbaiki akan mengaktifkan laluan apoptosis sebagai mekanisme perlindungan untuk menghapuskan sel yang rosak. Ini membawa kepada pembentukan sel selaran matahari dalam lapisan epidermis.

Selain kerosakan DNA, pendedahan UVB juga meningkatkan penghasilan ROS dalam keratinosit (Gao et al. 2021). Tekanan oksidatif yang terhasil akan merangsang pengaktifan laluan isyarat keradangan serta meningkatkan ekspresi sitokin pro-radang seperti interleukin-1 alpha (IL-1 α) (Ansary et al. 2021). Peningkatan tahap IL-1 α bukan sahaja menyumbang kepada tindak balas keradangan seperti eritema, malah turut terlibat dalam pengaktifan laluan apoptosis dalam sel epidermis. Keadaan ini seterusnya meningkatkan pembentukan sel selaran matahari serta menyumbang kepada immunosupresi kulit akibat pendedahan UVB yang berpanjangan. Dalam kajian ini, kumpulan kawalan menunjukkan bilangan sel selaran matahari yang tinggi mengesahkan bahawa pendedahan UVB secara langsung meningkatkan apoptosis keratinosit dan kerosakan histologi kulit.

Dalam kajian ini, pemberian ekstrak CA menunjukkan potensi dalam mengurangkan pembentukan sel selaran matahari melalui mekanisme antioksidan dan anti-radang. Jesus et al. (2023) melaporkan bahawa sebatian bioaktif dalam CA berupaya meneutralkan radikal bebas yang terhasil akibat pendedahan UVB, sekali gus mengurangkan tekanan oksidatif dalam sel epidermis. Pengurangan tekanan oksidatif ini membantu dalam menurunkan kadar kerosakan DNA serta menghalang pengaktifan laluan apoptosis yang membawa kepada pembentukan sel selaran matahari. Selari dengan dapatan ini, kumpulan CA dalam kajian menunjukkan pengurangan signifikan

dalam bilangan sel selaran matahari berbanding kumpulan kawalan yang menunjukkan kesan perlindungan yang jelas terhadap kerosakan selular akibat UVB.

Selain itu, dalam perbandingan dengan rawatan lain, kumpulan *CA* menunjukkan pengurangan sel selaran matahari yang lebih ketara berbanding Heliocare® yang hanya memberikan kesan perlindungan sederhana. Ini menunjukkan bahawa *CA* mungkin lebih berkesan dalam mengawal kerosakan pada tahap selular berbanding rawatan antioksidan lain. Zheng et al. (2024) turut menunjukkan bahawa *CA* berupaya mengurangkan pembentukan eritema serta membantu mencegah immunosupresi kulit yang lazim berlaku selepas pendedahan UVB. Kesan ini berkait rapat dengan keupayaan *CA* dalam memodulasi tindak balas keradangan serta mengekalkan fungsi imun tempatan dalam kulit.

Tambahan pula, Petruk et al. (2018) melaporkan bahawa antioksidan dalam *CA* mampu melindungi keratinosit daripada tekanan oksidatif dengan mengurangkan penghasilan ROS serta meningkatkan keupayaan sel dalam mengekalkan integriti struktur DNA. Mekanisme ini membantu dalam menghalang kerosakan sel yang seterusnya mencetuskan apoptosis. Sari et al. (2025) turut menunjukkan bahawa *CA* berupaya mengawal ekspresi gen $IL-1\alpha$ yang terlibat dalam tindak balas dan apoptosis sel. Pengawalseliaan ekspresi $IL-1\alpha$ ini membantu dalam mencegah pembentukan sel selaran matahari serta mengekalkan kestabilan struktur epidermis selepas pendedahan kepada UVB. Sebaliknya, kumpulan topikal dalam kajian ini menunjukkan bilangan sel selaran matahari yang masih tinggi dan hampir setanding dengan kumpulan kawalan, mencadangkan bahawa perlindungan permukaan sahaja tidak mencukupi untuk menghalang kerosakan DNA dan apoptosis dalam lapisan epidermis.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa *CA* dapat meningkatkan pembentukan sel selaran matahari yang disebabkan oleh tekanan oksidatif yang mencetuskan apoptosis sel. Selain itu, *CA* juga dapat melindungi sel selaran matahari melalui perlindungan terhadap tindak balas keradangan serta membantu mengekalkan fungsi imun tempatan dalam kulit.

l a C m e n u n j u k k a n k e s a n y a n g l e b i h k o n s i s t e n d a a p o p t o s i s k e r a t i n o s i t . I n i s e k a l i G a b s o m e m g e k a d i a n g g a p s e b a g a i a g e n p e l i n d u n g y a n g e f e k t i f m e n g e k a l k a n i n t e g r i t i s t r u k t u r k u l i t s e l e p a s

5.9 PERANAN CA DALAM MELINDUNGI STRUKTUR APENDEJ KULIT DARIPADA KEROSAKAN UVB

Dalam kajian ini, kesan jelas diperhatikan apabila kumpulan kawalan menunjukkan tahap kerosakan apendej yang tinggi. Ini menandakan kerosakan struktur seperti folikel rambut dan kelenjar sebum akibat pendedahan UVB. Pendedahan kepada sinaran UVB boleh menyebabkan kerosakan menyeluruh terhadap struktur kulit. Ini termasuk lapisan epidermis, dermis dan melibatkan struktur tambahan seperti folikel rambut dan kelenjar sebum (Kim et al. 2024). UVB berupaya mencetuskan tekanan oksidatif melalui penghasilan spesies ROS yang merosakkan komponen lipid, protein serta DNA dalam sel kulit (Perluigi et al. 2010). Tekanan oksidatif ini akan mengaktifkan tindak balas keradangan yang seterusnya menyumbang kepada degradasi matriks ekstraselular serta gangguan kepada fungsi fisiologi struktur tambahan kulit (Pfisterer et al. 2021).

Folikel rambut dan kelenjar sebum memainkan peranan penting dalam mengekalkan keseimbangan kelembapan serta perlindungan kulit melalui penghasilan sebum yang membantu melincirkan permukaan kulit. Walau bagaimanapun, pendedahan UVB boleh menyebabkan gangguan kepada fungsi struktur ini melalui keradangan kronik serta kerosakan selular (Tang et al. 2024). Keradangan yang berpanjangan akan menjejaskan integriti tisu di sekeliling folikel rambut dan kelenjar sebum, sekali gus mengganggu proses pembaikan tisu serta menurunkan keupayaan kulit dalam mengekalkan kelembapan semulajadi (Deng et al. 2024). Sejar dengan itu, kumpulan topikal dalam kajian ini turut menunjukkan tahap kerosakan apendej yang tinggi dan hampir setanding dengan kumpulan kawalan. Ini mencadangkan bahawa perlindungan luaran sahaja tidak mencukupi untuk mengekalkan integriti struktur kulit yang lebih dalam.

Dalam kajian ini, kumpulan CA dalam kajian menunjukkan tahap kerosakan apendej yang paling rendah dan berbeza secara signifikan berbanding kumpulan

kawalan. Ini menunjukkan perlindungan yang jelas terhadap struktur tambahan kulit. Pemberian ekstrak *CA* menunjukkan kesan perlindungan terhadap kerosakan struktur kulit tambahan akibat pendedahan UVB. Selari dengan dapatan ini, Arribas-López et al. (2022) melaporkan bahawa *CA* mempunyai sifat anti-radang serta keupayaan dalam merangsang penyembuhan luka melalui pengaktifan fibroblas dan peningkatan sintesis kolagen. Peningkatan sintesis kolagen membantu dalam mengekalkan kestabilan struktur dermis serta menyokong integriti tisu di sekitar folikel rambut dan kelenjar sebum. Selain itu, *CA* turut menggalakkan proses pertumbuhan semula tisu dengan meningkatkan aktiviti sel-sel yang terlibat dalam pembaikan struktur kulit.

