

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit memiliki beberapa fungsi penting dalam tubuh manusia. Fungsi-fungsi ini termasuk sebagai penghalang utama yang melindungi organ dalam tubuh dari lingkungan luar, mengatur suhu tubuh, menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit, serta menyediakan berbagai reseptor seperti reseptor sentuhan, nyeri, dan tekanan (Ahmad & Damayanti, 2018). Masalah penuaan kulit meningkat seiring dengan bertambahnya populasi orang lanjut usia di dunia. Pada populasi ini, terjadi berbagai perubahan pada kulit yang merupakan hasil dari penurunan fungsi dan kapasitas kulit secara bertahap. Penuaan kulit dipengaruhi oleh dua faktor utama yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik melibatkan genetika, metabolisme sel, dan hormon dalam tubuh. Sedangkan faktor ekstrinsik mencakup paparan radiasi *ultraviolet*, inframerah, serta zat-zat karsinogen dalam lingkungan seperti polusi udara. Paparan sinar *ultraviolet* matahari adalah penyebab utama penuaan kulit dari faktor eksternal, yang disebut *photoaging* (Yusharyahya, 2021).

Sinar UV-B merusak kulit dengan menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), yang langsung merusak berbagai komponen kulit termasuk DNA mitokondria, lemak, dan kolagen. ROS juga mengaktifkan enzim MMP yang berperan dalam degradasi ekstraseluler dan penurunan produksi kolagen. Paparan sinar *ultraviolet* juga menurunkan kadar TGF- β , molekul penting untuk produksi kolagen. Kolagen merupakan protein yang memberikan kekuatan dan keelastisan pada jaringan kulit, sehingga kerusakan pada kolagen dapat mengakibatkan kerutan, kekenduran, dan tekstur kulit yang kasar (Sari *et al.*, 2020). Kolagen tidak hanya disintesis oleh *fibroblast* saja, tetapi juga oleh berbagai sel lain seperti sel *cementoblasts*, *odontoblasts*, *chondroblasts*, *osteoblasts*, *muscle cells*, *epithelial cells*, *endothelial cells*, dan *Schwann cells*. Meskipun sel-sel ini mengeluarkan kolagen dengan cara yang sama seperti *fibroblast*, jenis kolagen yang mereka hasilkan berbeda (D'souza *et al.*, 2020). Sinar UV-A tidak merusak epidermis tetapi menyebabkan inflamasi di dermis, ditandai dengan infiltrasi neutrofil dan limfosit

sebagai respons inflamasi. Sinar UV-A menjadi pemicu utama munculnya kerutan 10 kali lebih kuat dari UV-B. Bertambahnya sinar UV-A yang sampai ke bumi dapat menjadi pemicu penyakit seperti kanker kulit (Putranti *et al.*, 2023; Seran *et al.*, 2018).

Photoaging akibat paparan sinar UV-B dapat memicu radikal bebas *Reactive Oxygen Species (ROS)* ini menyebabkan kerusakan sel dan stres oksidatif pada kulit. Untuk melawan kerusakan ini, antioksidan dapat digunakan. Antioksidan adalah senyawa yang menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul reaktif, sehingga melindungi sel dari kerusakan (Hidayah *et al.*, 2021). Ada dua jenis antioksidan: enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis meliputi Superoksida Dismutase (SOD) dan katalase. Sementara itu, antioksidan non-enzimatis meliputi vitamin C (asam askorbat), vitamin E (*alpha* tokoferol), dan flavonoid (polifenol). Penggunaan antioksidan ini penting untuk mengurangi dampak buruk dari paparan sinar UV pada kulit (Ratri *et al.*, 2021).

Calotropis gigantea Linn atau yang lebih dikenal dengan nama widuri adalah tanaman yang telah dikenal memiliki berbagai senyawa aktif termasuk minyak atsiri (Singh & Javed, 2013, 2015). *Calotropis gigantea* Linn dikenal memiliki berbagai sifat terapeutik, seperti analgesik, antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik, dan prokoagulan. Senyawa kimia aktifnya ditemukan di seluruh bagian tanaman termasuk daun, bunga, getah, dan kulit akar. Bunga merupakan salah satu bagian dari tanaman *Calotropis gigantea* Linn yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Alafnan *et al.*, 2021; Negi & Bisht, 2021; Pudji *et al.*, 2023; Rajamohan *et al.*, 2014).

Adapun studi penelitian melaporkan bahwa minyak atsiri memiliki sifat antioksidan yang kuat, yang bermanfaat dalam melawan radikal bebas dalam tubuh manusia. Salah satu aplikasi penting dari sifat antioksidan minyak atsiri adalah dalam meningkatkan kualitas kolagen (Berechet *et al.*, 2020). Minyak atsiri adalah bahan alami yang menjanjikan sebagai pengganti obat sintesis karena memiliki sifat-sifat baik seperti antibakteri, antijamur, antiinflamasi, dan antioksidan. Khususnya untuk perawatan kulit, minyak atsiri dapat membantu sebagai antiaging.

Minyak atsiri secara tradisional aman dan cocok untuk meningkatkan penyerapan perkutan dari sejumlah obat dari formulasi topikal ke lapisan kulit bawah (Azizah *et al.*, 2022; Râpă *et al.*, 2022). Minyak atsiri mengandung zat dengan titik didih sampai 200⁰C atau suhu yang lebih tinggi. Dengan adanya uap atau air mendidih, zat ini dapat tervolatilkan pada suhu mendekati 100⁰C pada tekanan atmosfer (Rubiyanto *et al.*, 2016).

Dalam mendapatkan minyak atsiri dari bahan alam dapat digunakan metode *soxhletasi* dengan pelarut nonpolar yaitu *n*-heksana. Kelebihan metode ini adalah sampel dapat diekstraksi dengan sempurna karena penyaringan dilakukan secara kontinyu dan dalam keadaan panas. Proses ekstraksi dapat diteruskan sesuai keperluan tanpa perlu menambah volume pelarut, sehingga penggunaan pelarut lebih sedikit. Ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut *n*-heksana terhadap bahan baku bunga yaitu dapat menghasilkan warna kuning diakhir proses ekstraksi dengan *yield* tertinggi, komposisi minyak atsiri yang lebih banyak dan aroma yang lebih harum dan tajam (Armani & Susanti, 2022; Sofihidayati & Wardatun, 2021).

Serum merupakan sediaan kosmetik yang sedang berkembang, memiliki viskositas rendah, dan termasuk dalam kategori sediaan emulsi. Kelebihan serum meliputi konsentrasi bahan aktif tinggi, sehingga dapat cepat diserap oleh kulit untuk memberikan efek yang nyaman. Karena viskositasnya yang rendah, serum mudah menyebar di permukaan kulit. Jenis serum bervariasi termasuk *antiacne*, *brightening*, *antiaging*, dan lain-lain. Selain itu, terdapat perkembangan serum yang berasal dari bahan alam (Anggarini *et al.*, 2021).

Penelitian yang lebih spesifik tentang penggunaan serum minyak atsiri dari bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) untuk mencegah degradasi kolagen pada hewan model *photoaging* seperti marmut, masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini menjadi relevan karena memberikan pemahaman lebih lanjut tentang potensi serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) dalam mengatasi dampak *photoaging* pada kulit. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat diidentifikasi apakah serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) memiliki aktivitas dalam mencegah degradasi kolagen pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang mengalami *photoaging* oleh induksi sinar UV-B.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa saja komponen senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) ?
2. Apakah serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki aktivitas dalam mencegah degradasi kolagen pada kulit marmut yang mengalami *photoaging* oleh induksi sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif ?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui komponen senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn).
2. Untuk mengetahui apakah serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki aktivitas dalam mencegah degradasi kolagen pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang mengalami *photoaging* oleh induksi sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini memberi kesempatan untuk mengeksplorasi potensi minyak atsiri dari bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) sebagai bahan alami untuk meningkatkan serat kolagen. Dalam konteks ini, teori ini dapat membuka pintu bagi pengembangan terapi atau produk berbasis alam yang dapat membantu melawan efek *photoaging* pada kulit.

