

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Indonesia sebagai negara tropis dengan paparan sinar matahari sepanjang tahun memiliki penduduk yang sangat rentan mengalami masalah kulit. Sinar matahari mengandung radiasi ultraviolet yang dapat berdampak buruk bagi kesehatan kulit dan dapat menyebabkan munculnya tanda-tanda penuaan pada kulit wajah. Penuaan kulit dipengaruhi oleh dua faktor yaitu faktor intrinsik dan faktor ekstrinsik. Faktor intrinsik seperti genetik dan perubahan hormon merupakan faktor dari dalam tubuh yang secara alami menyebabkan penuaan kulit seiring bertambahnya usia. Faktor ekstrinsik merupakan faktor dari luar yang dipicu oleh lingkungan dan gaya hidup seperti sinar ultraviolet, polusi, serta kebiasaan merokok. Sekitar 80% penuaan pada kulit wajah disebabkan oleh paparan sinar ultraviolet (Guan *et al.*, 2021). Penuaan atau kerusakan kulit yang disebabkan oleh paparan sinar ultraviolet dalam jangka waktu yang lama disebut dengan *photoaging*. Gejala *photoaging* pada kulit wajah paling banyak ditemukan pada kelompok usia 30-39 tahun dengan persentase sebanyak 59,1%. Gejala utama *photoaging* adalah pigmentasi kulit yang tidak teratur, terbentuknya kerutan dan kekeringan pada kulit (Mayangsari *et al.*, 2024).

Sinar *UV* dapat digolongkan menjadi 3 berdasarkan panjang gelombang yang dimiliki yaitu *UV-A* (320-400 nm), *UV-B* (280-320 nm), dan *UV-C* (100-280 nm). Radiasi ultraviolet yang dapat mencapai permukaan bumi adalah *UV-A* dan *UV-B*. *UV-C* tidak dapat mencapai permukaan bumi karena memiliki panjang gelombang yang pendek sehingga dihalangi oleh lapisan ozon (Tang *et al.*, 2024). Paparan sinar *UV-A* dapat menembus kulit hingga ke lapisan dermis, sedangkan *UV-B* sebagian besar menembus dan menyebabkan kerusakan pada lapisan epidermis tetapi juga dapat menembus hingga ke lapisan dermis dan menyebabkan kerusakan pada fibroblas. Radiasi *UV-B* dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan dermis kulit lebih cepat dibandingkan *UV-A* (Mayangsari *et al.*, 2024). *UV-B* juga dapat

menginduksi terbentuknya *ROS* dan *MMP* yang terlibat dalam *photoaging* (Guan *et al.*, 2021). Kadar *ROS* yang meningkat akibat paparan sinar *UV-B* dapat menyebabkan kerusakan DNA dan jalur sinyal sel sehingga dapat mempercepat kerusakan kulit (Wei *et al.*, 2024).

ROS yang terbentuk akibat dari paparan sinar *UV-B* akan mengaktivasi jalur transduksi sinyal *MAPK* di dalam sel. *MAPK* adalah keluarga kinase serin dan tirosin yang mencakup *ERK*, *JNK*, dan *P38* (Egrilmez *et al.*, 2022). *ERK* akan merangsang ekspresi *c-Fos* yang membentuk kompleks *AP-1* aktif bersama dengan *c-Jun* dalam fibroblas dermal kulit. *AP-1* berperan dalam mengikat promotor *MMP* dan meningkatkan transkripsi *MMP-1*, *MMP-3*, dan *MMP-9* (Feng *et al.*, 2024). Fibroblas mengeluarkan *MMP* sebagai respon terhadap berbagai stimulus seperti stres oksidatif, radiasi ultraviolet, dan sitokin. Saat ini diketahui terdapat 28 jenis *MMP* yang berperan penting dalam berbagai proses patofisiologis termasuk *photoaging*, penyembuhan luka, inflamasi, artritis dan kanker (Murlistyarini & Dani, 2022). Dari 28 jenis *MMP*, *MMP-1* merupakan mediator utama yang memicu terjadinya degradasi kolagen pada kulit yang mengalami *photoaging* (Kim *et al.*, 2022). *MMP-1* atau kolagenase interstisial merupakan protein yang memecah kolagen tipe 1 dan 3 di kulit (Salem *et al.*, 2022). Ekspresi *MMP-1* secara berlebihan dapat mengakibatkan pembentukan kerutan dan membuat kulit menjadi kendur (Wei *et al.*, 2024).