Tambahan pula, Boer et al. (2016) menunjukkan bahawa *CA* berupaya mengekalkan paras kelembapan kulit dengan mengurangkan TEWL. Pengurangan TEWL memainkan peranan penting dalam mengekalkan fungsi lapisan penghalang kulit serta menghalang kekeringan yang boleh menjejaskan struktur tambahan seperti folikel rambut dan kelenjar sebum. Dengan mengekalkan keseimbangan kelembapan, *CA* membantu dalam memastikan fungsi fisiologi struktur kulit tambahan kekal stabil walaupun selepas pendedahan kepada UVB. Berbanding dengan rawatan lain, kumpulan Heliocare® menunjukkan tahap kerosakan sederhana. Ini menandakan perlindungan yang separa berkesan berbanding *CA* dalam mengekalkan integriti struktur apendaj.

Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB boleh menyebabkan kerosakan terhadap struktur tambahan kulit seperti folikel rambut dan kelenjar sebum melalui mekanisme tekanan oksidatif dan keradangan (Lee, Park, et al. 2013). Walau bagaimanapun, pemberian ekstrak *CA* berpotensi dalam melindungi struktur ini melalui sifat anti-radang, keupayaan merangsang sintesis kolagen serta menggalakkan pertumbuhan semula tisu. Di samping itu, *CA* turut membantu mengekalkan kelembapan kulit dengan mengurangkan TEWL. Berbanding rawatan lain, *CA* menunjukkan kesan perlindungan yang lebih menyeluruh dan signifikan terhadap struktur apendaj. Ini mencadangkan bahawa pendekatan sistemik melalui *CA* lebih efektif dalam mencegah kerosakan mendalam akibat UVB.

5.10 KESAN PERLINDUNGAN *CA* TERHADAP PEMBENTUKAN DIMER TIMINA DAN KEROSAKAN DNA AKIBAT UVB

Pendedahan kepada sinaran UVB merupakan salah satu faktor utama yang menyebabkan kerosakan langsung terhadap DNA dalam sel kulit khususnya dalam keratinosit pada lapisan epidermis (de Oliveira et al. 2020). Salah satu bentuk kerosakan DNA yang paling lazim akibat pendedahan UVB ialah pembentukan dimer timina (thymine dimers) iaitu ikatan kovalen yang terbentuk antara dua bes timina bersebelahan dalam rantaian DNA (Kato 2025). Pembentukan dimer ini berlaku apabila tenaga daripada sinaran UVB diserap oleh molekul DNA yang seterusnya menyebabkan perubahan struktur heliks DNA serta gangguan kepada proses replikasi dan transkripsi genetik. Sekiranya kerosakan ini tidak diperbaiki secara efektif oleh sistem pembaikan DNA selular ia boleh membawa kepada mutasi genetik yang seterusnya meningkatkan risiko karsinogenesis kulit.

Dalam kajian ini, kumpulan kawalan menunjukkan peratusan dimer timina yang paling tinggi. Pendedahan terhadap UVB secara signifikan meningkatkan kerosakan DNA dalam kulit. Selain kerosakan langsung terhadap DNA, pendedahan UVB juga meningkatkan penghasilan ROS dalam sel kulit yang menyumbang kepada kerosakan tidak langsung terhadap struktur genetik. ROS yang berlebihan boleh menyebabkan pengoksidaan nukleotida serta merosakkan protein yang terlibat dalam mekanisme pembaikan DNA. Tekanan oksidatif ini turut merangsang tindak balas keradangan melalui peningkatan ekspresi sitokin pro-radang seperti interleukin-1 alpha (IL-1 α) (Wei et al. 2024), sekali gus memperburuk kerosakan DNA dalam sel epidermis.

Dalam kajian ini, kumpulan *CA* menunjukkan pengurangan signifikan dalam peratusan dimer timina berbanding kumpulan kawalan. Ini mencerminkan keberkesanan *CA* dalam melindungi integriti DNA. Pemberian ekstrak *CA* menunjukkan kesan perlindungan terhadap kerosakan DNA akibat pendedahan UVB melalui mekanisme antioksidan dan anti-radang. Maramaldi et al. (2014) melaporkan bahawa *CA* berupaya mengurangkan pembentukan dimer timina dalam sel kulit yang terdedah kepada sinaran UV. Pengurangan pembentukan dimer ini dikaitkan dengan keupayaan *CA* dalam meneutralkan ROS yang terhasil akibat tekanan oksidatif. Ini sekali gus menghalang kerosakan struktur DNA.

Selari dengan dapatan tersebut, analisis imunohistokimia dalam kajian ini menunjukkan pengurangan yang ketara dalam pewarnaan dimer timina (warna coklat) dalam kumpulan *CA* berbanding kumpulan kawalan. Kumpulan kawalan menunjukkan intensiti pewarnaan yang tinggi yang menandakan tahap kerosakan DNA yang lebih serius. Manakala, kumpulan *CA* menunjukkan pengurangan yang signifikan ($p < 0.05$) yang menunjukkan kesan perlindungan terhadap DNA. Walau bagaimanapun, perbandingan antara rawatan menunjukkan bahawa kumpulan topikal mencatatkan pengurangan dimer timina yang paling rendah (hampir kepada kumpulan sham), diikuti oleh *CA*, manakala Heliocare® menunjukkan kesan perlindungan sederhana tetapi kurang berkesan berbanding kedua-duanya. Dapatan kuantitatif juga menyokong pemerhatian ini, di mana peratusan dimer timina dalam kumpulan *CA* adalah jauh lebih rendah berbanding kumpulan kawalan, menghampiri keadaan normal kumpulan sham.

Walaupun rawatan topikal menunjukkan keberkesanan yang lebih tinggi dalam mengurangkan pembentukan dimer timina, kesan perlindungan *CA* yang diberikan secara oral tetap signifikan dan lebih menyeluruh. Ini mengambil kira parameter lain seperti pengurangan kehilangan air transepidermal (TEWL), peningkatan kandungan kolagen serta kestabilan pH kulit. Hasil menjuruskan kepada *CA* memberikan perlindungan sistemik terhadap kerosakan DNA berbanding rawatan topikal yang lebih tertumpu kepada perlindungan permukaan kulit. Secara keseluruhannya, hasil kajian ini menunjukkan bahawa pendedahan UVB meningkatkan pembentukan dimer timina melalui kerosakan langsung terhadap DNA serta tekanan oksidatif yang dicituskan oleh penghasilan ROS (Fraikin et al. 2024). Walau bagaimanapun, pemberian ekstrak *CA* berupaya mengurangkan pembentukan dimer timina dan menurunkan ekspresi IL-1 α melalui mekanisme antioksidan dan anti-radang. Berbanding rawatan lain, *CA* menunjukkan keseimbangan terbaik antara perlindungan DNA dan pemulihan fungsi kulit secara keseluruhan. Ini menjadikannya agen yang lebih komprehensif dalam menangani kerosakan akibat UVB. Dapatan ini disokong oleh pemerhatian histologi dan imunohistokimia. Kesan ini jelas menunjukkan pengurangan kerosakan DNA dengan rawatan ekstrak *CA* dan mengekalkan kestabilan genetik sel kulit selepas pendedahan kepada sinaran UVB.

BAB VI

RUMUSAN DAN CADANGAN

6.1 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil kajian, kesimpulan yang boleh dibuat adalah seperti berikut

1. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat memperbaiki keadaan fizikal kulit mencit yang terdedah kepada sinaran UVB dengan mengurangkan kesan kerosakan seperti kekeringan dan perubahan tekstur kulit.
2. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat mengurangkan kehilangan air transepidermal (TEWL) serta meningkatkan tahap hidrasi kulit dan membantu mengekalkan fungsi lapisan penghalang epidermis.
3. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat menstabilkan pH kulit ke arah julat normal yang menunjukkan pemulihan keseseimbangan peningkatan integriti fungsi lapisan perlindungan kulit.
4. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat meningkatkan sintesis kolagen serta mengekalkan struktur matriks dermis dan meningkatkan keanjalan dan kekuatan kulit.
5. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat memperbaiki keadaan histologi kulit dengan mengurangkan hiperplasia epidermis serta mengekalkan susunan struktur tisu yang lebih normal.
6. Pengambilan ekstrak *CA* secara oral dapat mengurangkan pembentukan sel selaran matahari serta melindungi struktur apendaj kulit seperti folikel rambut dan kelenjar sebum daripada kerosakan akibat UVB.