1.4.2 Manfaat Praktis

Dengan pemahaman tentang bagaimana minyak atsiri dari bunga widuri (*Calotropis gigantea* Linn) dapat meningkatkan serat kolagen, perusahaan kosmetik atau produsen produk perawatan kulit dapat mengembangkan produk-produk baru yang efektif dalam melawan tanda-tanda penuaan dini dan kerusakan kulit akibat sinar UV-B.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* Linn.)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* Linn.)

Tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki klasifikasi ilmiah secara taksonomi sebagai berikut (Mutiah *et al.*, 2021):

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Dicotyledons</i> (Berkeping dua/dikotil)
Subkelas	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Famili	: <i>Apocynaceae</i>
Subfamili	: <i>Asclepodiaceae</i>
Genus	: <i>Calotropis</i>
Spesies	: <i>Calotropis gigantea</i> L.



Sumber : S P Avinash, Srichandan Padhi (2019, Gambar 2.1)

Gambar 2. 1 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

2.1.2 Deskripsi Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* Linn.)

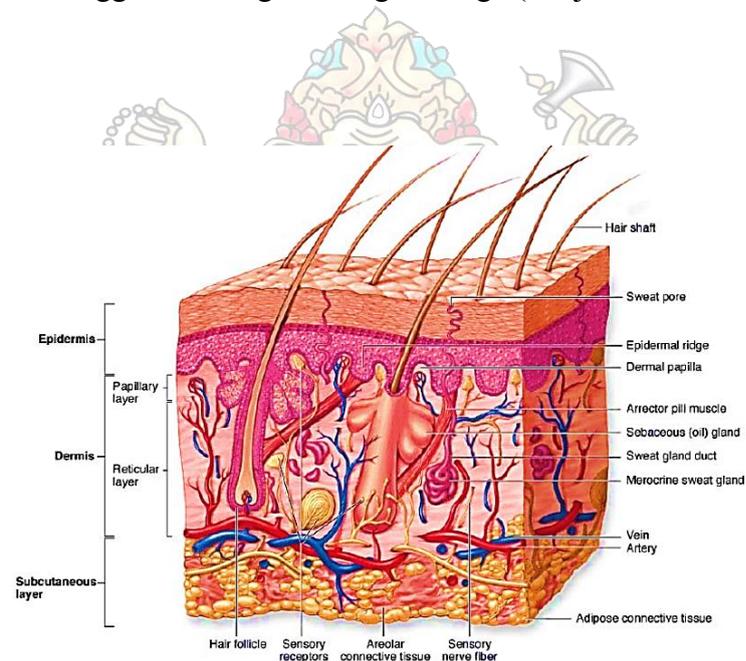
Widuri, juga dikenal sebagai *Calotropis gigantea* Linn, adalah tanaman berbunga dari keluarga Asclepidaceae. Asalnya dari India, Bangladesh, Burma, Cina, Indonesia, Malaysia, Pakistan, Filipina, Thailand, dan Sri Lanka. Biasanya tumbuh di lahan kering dan dikenal sebagai milkweed raksasa, tanaman ini memiliki beberapa nama lokal seperti Akada, Aak, Mandar, Aakh, dan lainnya. Dalam pengobatan ayurveda tradisional di India, widuri memiliki peran penting. Daun widuri berbentuk oval berwarna hijau muda dan memiliki lapisan lilin yang membuatnya tidak dimakan oleh hewan ternak. Batangnya mengandung getah susu, dan bunga-bunganya menyerupai lilin dengan warna putih atau lavender. Tanaman ini tumbuh baik di tanah berpasir dengan curah hujan tahunan sekitar 350-450 mm dan memiliki toleransi terhadap garam. Widuri memiliki tingkat toleransi suhu yang luas, dengan rentang suhu optimal antara 25°C hingga 45°C. Meskipun merupakan tanaman xerofitik, widuri memiliki sistem perakaran bercabang yang memungkinkannya bertahan di lingkungan yang sulit. Tanaman ini dapat tumbuh hingga ketinggian 1-6 meter dan memiliki sistem perakaran yang kuat. Bunga widuri memiliki mahkota yang elegan di tengah setiap bunga dan menopang benang sari. Mereka dipetik pada pagi hari saat hasil fotosintesis disebarkan ke seluruh tanaman. Kelopak bunga widuri bersatu di pangkal dan tidak memiliki aroma khusus. Berdasarkan literatur yang ada, widuri adalah tanaman yang unik dengan adaptasi yang kuat terhadap lingkungan kering dan suhu yang ekstrem (Kumar *et al.*, 2021; Negi & Bisht, 2021; Pudji *et al.*, 2023).

2.1.3 Kandungan Senyawa Tanaman Widuri

Kandungan fitokimia tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung berbagai senyawa aktif penting. Daun widuri mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan polifenol. Bunga widuri mengandung alkaloid, saponin, protein, kalotropin, dan flavonoid. Kulit akar widuri dari Provinsi Lampung, Thailand, mengandung alkaloid, karbohidrat, glikosida, senyawa fenolik/tanin, flavonoid, saponin, sterol, protein, asam amino, berbagai senyawa asam, dan resin. Getah widuri dari Pantai Sanur, Bali, mengandung *lupeol*, *calotropin*, alkaloid, saponin,

tannin, glikosida, flavonoid, enzim protease, dan *calotoxin*. Beberapa metabolit sekunder seperti alkaloid pada daun, bunga, getah, dan kulit akar, saponin pada bunga dan kulit akar, serta flavonoid pada getah dan kulit akar mungkin tidak terdeteksi karena pengaruh faktor lingkungan seperti temperatur, sinar ultraviolet, sinar tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO₂ pada atmosfer. Penapisan fitokimia menunjukkan bahwa daun, bunga, getah, dan kulit akar widuri mengandung fenol, tanin, dan steroid. Saponin terdapat pada daun dan getah, sedangkan flavonoid hanya terdapat pada daun dan bunga. Kadar flavonoid total pada daun lebih tinggi dibandingkan dengan bunga (Pudji *et al.*, 2023).

2.2 Kulit



Sumber : Kalangi (2013, Gambar 2.2)

Gambar 2. 2 Struktur Lapisan Kulit

Kulit merupakan organ terluar tubuh sekaligus organ terberat dan terbesar di tubuh manusia, menyumbang 16% berat tubuh. Kulit pada orang dewasa memiliki luas sekitar 1,5–1,9 m² dan berat 2,7–3,6 kg. Jutaan sel kulit dapat mati dan digantikan oleh sel kulit baru yang baru tumbuh. Kulit berfungsi sebagai perlindungan atau pertahanan, mengeluarkan sisa metabolisme yang tidak berguna dari tubuh, mengontrol suhu tubuh, menyimpan minyak yang berlebihan, sebagai indra peraba, tempat pembuatan vitamin D, dan mencegah kehilangan

cairan tubuh yang penting. Kulit terdiri dari tiga lapisan utama: subkutaneum (lapisan paling dalam), dermis (lapisan tengah), dan epidermis (lapisan bagian luar tipis) (Sari, 2015).