Retinol merupakan senyawa yang banyak digunakan dalam kosmetik sebagai *antiaging* karena dapat menghambat ekspresi *MMP* dan merangsang sintesis kolagen tipe 1. Retinol dapat memperlambat proses penuaan dengan memperbaiki tekstur kulit, mengurangi kerutan, dan garis-garis halus pada kulit (Zasada & Budzisz, 2019). Namun, retinol memiliki efek samping seperti kemerahan, pengelupasan, dan peradangan pada kulit. Retinol juga dikontraindikasikan pada ibu hamil karena dapat menyebabkan masalah pada janin (Birru *et al.*, 2023). Oleh karena itu perlu dikembangkan senyawa *antiaging* yang lebih aman untuk digunakan jangka panjang, misalnya senyawa alami. Senyawa alami telah banyak dikembangkan karena efek samping yang ditimbulkan minimal. Mekanisme bahan alam dalam melindungi kulit dari penuaan adalah melalui pengurangan reaktivitas

ROS, penghambatan proses oksidasi, penghambatan enzim *MMP*, dan peningkatan jumlah kolagen (Laksmiani *et al.*, 2022).

Widuri (*Calotropis gigantea* L.) merupakan tanaman yang dapat tumbuh dengan baik di daerah beriklim tropis dan memiliki berbagai kandungan metabolit sekunder di dalamnya. Widuri dikenal memiliki beberapa aktivitas farmakologi seperti antimikroba, analgesik, antioksidan, antipiretik, insektisida, dan sering digunakan sebagai penyembuh luka dalam pengobatan tradisional di India. Hampir semua bagian tanaman widuri dapat digunakan untuk pengobatan (Marphirah, 2018). Berdasarkan penelitian Singh dan Javed (2015), bunga widuri memiliki kandungan minyak atsiri yaitu α -terpineol, benzaldehyde, dan tetradecane (Singh & Javed, 2015). Bunga widuri juga mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, triterpenoid, dan steroid (Pudji *et al.*, 2023).

Minyak atsiri atau dikenal juga dengan nama *essential oil* merupakan salah satu senyawa alami yang disintesis oleh tanaman obat dan aromatik. Komponen minyak atsiri dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu terpenoid dan fenilpropanoid. Selain terpenoid, minyak atsiri juga mengandung senyawa teroksigenasi seperti alkohol, aldehida, keton, ester, dan fenol (Siddiqui *et al.*, 2024). Minyak atsiri diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Komponen minyak atsiri yang memiliki sifat antioksidan adalah timol, karvakrol, geraniol, linalool, sitronelal, α -terpinena, β -terpinena, dan α -terpinolene (Michalak, 2022). Selain itu, senyawa phytol juga terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Okpala *et al.*, 2022). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, diketahui bahwa ekstrak dan minyak atsiri dari bunga widuri memiliki aktivitas sebagai antioksidan.

Sediaan kosmetik seperti serum yang mengandung bahan alam saat ini sedang berkembang dan banyak digunakan oleh masyarakat khususnya kalangan wanita (Hidayah *et al.*, 2021). Serum adalah sediaan berupa cairan sedikit kental dengan tekstur yang ringan di kulit, berwarna transparan hingga semi transparan (Masita *et al.*, 2024). Serum memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan sediaan kosmetik lainnya yaitu lebih efektif dalam mengatasi masalah kulit karena mengandung bahan aktif yang lebih banyak dan memberikan efek yang nyaman

dan cepat diserap oleh kulit (Muadifah *et al.*, 2024). Berdasarkan penelitian Bagawadti (2024), serum minyak atsiri bunga widuri konsentrasi 2% dan 6% memiliki aktivitas dalam mencegah degradasi kolagen pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B*.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa serum minyak atsiri bunga widuri dapat mencegah degradasi kolagen yang merupakan faktor utama dalam penuaan kulit. Namun, mekanisme lebih lanjut terkait dengan penghambatan ekspresi *MMP-1* yang berperan dalam pemecahan kolagen masih perlu diteliti. Oleh karena itu penelitian ini penting dilakukan untuk melihat efek serum minyak atsiri bunga widuri terhadap *MMP-1* guna memahami lebih dalam potensi *antiphotaging* yang dimilikinya.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apa saja komponen senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.)?
2. Apakah serum minyak atsiri bunga widuri memiliki aktivitas dalam menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B*?
3. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antara serum dengan konsentrasi 2% dan 6% dalam menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B*?

1.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui komponen senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.)
2. Untuk mengetahui apakah serum minyak atsiri bunga widuri memiliki aktivitas dalam menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B*.

3. Untuk mengetahui perbedaan aktivitas antara serum dengan konsentrasi 2% dan 6% dalam menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B*.

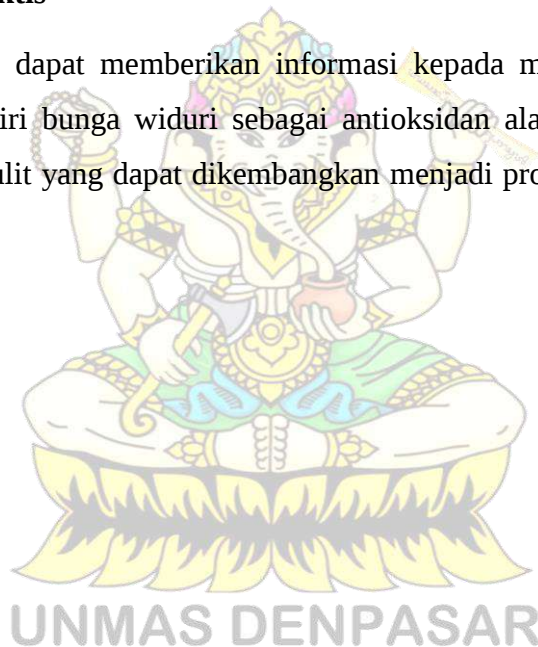
1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat menambah keilmuan dalam bidang kefarmasian dan kosmetik mengenai kandungan minyak atsiri bunga widuri dan aktivitasnya dalam menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit.