7. Pengambilan ekstrak CA secara oral dapat mengurangkan pembentukan dimer timina secara signifikan dan melindungi DNA daripada kerosakan akibat pendedahan UVB serta mengekalkan integriti sel kulit.

Secara keseluruhannya, berdasarkan dapatan kajian ini, pengambilan CA secara oral menunjukkan kesan fotoprotektif yang ketara terhadap kulit yang terdedah kepada sinaran UVB. Kesan ini dapat dilihat melalui penambahbaikan struktur dan fungsi kulit serta pengurangan kerosakan DNA. Berdasarkan hasil tersebut, CA berpotensi untuk diambil secara oral bersama penggunaan pelindung matahari topikal sebagai pendekatan tambahan bagi mencapai perlindungan kulit yang lebih optimum. Gabungan perlindungan sistemik melalui pengambilan oral dan perlindungan luaran melalui pelindung matahari topikal dijangka memberi kesan sinergistik dalam mengurangkan kerosakan akibat sinaran ultraungu khususnya UVB.

6.2 CADANGAN LANJUTAN KAJIAN

1. Kajian semasa tidak mempunyai analisa biokimia terperinci untuk menilai kesan khusus CA pada kulit. Oleh itu, kajian keatas penanda tekanan oksidatif seperti Malondialdehid (MDA), Glutathione S-Transferase (GST), Katalase (CAT), dan Superoksida Dismutase (SOD) perlu dilakukan keatas kulit mencit yang didedahkan dengan UVB dan dirawat dengan ekstrak CA untuk menilai tahap kerosakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.
2. Kajian semasa tidak menjalankan analisa biokimia terperinci untuk menilai kesan khusus CA terhadap tindak balas keradangan pada kulit yang terdedah kepada UVB. Oleh itu, kajian lanjutan yang memfokuskan kepada penilaian penanda keradangan seperti tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin beta (IL-1), interleukin-6 (IL-6), cyclooxygenase-2 (COX-2), dan inducible nitric oxide synthase (iNOS) perlu dijalankan ke atas kulit mencit yang didedahkan kepada UVB dan dirawat dengan ekstrak CA. Analisa ini penting bagi menentukan sejauh mana ekstrak tersebut berupaya mengurangkan keradangan yang dicitus.

RUJUKAN

- Adhami, V.M., Syed, D.N., Khan, N. & Afaq, F. 2008. Phytochemicals for prevention of solar ultraviolet radiation-induced damages. *Photochemistry and Photobiology* 84(2): 489-500.
- Agrawal, R., Hu, A. & Bollag, W.B. 2023. The skin and inflamm-aging. *Biology* 12(11): 1396.
- Agrez, M., Rybchyn, M.S., De Silva, W.G.M., Mason, R.S., Chandler, C., Piva, T.J., Thurecht, K., Fletcher, N., Liu, F. & Subramaniam, G. 2023. An immunomodulating peptide to counteract solar radiation-induced immunosuppression and DNA damage. *Scientific Reports* 13(1): 11702.
- Al-Sadek, T. & Yusuf, N. 2024. Ultraviolet radiation biological and medical implications. *Current Issues in Molecular Biology* 46(3): 1924-1942.
- Alfarra, H. & Omar, M. 2013. *Centella asiatica*: from folk remedy to medicinal biotechnology - a state revision. *International Journal of Biosciences* 3: 49-67.
- Alhasaniyah, A., Sherratt, J., & Neill, A. on barrier function in human skin; molecular mechanisms and topical therapeutics. *Current Medicinal Chemistry* 25(40): 5503-5511.
- Amano, S. 2016. Characterization and mechanisms of photoageing-related changes in skin: damages of basement membrane and dermal structures. *Experimental Dermatology* 25: 14-19.
- Anggraeni, S., Umborowati, M.A., Damayanti, D., Endaryanto, A. & Prakoeswa, C.R.S. 2021. Role of *Centella asiatica* and ceramide in skin barrier improvement: a double blind clinical trial of Indonesian batik workers. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 32(4): 589-593.
- Ansary, T.M., Hossain, M.R., Kamiya, K., Komine, M. & Ohtsuki, M. 2021. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. *International Journal of Molecular Sciences* 22(8): 3974.
- Arda, O., Göksügür, N. & Tüzün, Y. 2014. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clinics in Dermatology* 32(1): 3-13.
- Arribas-López, E., Zand, N., Ojo, O., Snowden, M.J. & Kochhar, T. 2022. A systematic review of the effect of *Centella asiatica* on wound healing. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19(6): 3266.
- Aszrin, F.N., Adam, S.H., Abdul Mutalib, M., Tang, H.C. & Tang, S.G.H. 2024. An overview of *Centella asiatica* and its therapeutic applications. *Life Sciences, Medicine and Biomedicine* 8(1).

- Autier, P., Boniol, M. & Doré, J.F. 2007. Sunscreen use and increased duration of intentional sun exposure: still a burning issue. *International Journal of Cancer* 121(1): 1–5.
- Azmi, D.A., Nurlailah, N. & Dwiyanti, R.D. 2020. Ethanol extract of *Centella asiatica* (L.) Urban leaves effectively inhibit *Streptococcus pyogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* by in vitro test. *Tropical Health and Medical Research* 2(2): 69–76.
- Baek, J., Kim, J.-H., Park, J., Kim, D.H., Sa, S., Han, J.-S. & Kim, W. 2024. 1-Kestose blocks UVB-induced skin inflammation and promotes type I procollagen synthesis via regulating MAPK/AP-1, NF- κ B and - α Smad pathway. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 34(4): 911.
- Battie, C. & Verschoore, M. 2012. Cutaneous solar ultraviolet exposure and clinical aspects of photodamage. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* 78(Suppl 1): S9–S14.
- Bian, D., Zhang, J., Wu, X., Dou, Y., Yang, Y., Tan, Q., Xia, Y., Gong, Z. & Dai, Y. 2013. Asiatic acid isolated from *Centella asiatica* inhibits TGF- β 1-induced collagen expression in human keloid fibroblasts via PPAR- α activation. *International Journal of Biological Sciences* 9(10): 1032–1042.
- Boer, M., Duchnik, E., Maleszka, R. & Marchlewicz, M. 2016. Structural and biophysical characteristics of human skin in maintaining proper epidermal barrier function. *Advances in Dermatology and Allergology* 33(1): 1–5.
- Bouwstra, J.V.S.J.A. 2016. Stratum corneum lipids: their role for the skin barrier function in healthy subjects and atopic dermatitis patients. *Skin Barrier Function* 49: 8–26.
- Brar, G., Dhaliwal, A., Brar, A.S., Sreedevi, M., Ahmadi, Y., Irfan, M., Golbari, R., Zumárraga, D., Yateem, D., Lysak, Y. & Abarca-Pineda, Y.A. 2025. A comprehensive review of the role of UV radiation in photoaging processes between different types of skin. *Cureus* 17(3): e81109.
- Buranasudja, V., Rani, D., Malla, A., Kobtrakul, K. & Vimolmangkang, S. 2021. Insights into antioxidant activities and anti-skin-aging potential of callus extract from *Centella asiatica* (L.). *Scientific Reports* 11(1): 13459.
- Bylka, W., Znajdek-Awiśka, E., Świątek, S., Słotkowska, K., Baran, K. & Kłak, A. 2020. Asiatic acid from *Centella asiatica* in cosmetology. *Advances in Dermatology and Allergology* 30(1): 46–49.
- Carvalho, C., Silva, R., Melo, T.M.P.E., Inga, A. & Saraiva, L. 2024. P53 and the ultraviolet radiation-induced skin response: finding the light in the darkness of triggered carcinogenesis. *Cancers* 16(23): 3978.
- Cavinato, M., Waltenberger, B., Baraldo, G., Grade, C.V., Stuppner, H. & Jansen-Dürr, P. 2017. Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging. *Biogerontology* 18: 499–516.