2.2.1 Epidermis

Lapisan terluar kulit yang terlihat disebut epidermis, terdiri dari lima lapisan sel yang berbeda, dari dasar ke atas yaitu *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum*, dan *stratum corneum*. Jumlah sel mati dan berkeratin meningkat seiring naiknya lapisan (Sanjaya *et al.*, 2023). Epidermis memiliki 4 jenis sel yang meliputi keratinosit, melanosit, sel *Langerhans*, dan sel *Merkel* (Kalangi, 2013).

a. Keratinosit

Keratinosit adalah sel terbanyak (85–95%) berasal dari ektoderm permukaan. Keratinosit merupakan sel epitel yang mengalami keratinisasi, yang menciptakan lapisan yang kedap air dan melindungi pelidung tubuh. Proliferasi mitosis, diferensiasi, kematian sel, dan pengelupasan (deskuamasi) adalah fase proses keratinisasi, yang berlangsung selama dua hingga tiga minggu.

b. Melanosit

Melanosit merupakan 7-10% sel epidermis, yang merupakan sel kecil dengan cabang dendritik panjang tipis yang berakhir pada keratinosit di *stratum basal* dan *spinosum*. Melanosit ditemukan di antara sel pada *stratum basal*, folikel rambut, dan sedikit dalam dermis. Melanin dibuat dalam melanosom, salah satu organel sel melanosit yang mengandung asam amino tirosin dan enzim tirosinase. Tirosin diubah menjadi melanin selama serentetan reaksi, yang berfungsi sebagai tirai yang menahan radiasi *ultraviolet* yang berbahaya.

c. Sel *Langerhans*

Sel *Langerhans* adalah sel dendritik dengan bentuk ireguler yang ditemukan terutama di antara keratinosit dalam *stratum spinosum* dan berfungsi sebagai sel pembawa antigen yang menyebabkan hipersensitivitas tipe lambat pada kulit.

d. Sel *Merkel*

Sel *Merkel* adalah jenis sel yang paling sedikit dan berasal dari krista neuralis dan ditemukan pada lapisan basal kulit tebal, folikel rambut, dan membran mukosa mulut. Sel *merkel* ini adalah sel besar dengan cabang sitoplasma pendek.

2.2.2 Dermis

Dermis merupakan lapisan kedua kulit, yang terletak tepat di bawah membran basal dan terdiri dari sistem terpadu dari fibrosa, filamen, dan jaringan ikat. Dermis menampung stimulus dari jaringan vaskular dan saraf serta pelengkap dari fibroblas, makrofag, dan mastosit. Dalam tubuh manusia, dermis berfungsi sebagai pelindung. Meskipun hanya dua lapisan, struktur lapisan dermis lebih tebal (Sanjaya *et al.*, 2023). Dermis terdiri dari 2 lapisan yaitu *stratum papilaris* dan *stratum retikularis* (Kalangi, 2013).

a. *Stratum papilaris*

Stratum papilaris adalah lapisan yang tersusun lebih longgar dan memiliki papila dermis dengan jumlah 50-250/mm², dan memiliki jumlah yang lebih banyak dan lebih dalam di tempat tekanan paling tinggi, seperti telapak kaki. Sebagian besar papila memiliki pembuluh-pembuluh kapiler yang menumbuhkan epitel di atasnya.

b. *Stratum retikularis*

Stratum retikularis adalah lapisan yang lebih dalam dan tebal. *Stratum retikularis* memiliki jalinan yang padat ireguler terdiri dari berkas kolagen kasar dan sejumlah kecil serat elastin. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, terdapat rongga yang terdiri dari jaringan lemak, sebacea, kelenjar keringat, dan folikel rambut.

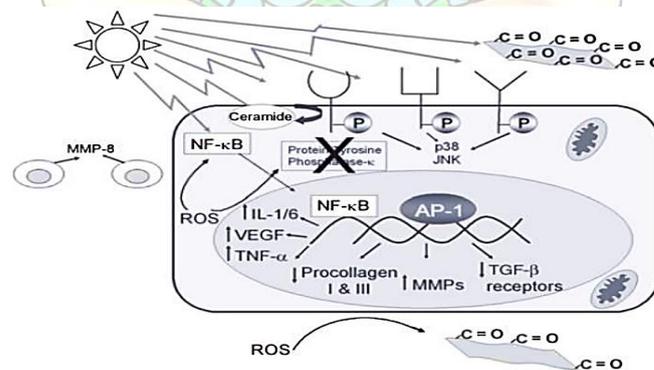
2.2.3 Hipodermis

Hipodermis adalah lapisan subkutan di bawah *retikularis* dermis, yang terdiri dari jaringan ikat yang lebih longgar dengan serat kolagen halus yang terutama sejajar dengan permukaan kulit, dengan beberapa di antaranya menyatu dengan dermis seperti pada daerah punggung tangan, lapis ini memungkinkan

gerakan kulit di atas struktur di bawahnya. Lapisan hipodermis mengikat kulit wajah ke otot dan jaringan di bawahnya (Kalangi, 2013).

2.2.4 Kolagen

Kolagen merupakan protein yang paling banyak diproduksi oleh mamalia dan memiliki peran penting dalam pembentukan interstitium di sekitar seluruh epidermis. Kolagen tipe I dan III dominan dalam kulit manusia, dan proporsinya tetap dalam jaringan kulit normal. Sebagai konstituen utama matriks ekstraseluler kulit, kolagen memainkan peran utama dalam elastisitas dan aspek kulit (Gref *et al.*, 2020). Kolagen memiliki berbagai peran penting dalam tubuh dan menawarkan berbagai manfaat kesehatan. Dalam konteks farmasi, kolagen memiliki potensi sebagai sediaan farmasi dengan berbagai aktivitas, termasuk sebagai antioksidan (melawan radikal bebas), antiinflamasi, antidiabetes antikanker, antimikroba dan antiaging (mengurangi tanda-tanda penuaan) (Rahman *et al.*, 2021). Kolagen merupakan komponen struktural utama pada serat-serat jaringan pengikat, berwarna putih dan terdapat di dalam semua jaringan dan organ hewan dan berperan penting dalam penyusunan bentuk tubuh (Tangkaa *et al.*, 2020).



Sumber: Putranti & Sistina (2021, Gambar 2.3)

Gambar 2.3 Mekanisme Jalur Kolagen Setelah Terpapar Sinar UV-B.

Berikut mekanisme secara jalur kolagen setelah terpapar sinar UV-B sederhana :

1. Produksi *ROS* : Radiasi UV meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (*ROS*) di kulit.

2. Aktivasi *NF-kB* : *ROS* mengaktifkan faktor transkripsi *NF-kB*, yang kemudian memicu produksi sitokin pro-inflamasi.
3. Penghambatan Enzim *PTP* : *ROS* menghambat enzim protein-tyrosine phosphatase (*PTP*), yang mengakibatkan aktivasi jalur sinyal *MAP kinase*, *p38*, dan *JNK*.
4. Aktivasi *AP-1* : Enzim-enzim ini, bersama dengan seramid yang dilepaskan dari membran sel, mengaktifkan kompleks transkripsi nukleus *AP-1*.
5. Dampak *AP-1* : *AP-1* meningkatkan produksi enzim *MMPs* (yang memecah kolagen) dan menurunkan ekspresi gen pro-kolagen I dan III serta reseptor *TGF-β*, mengakibatkan penurunan formasi matriks dermis.
6. Degradasi Matriks : Aktivasi *NF-kB* oleh *UV* memperparah degradasi matriks kulit.
7. Kerusakan Protein : *ROS* menyebabkan pembentukan grup karbonil ($C=O$) pada protein, yang mengakibatkan akumulasi protein rusak di dermis bagian atas.
8. Delesi DNA Mitokondria : Kerusakan ini juga menyebabkan delesi DNA mitokondria pada *fibroblast*, mengurangi fungsi mereka dalam memproduksi kolagen.

(Putranti & Sistina, 2021).