1.4.2 Manfaat praktis

Penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat mengenai potensi minyak atsiri bunga widuri sebagai antioksidan alami untuk mencegah *photoaging* pada kulit yang dapat dikembangkan menjadi produk kosmetik yaitu serum.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi tanaman widuri

Calotropis gigantea merupakan tanaman semak yang berasal dari Asia dengan tinggi sekitar 3-4 meter. Pada umumnya tanaman widuri dikenal dengan nama *swallow-wort* atau *milkweed*. Tanaman widuri memiliki sebutan yang berbeda-beda di setiap negara seperti *Akada* dan *Mandar* di India, *Bang* di Vietnam, *Aank* di Nepal dan dalam bahasa Sansekerta disebut *Sweta Arka* (Timilsina *et al.*, 2020). Tanaman widuri memiliki daun tunggal berbentuk lonjong sampai bulat telur dengan panjang 5-30 cm dan lebar 2,5-15,5 cm. Pangkal daun berbentuk hati dengan ujung meruncing, permukaan daun terdapat rambut-rambut halus (*tomentose*) berwarna putih ketika muda dan bertangkai pendek (*subsessile*). Bunga widuri merupakan bunga majemuk yang tangkai bunganya muncul pada ketiak daun (*bracteate*), termasuk bunga lengkap karena memiliki putik dan benang sari (berkelamin ganda), *hypogynous* yaitu memiliki kelopak bunga (*sepal*) berjumlah 5, benang sari (*stamen*) berjumlah 5 berada di bawah ovary, berwarna putih sedikit ungu dan memiliki tangkai bunga (*pedicle*) dengan panjang 1-3 cm. Akarnya bercabang dengan bagian pangkal berkayu dan terdapat rambut-rambut halus putih kental. Buah berbentuk bulat telur dengan diameter sekitar 10 cm dan didalamnya terdapat banyak biji berbentuk bulat telur pipih. Semua bagian tanaman Widuri mengeluarkan getah putih saat dipotong (Negi & Bisht, 2021).

Tanaman widuri memiliki klasifikasi (Bhandari *et al.*, 2019) sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Sub-kingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Superdivision</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Asteridae</i>
<i>Order</i>	: <i>Gentianales</i>

Family : *Asclepiadaceae*
Genus : *Calotropis*
Species : *Calotropis gigantea* L.



Sumber: Dokumentasi pribadi, (2024)

Gambar 2.1: Bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.)

2.2 Kandungan senyawa tanaman widuri

Berdasarkan penelitian Devanesan dan Alsalhi (2024), ekstrak metanol bunga widuri mengandung senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, steroid, kumarin, karbohidrat, protein dan saponin. Hasil analisis dengan GC-MS menunjukkan terdapat 6 senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak bunga widuri yaitu Asam butanoat, 2 [(fenil metoksi)imino]trimetilsilil ester, Asam butanoat, 3-[(fenil metoksi)imino] trimetilsilil ester, Asam asetat 2-[(fenil metoksi) imino]trimetilsilil ester, Hexadecanoic acid methyl ester, Asam pentadekanoat, 14-metil 1-metil ester, dan Asam benzenapropanoat, 3,5-bis(1,1-dimetil etil)-4-hidroksi metil ester. Dari keenam senyawa tersebut, hasil studi in silico menunjukkan bahwa senyawa asam butanoat, 3-[(fenil metoksi)imino] trimetilsilil ester memiliki aktivitas antikanker paru yang baik (Devanesan & Alsalhi, 2024). Daun widuri memiliki beberapa kandungan senyawa metabolit seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan karbohidrat. Berdasarkan penelitian Timilsina, Modi dan Basnyat (2020), ekstrak metanol dan heksana daun widuri memiliki kemampuan dalam

menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Timilsina *et al.*, 2020).