- Chanda, A. & Singh, G. 2023. Mechanical properties of human tissues. *Springer*.
- Chandrika, U.G. & Prasad Kumarab, P.A. 2015. Gotu kola (*Centella asiatica*): nutritional properties and plausible health benefits. *Advances in Food and Nutrition Research* 76: 125–157.
- Chang, T.-M., Wu, C.-C., Huang, H.-C., Lu, J.-Y., Chuang, C.-H., Kao, P.-L., Tang, W.-H., Liu, L.T.-C., Qiu, W.-Y., Percec, I., Chen, C. & Kuo, T.-Y. 2025. A 28-day pilot study of the effects on facial skin hydration, elasticity, and texture of a *Centella asiatica* extracellular vesicle-based skin care formulation. *Cosmetics* 12(5): 186.
- Chang, T.-M., Wu, C.-C., Huang, H.-C., Wang, S.-S., Chuang, C.-H., Kao, P.-L., Tang, W.-H., Liu, L.T.-C., Qiu, W.-Y. & Percec, I. 2025. In vitro characterization of *Centella asiatica* extracellular vesicles and their skin repair effects in a UVB-irradiated mouse model. *International Journal of Molecular Sciences* 26(18): 8982.
- Chen, L.-X.-Y. & Hao, P.-S. 2025. The role of skin barrier and immune abnormalities in the pathogenesis of rosacea. *Clinical and Experimental Medicine* 25(1): 324.
- Choi, Y.J., Cho, E.-C., Lim, S., Lee, J., Bae, J., Oh, T.K., Lee, J.K. & Kim, E.J. 2025. Oral *Centella asiatica* extract attenuates UVB-induced skin photoaging via antioxidant, anti-inflammatory, and extracellular matrix-preserving effects in hairless mice. *International Journal of Molecular Sciences* 27(1): 204.
- Cui, L., Jia, Y., Cheng, Z.W., Gao, Y., Zhang, G.L., Li, J.Y. & He, C.F. 2016. Advancements in the maintenance of skin barrier/skin lipid composition and the involvement of metabolic enzymes. *Journal of Cosmetic Dermatology* 15(4): 549–558.
- D'Amico, P., Otiz, A. & Scott, TS 2013. UV radiation and the skin. *International Journal of Molecular Sciences* 14(6): 12222–12248.
- De Oliveira, N.F.P., De Souza, B.F. & De Castro Coêlho, M. 2020. UV radiation and its relation to DNA methylation in epidermal cells: a review. *Epigenomes* 4(4): 23.
- De Villa, D., Da Silva Nagatomi, A.R., Paese, K., Guterres, S. & Cestari, T.F. 2011. Reapplication improves the amount of sunscreen, not its regularity, under real life conditions. *Photochemistry and Photobiology* 87(2): 457–460.
- Deng, Y., Wang, F. & He, L. 2024. Skin barrier dysfunction in acne vulgaris: pathogenesis and therapeutic approaches. *Medical Science Monitor* 30: e945336.
- Desai, S.R., Alexis, A.F., Elbuluk, N., Grimes, P.E., Weiss, J., Hamzavi, I.H. & Taylor, S.C. 2024. Best practices in the treatment of melasma with a focus on patients with skin of color. *Journal of the American Academy of Dermatology* 90(2): 269–279.

Diffey, B.L. 2018. Time and place as modifiers of personal UV exposure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15(6): 1112.

Diniz, L.R.L., Calado, L.L., Duarte, A.B.S. & De Sousa, D.P. 2023. *Centella asiatica* and its metabolite asiatic acid: wound healing effects and therapeutic potential. *Metabolites* 13(2): 276.

Dwivedi, A.K. & Sharma, H.K. 2022. Evaluation of wound healing activity of polyherbal skin care cream. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics* 12(6-S): 10-14.

Eyerich, S., Eyerich, K., Traidl-Hoffmann, C. & Biedermann, T. 2018. Cutaneous barriers and skin immunity: differentiating a connected network. *Trends in Immunology* 39(4): 315-327.

Farida, V., Dewananda, D.A., Sahid, M.N.A. & Salasia, S.I.O. 2024. Ultraviolet B (UVB) radiation induces skin alterations, emperipoleosis and decreases the erythroid-to-myeloid ratio in rats. *The Indonesian Biomedical Journal* 16(6): 510-516.

Fraikin, G.Y., Belenikina, N. & Rubin, A. 2024. Photochemical processes of cell DNA damage by UV radiation of various wavelengths: biological consequences. *Molecular Biology* 58(1): 1-6.

Fujii, M. 2021. The pathogenic and therapeutic implications of ceramide abnormalities in atopic dermatitis. *Cells* 10(9).

Ganceviciene, R., Liakou, A.I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E. & Zouboulis, C.C. 2012. Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology* 4(3): 308-319.

Gao, S., Guo, K., Chen, Y., Zhao, J., Jing, R., Wang, L., Li, X., Hu, Z., Xu, N. & Li, X. 2021. Keratinocyte growth factor 2 ameliorates UVB-induced skin damage via activating the AhR/Nrf2 signaling pathway. *Frontiers in Pharmacology* 12: 655281.

Gao, W., Wang, Y.-S., Hwang, E., Lin, P., Bae, J., Seo, S.A., Yan, Z. & Yi, T.-H. 2018. *Rubus idaeus* (red raspberry) blocks UVB-induced MMP production and promotes type I procollagen synthesis via inhibition of MAPK/AP-1, NF- κ B and stimulation of TGF- β 1, Smad3, Nrf2 in normal human dermal fibroblasts. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 185: 241-253.

Girma, T., Chala, G. & Mekibib, B. 2024. Growth inhibitory effect of selected medicinal plants from Southern Ethiopia on the mycelial phase of *Histoplasma capsulatum* var. *farcimosum*. *BMC Veterinary Research* 20: 1-9.

Gohil, K.J., Patel, J.A. & Gajjar, A.K. 2010. Pharmacological review on *Centella asiatica*: a potential herbal cure-all. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 72(5): 546-556.

González, S., Aguilera, J., Berman, B., Calzavara-Pinton, P., Gilaberte, Y., Goh, C.L., Lim, H.W., Schalka, S., Stengel, F. & Wolf, P. 2022. Expert recommendations

on the evaluation of sunscreen efficacy and the beneficial role of non-filtering ingredients. *Frontiers in Medicine* 9: 790207.

Green, A.C., Williams, G.M., Logan, V. & Strutton, G.M. 2011. Reduced melanoma after regular sunscreen use: randomized trial follow-up. *Journal of Clinical Oncology* 29(3): 257-263.

Green, M., Kashetsky, N., Feschuk, A. & Maibach, H.I. 2022. Transepidermal water loss (TEWL): environment and pollution - A systematic review. *Skin Health and Disease* 2(2): e104.

Gromkowska-Opka, J., Jakubik, A., Mankiewicz-ukowska, J., Soc K. 2021. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging - review of in vitro studies. *Journal of Cosmetic Dermatology* 20(11): 3427-3431.

Guan, L.L., Lim, H.W. & Mohammad, T.F. 2021. Sunscreens and photoaging: a review of current literature. *American Journal of Clinical Dermatology* 22(6): 819-828.

Gupta, A., Singh, A.P., Singh, V.K., Singh, P.R., Jaiswal, J., Kumari, N., Upadhye, V., Singh, S.C. & Sinha, R.P. 2023. Natural sun-screening compounds and DNA-repair enzymes: photoprotection and photoaging. *Catalysts* 13(4): 745.