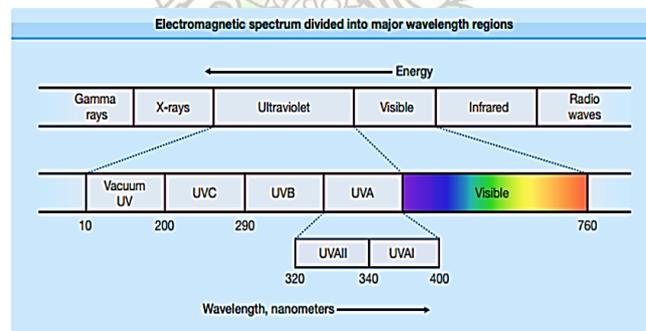
Kolagen dicirikan oleh struktur triple helix yang dibentuk oleh pengulangan glisin pada setiap residu ketiga, dan terutama oleh prolin dan hidroksiprolin pada residu lainnya. Kolagen, komponen matriks ekstraseluler yang paling banyak ditemukan, memberikan dukungan mekanis dan mengarahkan perkembangan jaringan. Penuaan menyebabkan penurunan enzim yang terlibat dalam pemrosesan *pasca-translasi* kolagen, mengurangi jumlah *fibroblast* yang mensintesis kolagen dan pembuluh darah yang memasok kulit. Penurunan kualitas kulit seiring bertambahnya usia ditandai dengan penurunan sintesis kolagen dan penurunan vaskularisasi kulit, yang menyebabkan penurunan elastisitas dan pembentukan kerutan. Perubahan ini disebabkan oleh penurunan aktivitas *fibroblast* dan penurunan jumlah pembuluh darah di kulit. Oleh karena itu, kulit mengalami perubahan regresif seiring bertambahnya usia seperti dehidrasi, hilangnya

elastisitas, dan berkurangnya ketebalan epidermis. Berbagai nutrisi dan suplemen digunakan untuk meningkatkan kesehatan kulit dan mempertahankan penampilan kulit yang awet muda (Pu *et al.*, 2023).

2.3 Sinar Matahari

2.3.1 Definisi Sinar Ultraviolet

Sinar UV (200-400 nm) merupakan bagian kecil dari berbagai spektrum gelombang elektromagnetik yang terdiri dari sinar UV-A (320-400 nm), UV-B (290-320 nm), dan UV-C (200-290 nm) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2.3. Paparan UV-A relatif konstan sepanjang hari, sementara UV-B hanya menyumbangkan 5% dari total radiasi yang mencapai permukaan bumi, yang merupakan sekitar 0,5% dari total radiasi tersebut. Sinar UV-C, dengan panjang gelombang 200-290 nm, sebagian besar tidak mencapai permukaan bumi karena disaring oleh lapisan *stratosfer ozon* (Putranti *et al.*, 2023).



Sumber: Putranti *et al* (2023, Gambar 2.4)

Gambar 2.4 Spektrum gelombang elektromagnetik yang dibagi dalam berbagai regio

2.3.2 Jenis - Jenis Sinar Ultraviolet

a. UV-A (*Ultraviolet A*)

UV-A adalah jenis radiasi ultraviolet dengan panjang gelombang yang lebih panjang, yang memungkinkannya melewati lapisan ozon dan mencapai permukaan bumi. Paparan berlebihan terhadap sinar UV-A dapat

menyebabkan penuaan dini, penurunan sistem kekebalan tubuh, kanker kulit, melasma, serta masalah mata hingga kebutaan. Ini disebabkan oleh kemampuannya menembus lebih dalam ke kulit, mencapai lapisan dermis, dan menyebabkan penuaan kulit serta pigmentasi berkepanjangan (Mumtazah *et al.*, 2020; Yusharyahya, 2021).

b. UV-B (*Ultraviolet B*)

UV-B adalah jenis sinar ultraviolet yang dapat menembus atmosfer dan mencapai lapisan epidermis kulit. Paparan UV-B dapat menyebabkan kulit merah, iritasi, gatal, dan sensasi terbakar. Bahkan, paparan UV-B juga dapat menyebabkan eritema, di mana kulit menjadi merah dan bengkak karena terbakar sinar matahari. Selain itu, paparan UV-B juga berpotensi menyebabkan mutasi pada sel kulit yang disebut keratinosit (Hapsah Isfardiyana & Ririn Safitri, 2014; Mumtazah *et al.*, 2020; Yusharyahya, 2021).

c. UV-C (*Ultraviolet C*)

Sinar UV-C dapat diserap oleh ozon, uap air, oksigen, dan karbon dioksida karena lapisan ozon memiliki kemampuan yang lebih baik untuk menyerap panjang gelombang UV yang pendek sehingga efek di kulit cukup kecil. Jika lapisan ozon terus menipis, sinar UV-C yang berbahaya bagi kehidupan dapat mencapai permukaan bumi (Mumtazah *et al.*, 2020).

2.3.3 *Photoaging* Akibat dari Radiasi Sinar *Ultraviolet*

Photoaging, atau penuaan kulit ekstrinsik, terjadi akibat kerusakan kulit prematur akibat paparan sinar matahari. Meskipun berbeda dari penuaan kulit kronologis (penuaan alami), ciri-ciri keduanya sering muncul bersamaan. Pada kulit putih/kaukasial, tanda-tanda *photoaging* meliputi kerutan kasar dan halus, bintik-bintik matahari, kulit pucat, pembuluh darah halus yang terlihat, dan kehilangan elastisitas. Di kulit berwarna, *photoaging* sering ditandai oleh kerutan yang dalam, tekstur kulit kasar, dan perubahan warna kulit. Pada orang dengan kulit berwarna, tanda-tanda *photoaging* sering muncul lebih lambat dan dapat tertunda selama beberapa dekade dibandingkan dengan orang kulit putih/kaukasial. Selain

perubahan pada tekstur dan warna kulit, *photoaging* juga memiliki dampak permanen pada fungsi penghalang, termoregulasi, imunitas, dan kemampuan regeneratif kulit (Huang & Chien, 2020).

Photoaging pada kulit disebabkan oleh paparan radiasi *ultraviolet* (UV), yang menghasilkan zat-zat reaktif berlebihan yang disebut *reactive oxygen species* (ROS). ROS ini menyebabkan kerusakan pada sel kulit melalui dua cara: langsung dan melalui aktivasi faktor nuklir *kappa-B*, yang memicu produksi sitokin seperti *interleukin 1* (IL1), *epidermal growth factor* (EGF), dan *tumor necrosis factor alpha* (TNF- α). Sitokin ini mengatur jalur sinyal dalam sel, termasuk jalur MAPK, yang menghasilkan aktivator protein-1 (AP-1). AP-1 menyebabkan produksi berlebihan enzim yang merusak struktur kulit, disebut *matriks metalloproteinases* (MMP). Selain itu, radiasi UV juga merusak DNA, yang mengakibatkan pemendekan struktur pelindung sel, disebut telomer. Semua mekanisme ini bersama-sama mengakibatkan *photoaging* pada kulit (Han *et al.*, 2022). *Antiaging* adalah senyawa yang dapat memperlambat dan mengurangi tanda penuaan penuaan (Rahman *et al.*, 2021).

2.4 Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralkan radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Rahman *et al.*, 2021).

Tubuh manusia melawan bahaya radikal bebas, baik eksogen maupun endogen dengan sistem antioksidan, terdiri dari antioksidan primer (*transferin, feritin, albumin*), antioksidan sekunder (*SOD, GPx, katalase*), dan

antioksidan tersier/*repair enzyme* (*metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase, lipase*) (Parwata, 2015).

Antioksidan yang dimanfaatkan manusia dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis berdasarkan sumbernya (Parwata, 2015; Ratri *et al.*, 2021) :

1. Endogen (Enzim Antioksidan) : Melibatkan enzim *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx), dan katalase (CAT) yang diproduksi di dalam tubuh manusia.
2. Sintesis : Antioksidan buatan yang sering digunakan dalam produk pangan seperti *Butil Hidroksi Anisol* (BHA), *Butil Hidroksi Toluena* (BHT), *propil galat*, dan *Tert-Butil Hidroksi Quinon* (TBHQ).
3. Alami : Diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji, dan serbuk sari. Termasuk vitamin A, vitamin C, vitamin E, dan senyawa fenolik (flavonoid).