2.3 Minyak atsiri

Minyak atsiri atau *essential oil* atau *aetheric oil* adalah metabolit sekunder yang disintesis oleh tanaman obat dan aromatik yang terdiri dari campuran kompleks senyawa volatil. Fungsi utama minyak atsiri adalah memberikan aroma serta rasa yang khas pada tanaman (Zukowska & Durczynska, 2024). Sebagian besar minyak atsiri berwarna bening atau kuning pekat, berbentuk cair pada suhu ruang, dan tidak larut dalam air (Sousa *et al.*, 2024). Minyak atsiri bersifat non-polar sehingga untuk mengekstraksinya diperlukan pelarut yang bersifat non-polar juga seperti n-heksana dan kloroform (Iskandar *et al.*, 2019). Komponen utama minyak atsiri adalah terpenoid dan non-terpenoid (terutama fenilpropanoid). Monoterpenoid dan sesquiterpenoid merupakan golongan terpenoid yang paling umum ditemukan dalam minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut berasal dari unit isoprena (C_5H_8) dan sering kali memiliki struktur siklik atau asiklik. Selain terpenoid, minyak atsiri juga mengandung senyawa teroksigenasi seperti alkohol, aldehida, keton, ester, fenol, eter, oksida dan asam (Liang *et al.*, 2023; Siddiqui *et al.*, 2024). Komposisi kimia dan kualitas minyak atsiri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti spesies tanaman, bagian tanaman yang ekstraksi, kondisi tanah, iklim, waktu panen dan metode ekstraksi yang digunakan (Zukowska & Durczynska, 2024). Beberapa efek farmakologis yang dimiliki oleh minyak atsiri adalah antimikroba, antiinflamasi, antitumor dan antioksidan (Sousa *et al.*, 2024).

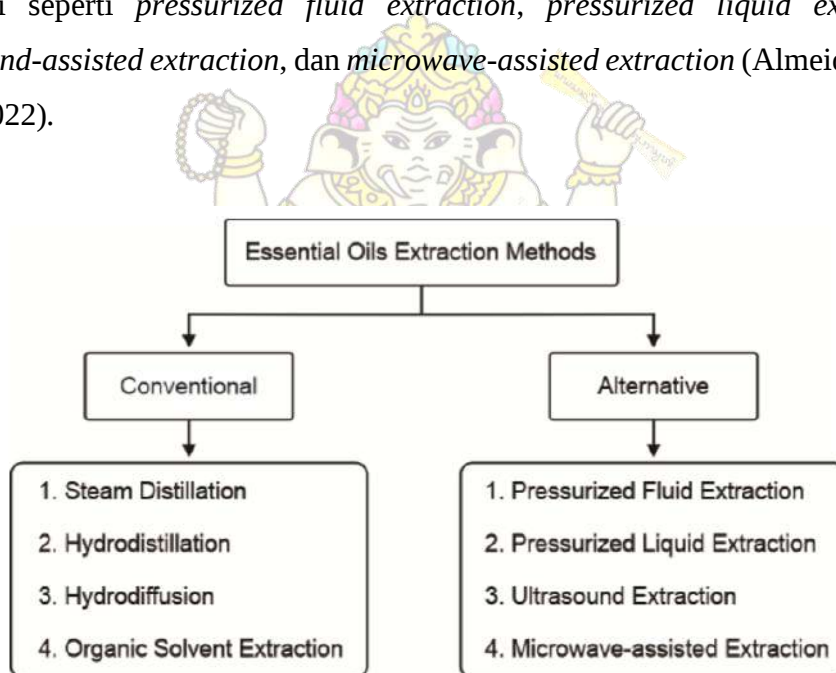
Berikut adalah contoh senyawa yang termasuk ke dalam kelas monoterpenoid, sesquiterpenoid dan phenylpropanoid.

- a. Monoterpenoid: thymol, carvacrol, citral, α -pinene, β -pinene, linalool, linalyl acetate, cineole, geraniol, thymoquinone, perillic acid, β -myrcene, nerol, α -thujene, limonene, borneol, camphor.
- b. Sesquiterpenoid: turmerone, curcumolide, farnesol, nerolidol, valerenic acid, ziniolide, α -bisabolol, matricine, dermacrone, α -humulene, β -caryophyllene, cadinene.

- c. Phenylpropanoid: Cinnamaldehyde, cinnamyl alcohol, chavicol, estragole, anethole, safrole, eugenol, methyl eugenol, β -asarone.

2.4 Metode ekstraksi minyak atsiri

Metode konvensional yang umum digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri adalah *hydrodistillation*, *steam distillation*, *hydrodiffusion*, dan *organic solven extraction*. Selain metode konvensional, beberapa metode ekstraksi alternatif dengan teknologi yang canggih juga dapat digunakan untuk mempersingkat waktu, mengurangi konsumsi daya, dan meningkatkan efisiensi ekstraksi seperti *pressurized fluid extraction*, *pressurized liquid extraction*, *ultrasound-assisted extraction*, dan *microwave-assisted extraction* (Almeida-Couto *et al.*, 2022).