Hahm, J.Y., Park, J., Jang, E.-S. & Chi, S.W. 2022. 8-Oxoguanine: from oxidative damage to epigenetic and epitranscriptional modification. *Experimental & Molecular Medicine* 54(10): 1626-1642.

Handayani, R., Febriyanti, R.M., Muhaimin, M. & Chearunisaa, A.Y. 2025. *Centella asiatica* (L.) Urb. in skin health and cosmeceuticals: mechanisms, clinical evidence, and advanced delivery systems. *Pharmacia* 72: 1-13.

Hashim, P. 2013. Triterpenoid centellosides: bioactivities and uses in healthcare application. Dlm. *Natural Products*, hlm. 3959-3973.

Hein, Z.M., Gopalakrishna, P.K., Kanuri, A.K., Thomas, W., Hussan, F., Naik, V.R., Shantakumari, N., Che Ramli, M.D., Mohd Moklas, M.A. & Che Mohd Nassir, C.M.N. 2025. *Centella asiatica*: advances in extraction technologies, phytochemistry, and therapeutic applications. *Life* 15(7): 1081.

Hidayati, S., Nurdin, S.U. & Nugroho, R.A. 2016. Aktivitas antioksidan dan sifat sensori dari nasi instan hasil hidrolisis pati yang diperkaya dengan ekstrak pegagan (*Centella asiatica*). *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian* 21(2): 77-88.

Holick, M.F. 2020. Sunlight, UV radiation, vitamin D, and skin cancer: how much sunlight do we need? Dlm. *Sunlight, Vitamin D and Skin Cancer*: 19-36.

Hong, J.Y., Kwon, D. & Park, K.Y. 2025. Microbiome-based interventions for skin aging and barrier function: a comprehensive review. *Annals of Dermatology* 37(5): 259-268.

- Humbert, P., Fanian, F., Maibach, H. & Agache, P. 2020. *Agache's Measuring* Springer.
- Isedeh, P., Kohli, I., Al-Jamal, M., Agbai, O., Chaffins, M., Devpura, S., Mahan, M., Vanderover, G., Lim, H.W. & Matsui, M. 2016. An in vivo model for postinflammatory hyperpigmentation: an analysis of histological, spectroscopic, colorimetric and clinical traits. *British Journal of Dermatology* 174(4): 862–868.
- Jaffri, J.M. 2023. Reactive oxygen species and antioxidant system in selected skin disorders. *Malaysian Journal of Medical Sciences* 30(1): 7.
- Jesus, A., Silva, J.P., Cidade, H., Cruz, M.T., Sousa, E. & Almeida, I.F. 2026. Human photoaging skin models for the efficacy evaluation of anti-aging ingredients: advances on clinical and ex vivo studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*: 115059.
- Jin, S.-G., Padron, F. & Pfeifer, G.P. 2022. UVA radiation, DNA damage, and melanoma. *ACS Omega* 7(37): 32936–32948.
- Kanlayavattanakul, M. & Lourith, N. 2015. An update on cutaneous aging treatment using herbs. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy* 17(6): 343–352.
- Kasote, D.M., Katyare, S.S., Hegde, M.V. & Bae, H. 2015. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. *International Journal of Biological Sciences* 11(8): 982–991.
- Kato, T.A. 2025. UV-induced DNA damage detection by ELISA analysis. *Methods in Molecular Biology* 2933: 69–73.
- Khan, A., Kanwal, F., Ullah, S., Fahad, M., Tariq, L., Altaf, M.T., Riaz, A. & Zhang, G. 2025. Plant secondary metabolites—central regulators against abiotic and biotic stresses. *Metabolites* 15(4): 276.
- Kim, M.-J., Ahn, H.-J., Kong, D., Lee, S., Kim, D.-H. & Kang, K.-S. 2024. Modeling of solar UV-induced photodamage on the hair follicles in human skin organoids. *Journal of Tissue Engineering* 15: 20417314241248753.
- Ko, K., Cheon, G.Y., Ha, Y.J., Ko, Y.R., Kim, J.H., Seo, D., Park, S.Y., Lee, B. & Hong, K.B. 2025. Enhanced skin-protective effects of a novel *Centella asiatica* variety (BT-Care) cultivated for 75 days via modulation of antioxidant defense, collagen synthesis, and skin barrier function. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 35: e2504036.
- Krishna, H. 2021. Integumental system. *Veterinary Record*: 1–10.
- Krutmann, J., Bouloc, A., Sore, G., Bernard, B.A. & Passeron, T. 2017. The skin aging exposome. *Journal of Dermatological Science* 85(3): 152–161.
- Kumagai, C.M., Martinez, R.M., Colombo, B.B., Saito, P., Pinto, I.C., Rodrigues, C.C.A., Vale, D.L., Matos, R.L.N., Bracarense, A., Baracat, M.M., Georgetti,

S.R., Clemente-Napimoga, J.T., Napimoga, M.H., Fattori, V., Verri, W.A. Jr. & Casagrande, R. 2021. Topical administration of 15-deoxy- (12-, 15-) prostaglandin J2 using a nonionic cream: effect on UVB-induced skin oxidative, inflammatory, and histopathological modifications in mice. *Mediators of Inflammation* 2021: 9330596.

Waniowska, D., Wiewlicz, J. *Centella asiatica* extracts. *Current Trends in Quality Science*: 46.

Kwon, K.J., Bae, S., Kim, K., An, I.S., Ahn, K.J., An, S. & Cha, H.J. 2014. Asiaticoside, a component of *Centella asiatica*, inhibits melanogenesis in B16F10 mouse melanoma. *Molecular Medicine Reports* 10(1): 503-507.

Lai-Cheong, J.E. & McGrath, J.A. 2017. Structure and function of skin, hair and nails. *Medicine* 45(6): 347-351.

Lee, C.-H., Wu, S.-B., Hong, C.-H., Yu, H.-S. & Wei, Y.-H. 2013. Molecular mechanisms of UV-induced apoptosis and its effects on skin residential cells: the implication in UV-based phototherapy. *International Journal of Molecular Sciences* 14(3): 6414-6435.

Lee, J.-H., Kim, H.-L., Lee, M.H., You, K.E., Kwon, B.-J., Seo, H.J. & Park, J.-C. 2012. Asiaticoside enhances normal human skin cell migration, attachment and growth in vitro wound healing model. *Phytomedicine* 19(13): 1223-1227.

Lee, W.J., Park, K.H., Sohn, M.Y., Lee, W.C., Lee, S.J. & Kim, D.W. 2013. Ultraviolet B irradiation increases the expression of inflammatory cytokines in cultured sebocytes. *Journal of Dermatology* 40(12): 993-997.

Limtrakul, P., Yodkeeree, S., Punfa, W. & Srisomboon, J. 2016. Inhibition of the MAPK signaling pathway by red rice extract in UVB-irradiated human skin fibroblasts. *Natural Product Communications* 11(12): 1877-1882.

Lin, P., Shi, H.-Y., Lu, Y.-Y. & Lin, J. 2023. *Centella asiatica* alleviates psoriasis through JAK/STAT3-mediated inflammation: an in vitro and in vivo study. *Journal of Ethnopharmacology* 317: 116746.

Liu, M., Lu, F. & Feng, J. 2024. Aging and homeostasis of the hypodermis in the age-related deterioration of skin function. *Cell Death & Disease* 15(6): 443.

Liu, Q., Wang, T., Ke, M., Qian, C., Li, J., Huang, X., Gao, Z., Chen, X. & Tu, T. 2024. UV-B radiation disrupts membrane lipid organization and suppresses protein mobility of GmNARK in *Arabidopsis*. *Plants* 13(11): 1536.

Ma, L.-P., Liu, M.-M., Liu, F., Sun, B., Wang, S.-N., Chen, J., Yu, H.-J., Yan, J., Tian, M. & Gao, L. 2023. Melatonin inhibits senescence-associated melanin pigmentation through the p53-TYR pathway in human primary melanocytes and the skin of C57BL/6 J mice after UVB irradiation. *Journal of Molecular Medicine* 101(5): 581-593.