2.5 Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan alam dari campurannya menggunakan pelarut untuk memperoleh komponen yang diinginkan. Proses ini dilakukan pemisahan senyawa bioaktif yang terkandung di dalam suatu bahan sehingga didapatkan zat yang terpisah dengan menggunakan pelarut. (Andriani *et al.*, 2019; Elisa, 2023).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi meliputi (Tambun *et al.*, 2016) :

- a. Ukuran Bahan : Penyaringan ukuran bertujuan memperbesar permukaan bahan, memfasilitasi penetrasi pelarut ke dalamnya, dan mempercepat proses ekstraksi.
- b. Suhu Ekstraksi : Proses ekstraksi berlangsung lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi karena meningkatkan kinetika reaksi dan mobilitas molekul.

- c. Pelarut : Pemilihan pelarut yang tepat sangat penting. Etanol adalah pelarut yang umum digunakan dalam isolasi senyawa organik dari bahan alam karena mampu melarutkan berbagai golongan metabolit sekunder.

Perolehan minyak atsiri umumnya dikembangkan melalui metode ekstraksi yaitu destilasi (Siswantito *et al.*, 2023). Namun, dalam memperoleh minyak atsiri dapat digunakan metode ekstraksi *soxhletasi* (Sofihidayati & Wardatun, 2021).

Tabel 2. 1 Kelebihan dan Kelemahan Metode Destilasi dan Metode *Soxhletasi*

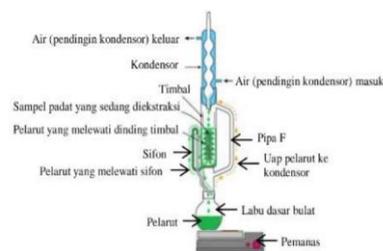
Metode Ekstraksi Minyak Atsiri		Kelemahan	Kelebihan
Destilasi	air	Destilasi air memiliki rendemen terendah dalam menghasilkan minyak atsiri berdasarkan data yang ada dalam <i>database</i> (Cahyati <i>et al.</i> , 2016).	Destilasi air ini ekonomis dan menghasilkan air yang stabil, tidak beracun, dan lebih aman dibandingkan dengan pelarut lainnya (Handrianto, 2018).
	air dan uap	Destilasi air-uap, jika massa bahan baku terlalu sedikit, prosesnya menjadi tidak efisien. Uap pelarut lebih banyak menguap langsung ke kondensor daripada berdifusi ke dalam bahan baku, yang diperlukan untuk mendorong minyak atsiri ke permukaan (Cahyati <i>et al.</i> , 2016).	Destilasi air uap ini memiliki keuntungan ekonomis karena menggunakan uap air yang basah, jenuh, dan tidak terlalu panas (Mierza <i>et al.</i> , 2023).
	uap	Rendemen terendah yang dihasilkan dengan	Hasil destilasi uap adalah campuran minyak dan air.

	langsung	menggunakan metode destilasi uap langsung dalam mendapatkan minyak atsiri (Cahyati et al., 2016).	Minyak kemudian dapat dipisahkan dari sisa-sisa air menggunakan corong pisah (Saputra et al., 2017).
<p style="text-align: center;"><i>Soxhletasi</i></p> 		<p>- Perlu adanya tambahan proses pemisahan pelarut dari ekstrak minyak esensial setelah proses ekstraksi (Armani & Susanti, 2022).</p>	<p>- Ekstraksi <i>soxhlet</i> dengan pelarut <i>n</i>-heksana terhadap bahan bunga hasil akhir berwarna kuning dengan <i>yield</i> tertinggi. Hasil ekstraksi ini mengandung lebih banyak minyak, memiliki aroma yang lebih harum dan tajam, serta menghasilkan <i>yield</i> minyak esensial yang lebih tinggi dibandingkan metode destilasi kukus. (Armani & Susanti, 2022).</p> <p>- Sampel dapat terekstraksi dengan sempurna karena penyaringan dilakukan secara kontinyu dan dalam keadaan panas. Metode <i>soxhletasi</i> menggunakan pelarut <i>n</i>-heksan lebih baik dalam menarik eugenol dibandingkan metode destilasi air. (Sofihidayati & Wardatun, 2021).</p>

		<p>- Efisiensi waktu proses dan penggunaan pelarut yang lebih hemat. Kecepatan ekstraksi dipengaruhi oleh sejumlah faktor seperti suhu operasi, ukuran partikel sampel, jenis pelarut yang digunakan, rasio antara jumlah zat terlarut dan pelarut, serta intensitas dan durasi pengadukan (Salsabila <i>et al.</i>, 2022).</p>
--	--	---

2.5.1 Soxhletasi

Soxhlet adalah metode analisis lemak di mana pelarut pengekstrak dipanaskan dalam labu *soxhlet* sampai menguap. Uap pelarut naik melalui pipa pendingin balik, kondensasi, dan menetes kembali ke bahan yang diekstraksi. Saat pelarut mencapai tingkat tertentu di labu, ekstrak mengalir kembali ke labu. Ekstrak dikumpulkan dan dipanaskan lagi untuk menguapkan pelarut, meninggalkan lemak di labu. Ini memungkinkan penggunaan ulang pelarut untuk setiap ekstraksi (Julianto, 2019; Pargiyanti, 2019).



Sumber: Firyanto *et al* (2020, Gambar 2.5)

Gambar 2.5 Rangkaian Alat *Soxhletasi*

Tabel 2. 2 Ekstraksi Minyak Atsiri Dengan Metode *Soxhletasi* Pada Penelitian Sebelumnya

Judul	Metode Ekstraksi	Pelarut	Jenis Sampel	Rendemen (%)
<i>Extraction and characterization of essential oil of garlic (Allium sativa L.)</i> (Dehariya <i>et al.</i> , 2021)	<i>Soxhlet</i>	<i>ethanol</i>	Bawang putih	16.55%
Ekstraksi <i>1,8-Cineole</i> Dari Minyak Daun <i>Eucalyptus urophylla</i> Dengan Metode Soxhletasi (Irvan <i>et al.</i> , 2015).	<i>Soxhlet</i>	etanol 96%,	Daun	10,06 %
		<i>n</i> -heksan,	<i>Eucalyptus</i>	2,36 %
		diklorometan	<i>urophylla</i>	3,97%
<i>Calotropis procera</i> (Aiton) seeds fixed oil: Physicochemical analysis, GC–MS profiling and evaluation of its <i>in-vivo</i> anti-inflammatory and <i>in-vitro</i> antiparasitic activities (Mettwally <i>et al.</i> , 2022).	<i>Soxhlet</i>	<i>petroleum ether</i>	Biji <i>Calotropis procera</i>	40.5%

2.6 Minyak Atsiri

Minyak esensial larut dalam alkohol, eter, dan minyak nabati, tapi tidak larut dalam air. Minyak yang mudah menguap ini biasanya cair dan tak berwarna pada suhu ruangan. Mereka memiliki aroma khas, umumnya berwujud cair pada suhu

ruangan, dan densitasnya lebih rendah dari satu. Senyawa mudah menguap ini termasuk dalam berbagai kelas kimia: alkohol, eter atau oksida, aldehida, keton, ester, amina, amida, fenol, heterosiklus, dan terutama terpena (Dhifi *et al.*, 2016). Minyak atsiri (*Essential oils*) memiliki berbagai kegunaan di industri kosmetik, farmasi, obat-obatan, dan makanan. Minyak atsiri aman digunakan dan cocok untuk meningkatkan penyerapan obat-obatan melalui kulit, memungkinkan obat-obatan topikal diserap ke lapisan kulit yang lebih dalam. (Azizah *et al.*, 2022). Minyak atsiri memiliki sifat antioksidan yang kuat, yang bermanfaat dalam melawan radikal bebas dalam tubuh manusia. Salah satu aplikasi penting dari sifat antioksidan minyak atsiri adalah dalam meningkatkan kualitas kolagen (Berechet *et al.*, 2020). Minyak atsiri dari bunga *Calotropis gigantea* Linn (Keluarga *Asclepiadaceae*) yang dikumpulkan dari dataran utara India terutama dari Gwalior (*Madhya Pradesh*) dan Ara (*Bihar*) diekstraksi dengan proses distilasi air konvensional menggunakan alat tipe clavenger dan dikarakterisasi menggunakan *GC* dan *GC / MS*. Minyak atsiri yang diekstraksi dianalisis dengan *GC* dan *GC / MS* dan 27 konstituen diidentifikasi yang terdiri dari minyak (\pm) *Linalool* yang terdiri dari 46.0% minyak diidentifikasi sebagai yang paling menonjol di antara semua konstituen yang diidentifikasi. *Alfa-terpineol* (10,0%) dan *Pentacosane* (3,5%) adalah konstituen utama yang dikarakterisasi berikutnya (Singh & Javed, 2013).