Sumber: Almeida-couto *et al.* (2022, Gambar 1)

Gambar 2.2: Metode ekstraksi minyak atsiri

1. *Steam distillation*

Distilasi uap digunakan untuk mengekstrak senyawa volatil dari tanaman dengan menggunakan air sebagai agen untuk menguapkan. Prinsip SD dalam mengekstraksi minyak atsiri mirip dengan HD, tetapi bahan baku tidak kontak langsung dengan air dan masih terbawa oleh uap air (Zhou *et al.*, 2023). Prinsip

dari metode ini adalah memanaskan air hingga menghasilkan uap jenuh dengan tekanan lebih dari 1 atm dan kemudian dialirkan ke sampel tanaman tanpa merendamnya. Uap air yang membawa komponen minyak atsiri selanjutnya dikondensasi hingga menjadi cair kembali dan dipisahkan berdasarkan ketidakcampurannya (Almeida-Couto *et al.*, 2022).

2. *Hydrodistillation*

Metode HD digunakan untuk mengekstraksi komponen minyak atsiri dengan titik didih diatas 100°C (Zhou *et al.*, 2023). Pada distilasi hidro, sampel yang digunakan akan kontak langsung dengan air yang dipanaskan. Senyawa-senyawa volatil di dalam tanaman akan dikeluarkan dengan uap pelarut atau air dan membentuk campuran heterogen. Campuran antara uap air dan senyawa volatil akan mencair di dalam kondensor dan minyak dapat dipisahkan menurut perbedaan densitas. Keuntungan dari metode HD adalah mudah dilakukan dan biaya yang diperlukan sedikit. Sedangkan, kekurangannya adalah konsumsi energi yang lebih tinggi dan dapat menyebabkan terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak stabil pada suhu tinggi (Sethunga *et al.*, 2020).

3. *Hydrodiffusion*

Metode *hydrodiffusion* melibatkan penggunaan uap dan air untuk mengekstraksi minyak atsiri. Uap panas dialirkan ke bahan yang berada diatas air mendidih dan membawa minyak atsiri ke dalam kondensor untuk didinginkan hingga berubah menjadi cairan. Metode ini cocok untuk mengekstraksi minyak atsiri dari bahan tanaman yang halus karena menggunakan suhu dan tekanan yang lebih rendah dibandingkan metode lainnya. Metode hidrodifusi kini telah dikembangkan dengan penambahan teknologi gelombang mikro untuk pemanasan dan gravitasi pada tekanan atmosfer sehingga dalam proses ekstraksinya tidak memerlukan pelarut atau air (Almeida-Couto *et al.*, 2022).

4. *Organic solvent extraction (OSE)*

OSE merupakan metode yang umum digunakan untuk pemisahan dan pemurnian kimia. Metode ini dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri dari tanaman yang mudah larut dalam pelarut organik. Dengan

menggunakan pelarut organik pada suhu didih, minyak atsiri dari tanaman dapat diekstraksi menggunakan ekstraktor *soxhlet* selama 5 sampai 6 jam. Kekurangan dari metode ekstraksi ini adalah dapat mengakibatkan hilangnya minyak atsiri selama proses penguapan pelarut menggunakan *rotary evaporator* (Zhou *et al.*, 2023).

5. ***Pressurized fluid extraction***

Ekstraksi fluida bertekanan dalam kondisi superkritis atau subkritis dijadikan sebagai metode alternatif yang menjanjikan untuk ekstraksi senyawa dengan kemurnian yang tinggi. Fluida superkritis adalah zat apapun yang suhu dan tekanannya berada di atas titik kritisnya. Dalam ekstraksi superkritis, karbon dioksida (CO₂) digunakan sebagai agen untuk mengekstrak komponen yang diinginkan dari tanaman, dimana suhu berada di atas suhu kritis yaitu 31,1°C dan tekanan sebesar 73,8 bar (Zhou *et al.*, 2023). CO₂ memiliki beberapa keuntungan seperti toksisitas rendah, reaktivitas rendah, biaya rendah dan aman digunakan. Sementara itu kondisi subkritis terjadi ketika pelarut yang digunakan pada suhu antara titik didih dan kondisi kritisnya, pada tekanan yang cukup untuk mempertahankan pelarut dalam keadaan cair. Tekanan yang digunakan pada keadaan subkritis lebih rendah dibandingkan dengan kondisi superkritis. n-propana bertekanan subkritis sangat efisien untuk mengekstraksi asam lemak dan senyawa aktif seperti fitosterol dan tokoferol (Almeida-Couto *et al.*, 2022).

6. ***Pressurized liquid extraction***

Dalam ekstraksi ini, proses penyaringan tidak diperlukan karena senyawa yang terlarut ke dalam pelarut tetap berada di dalam ekstraktor. Sampel diletakan ke dalam ekstraktor dan diekstraksi menggunakan pelarut dengan suhu hingga 200°C dan tekanan berkisar antara 4-20 Mpa. Pelarut dipompa ke dalam ekstraktor yang berisi sampel dan tetap berada disana selama periode yang ditentukan tergantung jenis pelarut dan matriks yang digunakan. Teknik ekstraksi ini sangat efisien namun ekstrak yang dihasilkan mengandung campuran komponen yang luas (Almeida-Couto *et al.*, 2022).