- Mahajan, V.K., Sharma, N., Sharma, V., Verma, R., Chandel, M. & Singh, R. 2024. Topical sunscreens: a narrative review for contact sensitivity, potential allergens, clinical evaluation, and management for their optimal use in clinical practice. *Indian Dermatology Online Journal* 15(6): 920–929.
- Mallet, J.D., Dorr, M.M., Drigeard Desgarnier, M.-C., Bastien, N., Gendron, S.P. & Rochette, P.J. 2016. Faster DNA repair of ultraviolet-induced cyclobutane pyrimidine dimers and lower sensitivity to apoptosis in human corneal epithelial cells than in epidermal keratinocytes. *PLoS ONE* 11(9): e0162212.
- Mancebo, S.E. & Wang, S.Q. 2014. Skin cancer: role of ultraviolet radiation in carcinogenesis. *Reviews on Environmental Health* 29(3): 265–273.
- Maramaldi, G., Togni, S., Franceschi, F. & Lati, E. 2014. Anti-inflammaging and antiglycation activity of a novel botanical ingredient from African biodiversity (Centevita®). *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 7: 1–9.
- Marzvanyan, A. & Alhawaj, A.F. 2019. Physiology, sensory receptors.
- Matsui, T. 2023. Epidermal barrier development via corneoptosis: a unique form of cell death in stratum granulosum cells. *Journal of Developmental Biology* 11(4): 43.
- Matsumura, Y. & Ananthaswamy, H.N. 2004. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology* 195(3): 298–308.
- McKnight, G., Shah, J. & Hargest, R. 2022. Physiology of the skin. *Surgery (Oxford)* 40(1): 8–12.
- Memarzadeh, F. 2021. A review of recent evidence for utilizing ultraviolet irradiation technology to disinfect both indoor air and surfaces. *Applied Biosafety* 26(1): 52–56.
- Merin, K., Shaji, M. & Kameswaran, R. 2022. A review on sun exposure and skin diseases. *Indian Journal of Dermatology* 67(5): 625.
- Mijaljica, D., Townley, J.P., Klionsky, D.J., Spada, F. & Lai, M. 2025. The origin, intricate nature, and role of the skin surface pH (pHSS) in barrier integrity, eczema, and psoriasis. *Cosmetics* 12(1): 24.
- Milani, M. & Sparavigna, A. 2017. The 24-hour skin hydration and barrier function effects of a hyaluronic 1%, glycerin 5%, and *Centella asiatica* stem cells extract moisturizing fluid: an intra-subject, randomized, assessor-blinded study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*: 311–315.
- Mishra, A., Mishra, A. & Chattopadhyay, P. 2011. Herbal cosmeceuticals for photoprotection from ultraviolet B radiation: a review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 10(3).
- Monteiro-Riviere, N.A. 2020. Comparative anatomy, physiology, and biochemistry of mammalian skin. Dlm. *Dermal and Ocular Toxicology*: 3–71.

- Narayanan, D.L., Saladi, R.N. & Fox, J.L. 2010. Ultraviolet radiation and skin cancer. *International Journal of Dermatology* 49(9): 978-986.
- Natarelli, N., Aflatoon, S., Stankiewicz, K., Correa-Selm, L. & Sivamani, R.K. 2025. Oral supplements and photoprotection: a systematic review. *Journal of Medicinal Food* 28(6): 519-541.
- Naylor, E.C., Watson, R.E. & Sherratt, M.J. 2011. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas* 69(3): 249-256.
- Ngoc, L.T.N., Tran, V.V., Moon, J.-Y., Chae, M., Park, D. & Lee, Y.-C. 2019. Recent trends of sunscreen cosmetic: an update review. *Cosmetics* 6(4): 64.
- Nicholson, A., Haynes, A., Brennan, E., Maitland, C. & Dixon, H. 2025. Clear front-of-pack labelling information can improve sunscreen reapplication knowledge and intentions: findings from an online experiment. *BMC Public Health* 25(1): 3656.
- Noppradit, B., Klinnawee, L., Leeratiwong, C., Praparatana, R. & Puttarak, P. 2024. *Centella asiatica* (L.) Urb. and *Hydrocotyle umbellata* L. identification and quality assessment: a methodology comparison. *Phytochemical Analysis* 35(6): 1383-1398.
- Norman, K.G., Loretz, L., Kowcz, A., Kaufman, L.E., Ruvolo, E., Traudt, M., Santos, I., Rosemansfield, R. & Nash, J.F. 2023. Application habits and practices of regular sunscreen users in the United States: results of an online survey. *Food and Chemical Toxicology* 181: 114093.
- Orhan, I.E. 2012. *Centella asiatica* (L.) Urban: from traditional medicine to modern medicine with neuroprotective potential. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2012: 946259.
- Padmiswari, A.I.M., Wulansari, N.T. & Indrayoni, P. 2023. Antioxidant activity test of combination of *Centella asiatica* leaf extract and mint leaf extract as an alternative herbal drink. *Jurnal Pijar MIPA* 18(1): 126-129.
- Papakonstantinou, E., Roth, M. & Karakiulakis, G. 2012. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-Endocrinology* 4(3): 253-258.
- Parrado, C., Philips, N., Gilaberte, Y., Juarranz, A. & González, S. 2018. Oral photoprotection: effective agents and potential candidates. *Frontiers in Medicine* 5: 364452.
- Perluigi, M., Di Domenico, F., Blarmino, C., Foppoli, C., Cini, C., Giorgi, A., Grillo, C., De Marco, F., Butterfield, D.A. & Schininà, M.E. 2010. Effects of UVB-induced oxidative stress on protein expression and specific protein oxidation in normal human epithelial keratinocytes: a proteomic approach. *Proteome Science* 8(1): 13.
- Perugini, P., Bonetti, M., Cozzi, A.C. & Colombo, G.L. 2019. Topical sunscreen application preventing skin cancer: systematic review. *Cosmetics* 6(3): 42.

Pfeifer, G.P. 2020. Mechanisms of UV-induced mutations and skin cancer. *Genome Instability & Disease* 1(3): 99–113.

Pfisterer, K., Shaw, L.E., Symmank, D. & Weninger, W. 2021. The extracellular matrix in skin inflammation and infection. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 9: 682414.

Pittayapruek, P., Meephansan, J., Prapapan, O., Komine, M. & Ohtsuki, M. 2016. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences* 17(6): 868.

Portilho, L., Aiello, L.M., Vasques, L.I., Bagatin, E. & Leonardi, G.R. 2022. Effectiveness of sunscreens and factors influencing sun protection: a review. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 58.

Purdiyanti, P. 2022. Uji aktivitas antioksidan serum anti aging dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L. Urban). *Parapemikir: Jurnal Ilmiah Farmasi* 11(3): 245–254.

Rajkumar, J., Chandan, N., Lio, P. & Shi, V. 2023. The skin barrier and moisturization: function, disruption, and mechanisms of repair. *Skin Pharmacology and Physiology* 36(4): 174–185.

Ratzyk, A., Arct, J., & Jankowska, M. 2001. Inflammatory properties of cosmetic formulations containing *Centella asiatica* extract. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 78(1): 27–33.

Reichrath, J. & Rass, K. 2014. Ultraviolet damage, DNA repair and vitamin D in nonmelanoma skin cancer and in malignant melanoma: an update. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 810: 208–233.

Sander, M., Burbidge, T. & Beecker, J. 2020. The efficacy and safety of sunscreen use for the prevention of skin cancer. *CMAJ* 192(50): E1802–E1808.

Sari, L., Mawardi, P. & Subchan, P. 2025. Protective effects of *Centella asiatica* leaf extract cream on IL-1 α expression and sunburn cells by UVB. *Scripta Medica* 56(2): 265–273.

Sasaki, H., Sakamoto, Y., Schnider, C., Fujita, N., Hatsusaka, N., Sliney, D.H. & Sasaki, K. 2011. UV-B exposure to the eye depending on solar altitude. *Eye & Contact Lens* 37(4): 191–195.