2.7 *GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)*

GC dan *MS* memberikan hasil yang berbeda tetapi saling melengkapi yaitu *GC* memisahkan komponen campuran, *MS* dapat menganalisis dan mengidentifikasi komponen-komponen senyawa kimia. Analisis *GC-MS* dilakukan dengan menggunakan sistem *GC Agilent 7890A*, *Agilent 5975C* seri *VL MSD*, tipe kolom kapiler, laju alir 1 mL/menit, helium sebagai gas pembawa, model aliran konstan, temperatur injektor 250 °C, volume injeksi 2 uL, dan teknik injeksi terpisah. Suhu oven diprogram dari 40°C selama 2 menit, dengan laju kenaikan suhu 10°C/menit, dengan suhu akhir 280°C selama 2 menit. Total berjalan waktu analisis *GC* adalah 30 menit (Irawan *et al.*, 2021). Spektrum massa senyawa yang

diperoleh setelah analisis *GC-MS* dari berbagai diidentifikasi dengan membandingkannya dengan data spektra massa komponen yang diketahui yang tersedia di perpustakaan *National Institute of Standards and Technology (NIST)*. (Dulara *et al.*, 2019). Senyawa yang teridentifikasi dikatakan serupa atau sesuai dengan *database* jika memiliki nilai kualitas (*qual*) ≥ 90 (Ayu *et al.*, 2023).

Pada interpretasikan data *GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry)* terdapat :

1. Waktu Retensi (*Rt*): waktu yang diperlukan bagi suatu senyawa untuk bergerak melalui kolom kromatografi gas dan muncul sebagai puncak pada kromatogram. Semakin tinggi nilai *Rt*, semakin lama senyawa tersebut berada dalam kolom.
2. Persentase Area (*Area%*): ini menggambarkan luas area di bawah puncak kromatogram yang mewakili jumlah senyawa tertentu. Semakin tinggi persentase area, semakin banyak senyawa tersebut dalam sampel.
3. Kualitas (*Qual*): ini menunjukkan sejauh mana puncak kromatogram cocok dengan standar atau referensi. Nilai kualitas yang tinggi menunjukkan kesesuaian yang baik.
4. Puncak (*peak*): puncak pada kromatogram menunjukkan keberadaan senyawa tertentu dan mengidentifikasi senyawa berdasarkan waktu retensi dan kualitasnya.

(Hashibuan, 2022; Nugraha & Nandiyanto, 2021).

UNMAS DENPASAR

2.8 Serum

2.8.1 Pengertian Serum

Serum adalah produk dengan konsentrasi zat aktif tinggi yang dapat menembus kulit secara dalam untuk mengirimkan zat aktif. Serum memiliki viskositas rendah dan membentuk film tipis pada kulit. Keuntungannya adalah serum mengandung lebih banyak zat aktif daripada produk kosmetik lainnya, sehingga lebih cepat dan efektif dalam mengatasi masalah kulit (Hidayah *et al.*, 2021). Serum adalah produk perawatan kulit yang diformulasikan dengan

konsentrasi berbasis air atau minyak. Produk ini dirancang untuk memiliki sifat penyerapan yang efektif dan mampu menembus lapisan kulit lebih dalam. Serum ini dirancang praktis untuk mengatasi berbagai masalah kulit dan dapat digunakan oleh semua usia (Astuti & Fitri, 2020).

2.8.2 Monografi Bahan

1. Natrosol (Hidroksietil selulosa) merupakan bubuk putih higroskopis yang berfungsi sebagai agen pelapis, agen pengikat tablet, agen pengental, dan agen peningkat viskositas. Hidroksietil selulosa adalah polimer non ionik yang larut dalam air yang banyak digunakan dalam formulasi farmasi. Ini terutama digunakan sebagai agen pengental dalam formulasi farmasi. Ini terutama digunakan sebagai agen pengental dalam formulasi optalmik dan topikal. Serbuk hidroksietil selulosa adalah bahan yang stabil meskipun bersifat higroskopis. Larutan hidroksietil selulosa stabil pada rentang pH 2-12 dengan viskositas yang sebagian besar tetap konstan. Namun, stabilitas larutan menurun dibawah pH 5 akibat hidrolisis. Pada pH tinggi, mungkin terjadi oksidasi (Rowe *et al.*, 2020).
2. Gliserin adalah cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, kental, dan higroskopis; memiliki rasa manis, sekitar 0,6 kali lebih manis dari sukrosa. Berfungsi sebagai pengawet antimikroba; *cosolvent*; emolien; pelembab; pemlastis; pelarut; zat pemanis; zat tonik. Gliserin bersifat higroskopis. Gliserin murni tidak mudah teroksidasi oleh atmosfer dalam kondisi penyimpanan biasa, tetapi terurai saat dipanaskan dengan evolusi akrolein beracun. Campuran gliserin dengan air, etanol (95%), dan propilen glikol adalah stabil secara kimiawi (Rowe *et al.*, 2020).
3. *DMDM hydantoin* merupakan bahan antimikroba yang memiliki spektrum luas, larut dalam air, dan stabil pada berbagai pH dan suhu. Penggunaannya dalam kosmetik memiliki batasan konsentrasi yang dianggap aman. Di Indonesia, kadar maksimum (*Dimethylol-dimethyl*) *DMDM hydantoin* dalam kosmetika adalah 0,6%, sedangkan di Amerika Serikat (US) adalah 0,2 %. Batas konsentrasi yang umumnya diterima dalam kosmetik berkisar

antara 0,1% hingga 1%. Hal ini menunjukkan pentingnya menjaga kadar *DMDM hydantoin* dalam rentang yang telah ditetapkan untuk memastikan keamanan penggunaannya dalam produk kosmetik (Sutjahjokartiko, 2017).

4. *Ethoxydiglycol* merupakan alkohol teretoksilasi yang banyak digunakan sebagai pelarut, pembawa pelarut, penambah wewangian, humektan, *co-solvent* dan zat penurun viskositas. Sinonim: 2 (2-Ethoxyethoxy) ethanol. Tidak berwarna, cairan bening, bau buah. Larut dalam air, etanol, propilen glikol, dan butilen glikol. Larut sebagian dalam tanaman minyak dan minyak mineral (Making Cosmetics, 2018).

2.9 Marmut (*Cavia porcellus*)

Klasifikasi marmut (*Cavia porcellus*) sebagai berikut (Chende et al., 2021).