7. *Ultrasound-assisted extraction*

Ultrasonik adalah gelombang mekanik dengan frekuensi berkisar antara 20 hingga 50 kHz yang dapat menghasilkan efek kavitasi, getaran, penghancuran, dan pengadukan yang komprehensif (Zhou *et al.*, 2023). Efek kavitasi menyebabkan dinding sel jaringan tanaman pecah sehingga dapat mempercepat penetrasi pelarut ke dalam matriks tanaman dan mempercepat perpindahan komponen yang dapat larut ke dalam pelarut. Keunggulan dari ekstraksi ultrasonik ini adalah prosedurnya mudah dilakukan dan pelarut yang digunakan lebih sedikit (Riayatsyah *et al.*, 2022). Metode ini menggunakan suhu rendah yang memfasilitasi pemulihan senyawa volatil dalam minyak atsiri (Almeida-Couto *et al.*, 2022).

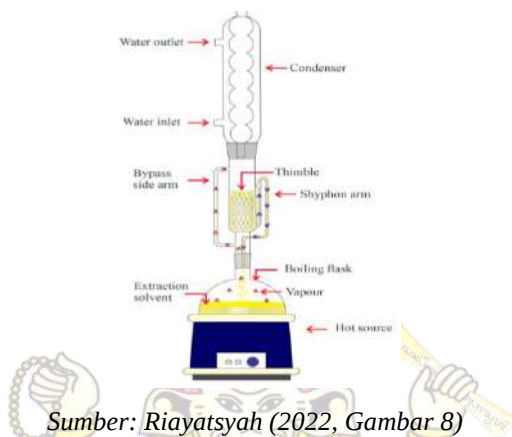
8. *Microwave-assisted extraction (MAE)*

MAE adalah metode ekstraksi yang memanfaatkan energi gelombang mikro untuk memanaskan pelarut dan sampel tanaman secara bersamaan (Siddiqui *et al.*, 2024). Gelombang mikro adalah gelombang elektromagnetik dengan panjang gelombang 0,01-1m dan frekuensi 0,3 hingga 300 GHz yang memiliki efek termal dan daya tembus yang kuat. Gelombang mikro memiliki medan magnet dan listrik yang saling tegak lurus sehingga dapat dengan mudah menembus bahan, meningkatkan suhu di dalam dan luar jaringan dengan cepat, mendorong pecahnya sel dan menyebarkan komponen di dalam sel ke dalam larutan ekstraksi. Keunggulan dari metode MAE adalah proses dan waktu ekstraksi lebih cepat sehingga menghindari terjadinya degradasi kimia dari komponen minyak dan menjaga kualitas minyak atsiri (Zhou *et al.*, 2023).

2.5 Ekstraksi *soxhlet*

Soxhlet adalah metode ekstraksi tradisional untuk memisahkan zat dari campurannya dengan pemanasan. Prinsip kerja dari *soxhlet* adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik yang terjadi secara kontinyu dengan jumlah yang tetap dan dengan adanya pendingin balik. Pelarut yang ada di labu *soxhlet* dipanaskan sesuai dengan titik didihnya. Setelah mencapai titik didihnya, pelarut akan menguap dan naik ke kondensor. Uap yang terkondensasi akan menetes ke

thimble dan membasahi sampel yang telah terbungkus kertas saring, kemudian pelarut tersebut akan mengalir kembali ke dalam labu melalui sifon. Proses tersebut akan terjadi secara berulang (Haykal *et al.*, 2024). Metode *soxhlet* biasanya digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik dan minyak dari tanaman (Zhang *et al.*, 2023).



Sumber: Riayatsyah (2022, Gambar 8)