Schalka, S. 2015. Extrato de *Polypodium leucotomos* em fotoproteção tópica e oral: dez anos de experiência brasileira. *Surgical & Cosmetic Dermatology*.

Schiffman, H.R. 2019. The skin, body, and chemical senses. *Companion Encyclopedia of Psychology*: 224–250.

Seo, J., Jeong, C., Oh, S.M., Lee, S.Y., Park, H.W., Seo, D.B., Yoo, D.S., Sim, W.-J., Lim, T.-G. & Park, J.H.Y. 2024. Giant *Centella asiatica*, a novel cultivar rich in madecassoside and a s-methyladenosine derivative, suppresses

hormone-induced melanogenesis through MC1R binding. *International Journal of Molecular Medicine* 55(1): 13.

- Setiawati, A., Maharani, B.A., Puspa, S.P.A., Widyantara, K.A., Saputra, B.W., Febriansyah, R. & Dwiastuti, R. 2024. Deciphering the molecular pathway of an asiaticoside-rich fraction of *Centella asiatica* as an anti-melanogenesis agent.
- Shah, P. & He, Y.Y. 2015. Molecular regulation of UV-induced DNA repair. *Photochemistry and Photobiology* 91(2): 254–264.
- Solano, F. 2020. Photoprotection and skin pigmentation: melanin-related molecules and new agents obtained from natural sources. *Molecules* 25(7): 1537.
- Soliman, I.I., Medhat, N., Saleh, H. & Halawany, M.E. 2024. *Centella asiatica*: recent cosmeceutical uses for treatment of skin diseases. *Bulletin of Faculty of Pharmacy Cairo University* 62(2): 3.
- Sreeraj, H., Anukiruthika, R., Tamilselvi, K. & Subha, D. 2024. Exosomes for skin treatment: therapeutic and cosmetic applications. *Nano TransMed* 3: 100048.
- Su, Z., Zheng, Y., Yi, J., Lai, W. & Ye, C. 2025. The effectiveness and safety of a skin care product with *Centella asiatica* leaf extract, ceramide NP, and panthenol in subjects with sensitive skin: a prospective, observational study. *Journal of Cosmetic Dermatology* 24(7): e70324.
- Sudam, K.R. & Suresh, B.R. 2016. A comprehensive review on transdermal drug delivery systems. *International Journal of Biomedical and Advance Research* 7(4): 147–159.
- Sun, B., Wu, L., Wu, Y., Zhang, C., Qin, L., Hayashi, M., Kudo, M., Gao, M. & Liu, T. 2020. Therapeutic potential of *Centella asiatica* and its triterpenes: a review. *Frontiers in Pharmacology* 11: 568032.
- Tang, X., Yang, T., Yu, D., Xiong, H. & Zhang, S. 2024. Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation exposure: friends and foes to the skin and beyond the skin. *Environment International* 185: 108535.
- Tanveer, M.A., Rashid, H. & Tasduq, S.A. 2023. Molecular basis of skin photoaging and therapeutic interventions by plant-derived natural product ingredients: a comprehensive review. *Heliyon* 9(3).
- Thong-On, W., Pathomwichaiwat, T., Boonsith, S., Koo-Amornpattana, W. & Prathanturug, S. 2021. Green extraction optimization of triterpenoid glycoside-enriched extract from *Centella asiatica* (L.) Urban using response surface methodology. *Scientific Reports* 11(1): 22026.
- Thong-On, W., Sakchaisri, K. & Prathanturug, S. 2024. The effects of glycoside-rich green extract from *Centella asiatica* on wound healing and anti-aging activity. *Phytomedicine Plus* 4(4): 100628.

- Urbanik, S., Bogusewska, B., Baraszkiewicz, M., Karwowski, B.T. 2020. 8-Oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxodG) and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as potential biomarkers for gestational diabetes mellitus development. *Molecules* 25(1): 202.
- Valenzuela, F., Bilicic, D., Hartmann, D. & Retamal, C. 2025. The science and evolutionary perspective of beautiful skin. *Cosmetics* 12(5): 216.
- Vandevlekkert, D., Machado, P., D'Alejo, A. 2020. In mouse tissue sections with *BioProtoc* 10(d0): stric e3629.
- Wang, F., Ma, W., Fan, D., Hu, J., An, X. & Wang, Z. 2024. The biochemistry of melanogenesis: an insight into the function and mechanism of melanogenesis-related proteins. *Frontiers in Molecular Biosciences* 11: 1440187.
- Wang, J., Qiu, H., Xu, Y., Gao, Y., Tan, P., Zhao, R., Liu, Z., Tang, Y., Zhu, X. & Bao, C. 2022. The biological effect of recombinant humanized collagen on damaged skin induced by UV-photoaging: an in vivo study. *Bioactive Materials* 11: 154-165.
- Wang, P.-W., Hung, Y.-C., Lin, T.-Y., Fang, J.-Y., Yang, P.-M., Chen, M.-H. & Pan, T.-L. 2019. Comparison of the biological impact of UVA and UVB upon the skin with functional proteomics and immunohistochemistry. *Antioxidants* 8(12): 569.
- Wei, M., He, X., Liu, N. & Deng, H. 2024. Role of reactive oxygen species in ultraviolet-induced photodamage of the skin. *Cell Division* 19(1): 1.
- Witkowska, K., Paczkowska-Walendowska, M., Garbiec, E. & Cielecka-Piontek, J. 2024. Topical application of *Centella asiatica* in wound healing: recent insights into mechanisms and clinical efficacy. *Pharmaceutics* 16(10): 1252.
- Wunderlich, K., Suppa, M., Gandini, S., Lipski, J., White, J. & Del Marmol, V. 2024. Risk factors and innovations in risk assessment for melanoma, basal cell carcinoma, and squamous cell carcinoma. *Cancers* 16(5): 1016.
- Xiaoyou, T., Tingyi, Y., Daojiang, Y., Hai, X. & Shuyu, Z. 2024. Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation exposure: friends and foes to the skin and beyond the skin. *Environment International* 185: 108535.
- Yang, C.-Y., Guo, Y., Wu, W.-J., Man, M.-Q., Tu, Y. & He, L. 2022. UVB-induced secretion of IL-1 promotes melanogenesis by upregulating expression in vitro. *BioMed Research International* 2022: 8230646.
- Yang, J., Zeng, J. & Lu, J. 2022. Mechanisms of ultraviolet-induced melasma formation: a review. *Journal of Dermatology* 49(12): 1201-1210.
- Yang, J.W., Fan, G.B., Tan, F., Kong, H.M., Liu, Q., Zou, Y. & Tan, Y.M. 2023. The role and safety of UVA and UVB in UV-induced skin erythema. *Frontiers in Medicine (Lausanne)* 10: 1163697.

Young, A.R., Greenaway, J., Harrison, G.I., Lawrence, K.P., Sarkany, R., Douki, T., Boyer, F., Josse, G., Questel, E. & Monteil, C. 2018. Sub-optimal application of a high SPF sunscreen prevents epidermal DNA damage in vivo. *Acta Dermato-Venereologica* 98(9): 880–887.

Yousef, H., Alhaji, M. & Sharma, S. 2017. Anatomy, skin (integument), epidermis.



LAMPIRAN A

SURAT KELULUSAN JABATAN ETIKA PENGGUNAAN HAIWAN



JAWATANKUASA ETIKA HAIWAN • ANIMAL ETHICS COMMITTEE

Rujukan: UKM.PPI.AEC.800-4/3/1
09hb. Disember, 2022

Prof. Madya Dr. Norliza Muhammad,
Jabatan Farmakologi,
Fakulti Perubatan,
Universiti Kebangsaan Malaysia,
Jalan Yaacob Latiff, Bandar Tun Razak,
56000 Cheras, Kuala Lumpur.