<i>Kingdom</i>	: <i>Animalia</i>
<i>Filum</i>	: <i>Chordata</i>
<i>Class</i>	: <i>Mammalia</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Rodentia</i>
<i>Sub ordo</i>	: <i>Hystricomorpha</i>
<i>Family</i>	: <i>Caviidae</i>
<i>Sub family</i>	: <i>Caviinae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Cavia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Cavia porcellus</i>



Sumber: Hickman et al (2017, Gambar 2.6)

Gambar 2.6 Marmut (*Cavia porcellus*)

Marmut adalah hewan pengerat kecil dari pegunungan dan padang rumput di Amerika Selatan, berkerabat dengan landak dan *chinchilla*. Mereka adalah herbivora kecil yang aktif saat senja, dengan kaki pendek dan biasanya tidak memiliki ekor. Betina lebih kecil dari jantan, dengan berat 700-1200 gram. Marmut memainkan peran penting dalam penelitian sejak abad ke-17, termasuk studi anatomi dan penyakit menular oleh ilmuwan seperti *Louis Pasteur* dan *Robert Koch*. Mereka telah berkontribusi pada penelitian yang memenangkan Hadiah Nobel dalam berbagai bidang, termasuk tuberkulosis, metabolisme kolesterol, dan *Alzheimer* (Hickman *et al.*, 2017). Marmut (*Cavia porcellus*) memiliki kulit yang menyerupai manusia, membuatnya cocok untuk penelitian kulit, imunologi, fisiologi peredaran darah, farmakologi, dan endokrinologi. Mereka mudah ditangani karena sifat pemalu dan patuh, serta ukuran yang pas. Biaya pemeliharaan rendah menjadi keuntungan tambahan (Salvo *et al.*, 2023).

Namun, mereka sensitif dan sebaiknya tidak sering ditangani. Marmut harus dipegang dengan hati-hati, menopang bagian bawah tubuhnya. Marmut adalah herbivora yang makan pada fajar dan senja, dengan gigi geraham yang dirancang untuk menggiling bahan vegetatif dan menunjukkan cecotrophy seperti kelinci. Mereka memerlukan suplemen vitamin C karena tidak bisa mensintesis asam askorbat. Pakan harus tinggi serat, dengan konsumsi air sekitar 10% dan pakan 6% dari berat badan. Sayuran dan buah-buahan bisa ditambahkan jika sesuai dengan penelitian. Marmut adalah hewan sosial yang hidup dalam kelompok dan membutuhkan kandang besar dengan suhu 20-26°C. Urin mereka mengandung protein dan mineral tinggi yang bisa menempel pada kandang, sehingga perlu pembersihan khusus. Marmut cenderung takut pada hal baru, jadi objek baru harus diperkenalkan dengan hati-hati. Pemberian hijauan mendorong perilaku merumput alami, dan pola pencahayaan 12 jam siang-malam diikuti di laboratorium (Nagarajan *et al.*, 2021).

2.10 Metode Uji Histologi

Histologi adalah ilmu yang mempelajari struktur mikroskopis dari organisme, termasuk manusia dan hewan. Ini mencakup hubungan antara struktur

sel, jaringan, dan organ, serta fungsinya dalam tubuh. Histopatologi di sisi lain, adalah cabang dari histologi yang fokus pada studi kondisi dan fungsi jaringan dalam konteks penyakit. Ilmu ini penting dalam mendiagnosis penyakit melalui pemeriksaan mikroskopis jaringan yang diperoleh melalui biopsi atau operasi. Histopatologi memungkinkan analisis perubahan morfologi, struktur, serta indikasi kerusakan, infeksi, atau mutasi lainnya yang disebabkan oleh penyakit, zat toksik, atau proses mutagenesis lainnya (Tandi *et al.*, 2017).

Terdapat tahapan pengerjaan pembuatan preparat khusus dalam histologi (Manan *et al.*, 2015) :

1. Fiksasi Jaringan

Bouin's digunakan sebagai larutan fiksatif untuk pengawetan jaringan. Fiksatif ini cepat meresap dan merata, namun bisa menyebabkan sedikit pengerutan. Fiksasi dengan *Bouin's* berlangsung selama 24 jam. Jika direndam terlalu lama, jaringan bisa rapuh dan sulit dipotong dengan mikrotom.

2. Dehidrasi Jaringan

Dehidrasi adalah proses menghilangkan cairan dari jaringan yang telah difiksasi agar dapat diisi dengan parafin. Air tidak dapat bercampur dengan parafin, jadi jaringan direndam dalam bahan kimia dehidrator dengan konsentrasi alkohol yang meningkat secara bertahap.

3. Pengirisan Jaringan

Pengirisan jaringan menggunakan mikrotom penting dalam patologi dan penelitian biomedis. Sampel jaringan yang diproses dengan parafin dipotong tipis dengan mikrotom. Ketebalan irisan diatur sesuai kebutuhan diagnostik atau penelitian. Irisan tipis ini memungkinkan analisis mikroskopis yang mendetail, membantu dalam diagnosis penyakit.

4. Pewarnaan Jaringan

Pewarnaan memberi warna pada jaringan yang telah dipotong untuk memudahkan pengamatan mikroskopis. Pewarnaan rutin seperti hematoxilin-eosin (HE) digunakan untuk melihat nukleus dan

sitoplasma. Hematoksilin mewarnai inti sel menjadi biru, sedangkan eosin berfungsi sebagai *counterstain*.

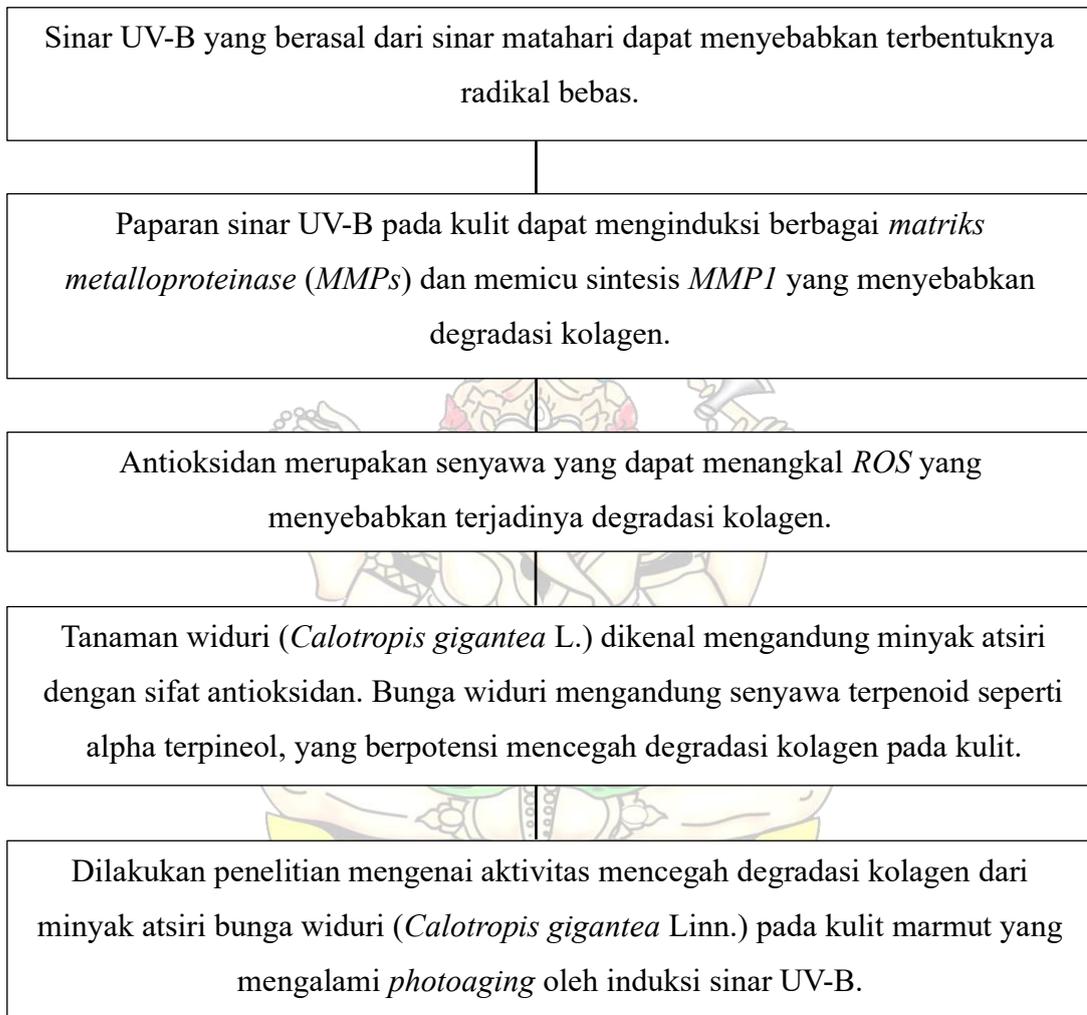
Pewarnaan *hematoksilin* dan *eosin (H&E)* adalah metode standar untuk pemeriksaan mikroskopis jaringan. Dalam pewarnaan *H&E*, asam nukleat berwarna biru tua dan protein berwarna merah muda atau oranye dan merah (Cardiff *et al.*, 2014). Pewarnaan *H&E* adalah pewarnaan histologis yang paling banyak digunakan. Hematoksilin menodai inti sel menjadi berwarna biru atau hitam, sedangkan eosin menodai sitoplasma dan matriks jaringan ikat ekstra-seluler berwarna merah muda, oranye dan merah (Syahidah, 2020).