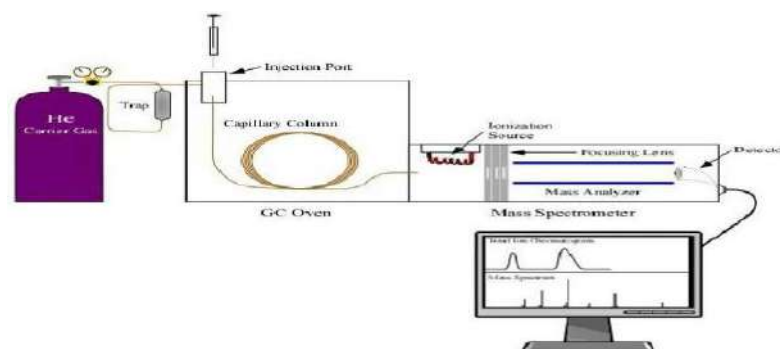
Gambar 2.3: Alat *soxhlet*

Soxhlet terdiri dari kondensor, *soxhlet*, labu alas bulat dan pemanas. Kondensor berfungsi sebagai pendingin untuk membantu proses kondensasi yaitu perubahan dari uap menjadi cairan (Riayatsyah *et al.*, 2022). *Soxhlet* terdiri dari timbal, sifon, pipa F. Timbal berfungsi sebagai tempat untuk meletakkan sampel yang telah terbungkus kertas saring. Pipa F berfungsi sebagai jalan bagi uap pelarut dari labu bulat ke kondensor. Sifon berfungsi sebagai tempat perhitungan siklus, dimana bila cairan pada sifon penuh dan mengalir ke labu alas bulat maka dihitung sebagai satu siklus. Labu alas bulat berfungsi sebagai wadah untuk menampung pelarut dan pemanas berfungsi untuk memanaskan pelarut (Firyanto *et al.*, 2020). Metode *soxhlet* memiliki keuntungan seperti pelarut yang digunakan lebih sedikit karena penggunaannya yang berulang, mudah dilakukan dan efektif dalam ekstraksi minyak karena dapat meningkatkan produksi minyak. Kelemahan dari metode ini adalah dapat menyebabkan degradasi senyawa akibat dari pemanasan secara terus menerus sehingga tidak cocok digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil (Olivira & Munarko, 2023).

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

GC-MS merupakan gabungan dari dua instrumen yaitu *Gas Chromatograph* dan *Mass Spectrometer* yang digunakan untuk memisahkan serta mengidentifikasi berbagai senyawa dalam sampel uji. GC adalah jenis kromatografi yang umum digunakan untuk memisahkan campuran kompleks senyawa yang mudah menguap. Campuran senyawa akan dipisahkan dengan baik oleh GC, kemudian diidentifikasi dan diukur massanya oleh MS (Pramod *et al.*, 2020). Prinsip dari pemisahan dalam GC adalah berdasarkan perbedaan dalam kemampuan distribusi analit diantara fase gerak dan fase diam pada kecepatan dan waktu yang berbeda. Senyawa yang berinteraksi lebih kuat dengan fase diam akan dipertahankan lebih lama (Hashibuan *et al.*, 2022).

Data yang diperoleh dari hasil analisis GC-MS ada dua yaitu kromatogram yang diperoleh dari analisis kromatografi gas dan spektrum massa dari analisis MS (Aprilia *et al.*, 2023). Dari kromatogram yang diperoleh, dapat dilakukan analisis kualitatif dengan membandingkan waktu retensi sampel dengan standar yang tersedia di perpustakaan dan analisis kuantitatif dengan menghitung luas area atau tinggi kromatogram dengan larutan baku yang dianalisis (Margareta & Wonorahardjo, 2023). Luas area dibawah puncak (Area%) pada kromatogram menunjukkan kekayaan suatu senyawa di dalam sampel. Semakin tinggi luas area, maka semakin tinggi pula konsentrasi senyawa tersebut di dalam sampel (Hala *et al.*, 2023). Spektrum massa diidentifikasi dengan membandingkan spektrum massa dari senyawa yang diperoleh dengan data yang tersedia di perpustakaan *National Institute of Standards and Technology (NIST)* (Dulara *et al.*, 2019). Perpustakaan komersial yang tersedia untuk komponen minyak atsiri dan bahan aroma adalah Willey, NIST, NBS, TNO, NIH, Adams, MassFinder, Tkachev (Hashibuan *et al.*, 2022). Instrumen dari GC-MS terdiri dari *carrier gass*, *injector*, *coloumn*, *detectors*, *oven*, dan *mass spectrometer*.



Sumber: Upadhyay (2023, Gambar 2)

Gambar 2.4: Alat GC-MS

1. Gas pembawa (*carrier gas*)

Gas pembawa digunakan sebagai fase gerak atau eluen yang berfungsi untuk membawa sampel ke dalam kolom. Fase gerak yang digunakan harus bersifat inert yaitu tidak berinteraksi dengan senyawa atau bahan pengemas kolom seperti helium, argon, dan hidrogen. Helium adalah fase gerak yang umum digunakan dalam analisis senyawa dengan GC-MS.

2. Injector

Injektor adalah tempat untuk menginjeksikan sampel. Pada bagian ini, sampel diuapkan dan dialirkan ke aliran gas pembawa. Untuk menyuntikan sampel ke jalur aliran, katup injeksi digerakan dan gas pembawa diaktifkan untuk mendorong sampel keluar dari loop dan masuk ke dalam kolom.

3. Kolom

Kolom atau bisa juga disebut dengan fase diam merupakan tempat terjadinya pemisahan senyawa yang berada di dalam oven. Terdapat 2 jenis kolom yang digunakan dalam GC yaitu kolom kemas (*packing columns*) dan kolom kapiler (*capillary columns*). Kolom kemas merupakan sebuah tabung yang terbuat dari gelas atau stainless berisi padatan inert yang dikemas secara rapi dengan panjang 1,5-10 m dan diameter 2,2-4 mm. Kolom kapiler terbuat dari silika dengan lapisan poliamida dengan panjang 20-26 m dan diameter yang sangat kecil.