Puan,

Kelulusan Dari Jawatankuasa Etika Penggunaan Haiwan (UKMAEC) Untuk Tajuk:
"Elucidating the systemic photoprotective mechanism of orally administered Centella asiatica extract against UV-induced skin aging in hairless mouse model."

Kelulusan permohonan puan diluluskan. Nombor kelulusan adalah seperti berikut:

FAR/PP/2022/NORLIZA/28-SEPT./1279-SEPT.-2022-SEPT.-2024

Bersama surat ini kami lampirkan sijil kelulusan dengan butiran yang berkaitan. Diharap sijil ini dapat dimanfaatkan pada masa hadapan.

Sekian, terima kasih.

Yang benar,

.....
PROFESOR MADYA DR. NUR AZLINA MOHD FAHAMI
Pengerusi UKMAEC
Universiti Kebangsaan Malaysia

LAMPIRAN B

SURAT KELULUSAN JABATAN ETIKA PENGGUNAAN HAIWAN


**UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
ANIMAL ETHICS COMMITTEE**

c/o Laboratory Animal Resource Unit
Faculty of Medicine, UKM
Jalan Temerloh, 53200 Kuala Lumpur
Tel: 92895086, 92895091, 92895087



28th September, 2022

UKMAEC APPROVAL NUMBER: **FAR/PP/2022/NORLIZA/28-SEPT./1279-SEPT.-2022-SEPT.-2024**

CHIEF INVESTIGATOR: **Assoc. Prof. Dr. Norliza Muhammad**

DIVISION/DEPT. OF CHIEF INVESTIGATOR: **Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia.**

FUNDING INSTITUTION (S): **MOHE**

GRANT NUMBER (S): **FRGS/1/2021/SKK0/UKM/02/13**

PROJECT TITLE: **Ovine Elucidating the systemic photoprotective mechanism of orally administered Centella asiatica extract against UV-induced skin aging in hairless mouse model**

CO-INVESTIGATOR: **Dr. Prof. Dr. Suzana Makpol
Assoc. Prof. Dr. Adawiyah Jamil
Assoc. Prof. Dr. Elvy Suhana Ramli
Assoc. Prof. Dr. Suria Hayati Md Pauzi
Mr. Mohd Mustazil Mohd Noor**

STUDENT: **Kirushmita A/P Anbualakan
Nur Qisti Tajul Urus**


OTHER AUXILIARIES: **-**

PROJECT CLASSIFICATION: **A**


SOURCE OF ANIMALS: **LARU, UKM.**

HOUSING-LOCATION OF ANIMALS DURING PROJECT: **Pharmacology Lab Level 11, Pre-clinical Building PPUKM**

ESTIMATED DURATION OF PROJECT: **From September 2022 to September 2024**


Assoc. Prof. Dr. Nur Azlina Mohd Fahami
Chairperson of UKMAEC
Universiti Kebangsaan Malaysia




Muhamad Fakhri Mohd Saleh
Secretary of UKMAEC
Universiti Kebangsaan Malaysia

LAMPIRAN C

SERTIFIKASI KHURSUS PENGENDALIAN HAIWAN



LAMPIRAN D

SERTIFIKASI KHURSUS PEWARNAAN IMMUNOHISTOLOGI



LAMPIRAN E

SERTIFIKASI PENGLIBATAN PERTANDINGAN POSTER



LAMPIRAN F

SERTIFIKASI KEHADIRAN PERSIDANGAN

12TH MALAYSIA INDONESIA BRUNEI
Medical Sciences Conference 2022
Pengiran Anak Puteri Rashidah Sa'adatul Bolkiah Institute of Health Sciences
Universiti Brunei Darussalam

UNIVERSITI KEBANGSAAN MALAYSIA
The National University of Malaysia

UNIVERSITAS INDONESIA
FACULTY OF MEDICINE

Al-Jahid Supri Semarang

Certificate of Attendance
presented to
Qisti Tajul
for attending the
12th Malaysia-Indonesia-Brunei Medical Sciences Conference 2022
held between 19th to 20th September 2022

Professor Dr. Abdul Halim Bin Abdul Gafor
Dean
Faculty of Medicine
Universiti Kebangsaan Malaysia Medical Center

Prof. Dr. dr. Ari Faniatul Syam, SpPD-KGEH, MMB
Dean
Faculty of Medicine
Universitas Indonesia

Dr. Zaw Wint
Dean
Pengiran Anak Puteri Rashidah Sa'adatul Bolkiah
Institute of Health Sciences
Universiti Brunei Darussalam



LAMPIRAN G

PENERBITAN



Review

A Scoping Review on the Effects of Carotenoids and Flavonoids on Skin Damage Due to Ultraviolet Radiation

Kirushmita Anbualakan ¹, Nur Qisti Tajul Urus ¹, Suzana Makpol ², Adawiyah Jamil ³, Elvy Suhana Mohd Ramli ⁴, Suria Hayati Md Pauzi ⁵ and Norliza Muhammad ^{1,*}

¹ Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur 56000, Malaysia

² Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur 56000, Malaysia

³ Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur 56000, Malaysia

⁴ Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur 56000, Malaysia

⁵ Department of Pathology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Kuala Lumpur 56000, Malaysia

* Correspondence: norliza_ssp@ppukm.ukm.edu.my

Abstract: Skin exposure to ultraviolet (UV) rays in the sun causes premature ageing and may predispose to skin cancers. UV radiation generates excessive free radical species, resulting in oxidative stress, which is responsible for cellular and DNA damage. There is growing evidence that phytonutrients such as flavonoids and carotenoids may impede oxidative stress and prevent photodamage. We conducted a systematic review of the literature to explore the effects of certain phytonutrients in preventing skin photodamage. We searched the electronic Medline (Ovid) and Pubmed databases for relevant studies published between 2002 and 2022. The main inclusion criteria were articles written in English, and studies reporting the effects of phytonutrient-containing plants of interest on the skin or skin cells exposed to UV radiation. We focused on tea, blueberries, lemon, carrot, tomato, and grapes, which are rich in flavonoids and/or carotenoids. Out of 434 articles retrieved, 40 were identified as potentially relevant. Based on our inclusion criteria, nine articles were included in the review. The review comprises three combined in vitro and animal studies, four human studies, one in vitro research, and one mixed in vitro and human study. All the studies reported positive effects of flavonoids and carotenoid-containing plant extract on UV-induced skin damage. This evidence-based review highlights the potential use of flavonoids and carotenoids found in plants in preventing the deleterious effects of UV radiation on the skin. These compounds may have a role in clinical and aesthetic applications for the prevention and treatment of sunburn and photoaging, and may potentially be used against UV-related skin cancers.

Keywords: phytonutrients; ultraviolet; photodamage; carotenoids; flavonoids; ageing



Citation: Anbualakan, K.; Tajul Urus, N.Q.; Makpol, S.; Jamil, A.; Mohd Ramli, E.S.; Md Pauzi, S.H.; Muhammad, N. A Scoping Review on the Effects of Carotenoids and Flavonoids on Skin Damage Due to Ultraviolet Radiation. *Nutrients* **2023**, *15*, 92. <https://doi.org/10.3390/nu15010092>

Academic Editors: Felicite Noubissi-Kamdem, Anthony L. Walker and Jean Christopher Chamcheu

Received: 25 November 2022

Revised: 16 December 2022

Accepted: 21 December 2022

Published: 24 December 2022



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Exposure to ultraviolet (UV) rays not only causes unsightly skin conditions, such as wrinkles, redness, rough skin and pigmentation, but is also responsible for the development of skin cancers [1]. Reactive oxygen species (ROS), which are produced when riboflavin, porphyrins, and heme-containing proteins absorb photons from UV radiation, are the primary mechanism by which UV radiation harms the skin [2]. ROS are unstable metabolic by-products of oxygen molecules produced in biological systems. Examples of ROS molecules include superoxide radicals, hydroxyl radicals, hydrogen peroxides, lipid peroxides and singlet oxygen [3]. Depending on their concentration, these molecules exhibit both harmful and beneficial effects in organisms [4]. ROS play a beneficial role in