Kolagen disintesis oleh berbagai jenis sel selain *fibroblast*, seperti *sementoblas*, *odontoblas*, *kondroblas*, *osteoblas*, sel otot, sel *epitel*, sel *endotel*, dan sel *Schwann*. Meski semua sel ini mengeluarkan kolagen dengan cara yang sama seperti *fibroblast*, jenis kolagen yang dihasilkan berbeda-beda. Pewarnaan *hematoksilin* dan *eosin* membantu mengidentifikasi serat kolagen pada jaringan kulit, khususnya dermis, dengan memberikan warna merah muda hingga merah pada kolagen (D'souza *et al.*, 2020).

Pemeriksaan jumlah kolagen menggunakan pewarnaan *Hematoksilin eosin* dari *preparate histopatologi* yang telah disiapkan, kemudian diamati menggunakan mikroskop *Olympus CX40* dengan perbesaran 400 kali dan hasil pengamatan di foto menggunakan kamera *Optilab Pro*. Setiap preparat difoto tiga kali di sisi kiri, tengah dan kanan. Kemudian foto disimpan ke dalam format file *JPEG*. Perhitungan jumlah kolagen menggunakan kombinasi aplikasi *ImageJ* dan *Adobe Photoshop CS3 versi 10.01*, dengan cara menghitung *area pixel* kolagen yang telah dipilih, area kolagen yang dipilih berwarna merah kemudian dihitung rata-ratanya (Dumaria *et al.*, 2018; Prabowo *et al.*, 2021). Kepadatan kolagen diinterpretasikan secara kuantitatif dengan beberapa kriteria. Untuk kepadatan kolagen berdasarkan perhitungan lima lapangan pandang, pada obyek pembesaran 400 kali dengan pewarnaan *Hematoksilin eosin (HE)* (Cahya *et al.*, 2020).

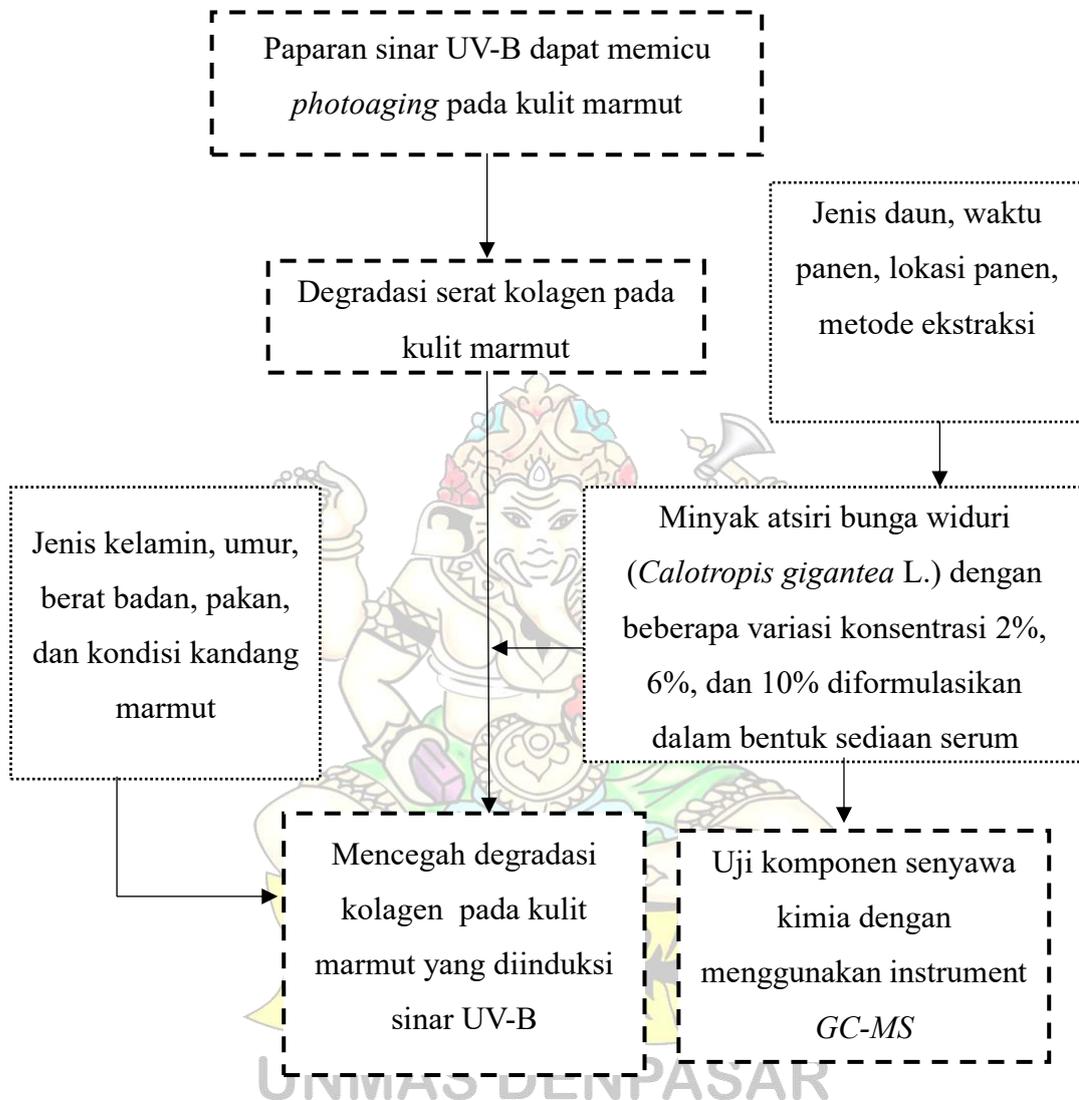
2.11 Kerangka Konseptual

2.11.1 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori

2.11.2 Kerangka Konsep

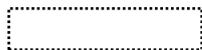


Gambar 2.8 Kerangka Konsep

Keterangan :



= Dianalisis pada saat penelitian



= Dikendalikan pada saat rancangan penelitian

2.12 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka berpikir dan kajian pustaka maka dibuatlah hipotesis penelitian, yaitu:

- a. Diduga minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) mengandung berbagai senyawa kimia.
- b. Diduga serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki aktivitas dalam mencegah degradasi kolagen pada kulit marmut yang mengalami *photoaging* oleh induksi sinar UV-B dibandingkan kontrol negatif.