4. Detektor

Detektor berfungsi untuk mendeteksi komponen-komponen senyawa yang telah dipisahkan dengan mengubah sifat-sifat molekul dari senyawa menjadi arus listrik yang kemudian akan diteruskan ke rekorder untuk diolah dan menghasilkan kromatogram. Detektor yang tersedia untuk kromatografi gas adalah detektor ionisasi nyala (*flame ionization detectors*), detektor fotometrik, detektor konduktivitas termal, detektor emisi atom dan detektor penangkapan elektron. Detektor yang umum digunakan adalah detektor ionisasi nyala dan detektor konduktivitas termal.

5. Oven

Suhu oven dalam kromatografi gas dapat diprogram pada suhu berkisar antara 5°C hingga 400°C, namun dapat mencapai -25°C dengan pendinginan kriogenik. Oven digunakan untuk mengisolasi komponen senyawa dari pengaruh perubahan suhu sekitar dan mempertahankan suhu yang stabil secara internal.

6. Spektrometer massa

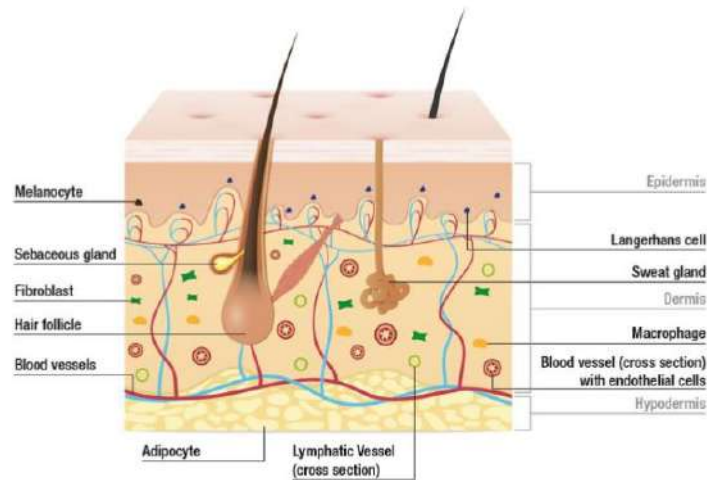
Spektrometer massa menggunakan medan listrik dan medan magnet untuk membedakan ion. Atom dan molekul dapat dibelokkan oleh magnet dengan diubah terlebih dahulu menjadi ion.

(Upadhyay *et al.*, 2023)

UNMAS DENPASAR

2.7 Kulit dan anatomi kulit

Kulit adalah organ terbesar dengan bobot sekitar 15% dari total bobot tubuh orang dewasa (Sanjaya *et al.*, 2023). Kulit terdiri dari berbagai macam jaringan yang saling bekerja sama untuk menjaga homeostatis tubuh, menjaga keseimbangan cairan, dan mengatur suhu tubuh. Kulit terdiri dari 3 lapisan yaitu epidermis, dermis dan hipodermis (Hofmann *et al.*, 2023).

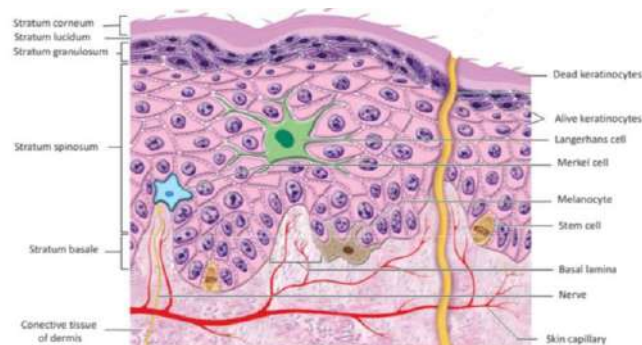


Sumber: Hofmann (2023, Gambar 1)

Gambar 2.5: Anatomi kulit

2.7.1 Epidermis

Epidermis merupakan lapisan epitel skuamosa berlapis yang terdiri dari beberapa lapisan keratinosit. Epidermis terletak pada bagian teratas kulit yang bertindak sebagai penghalang dan pelindung tubuh dari lingkungan luar seperti mikroba, alergen, polusi maupun sinar ultraviolet. Selain itu epidermis juga berperan dalam mengatur jumlah air yang dikeluarkan dari tubuh. Epidermis memiliki ketebalan antara 30-600 μm tergantung pada letaknya dan terdiri dari lima strata yaitu *stratum corneum*, *stratum lucidum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* dan *stratum basale* (Hofmann *et al.*, 2023).



Sumber: Souto (2022, Gambar 1)

Gambar 2.6: Struktur lapisan epidermis kulit

1. **Stratum korneum**

Stratum korneum merupakan lapisan teratas epidermis dengan ketebalan 10-20 μm yang tersusun atas sel pipih yang telah mati dan terisi oleh filamen keratin lunak. Stratum korneum memiliki peran yang sangat penting dalam melindungi tubuh dari paparan sinar ultraviolet.

2. **Stratum lucidum**

Stratum lucidum merupakan lapisan jernih yang menjadi pembeda antara kulit tebal dan kulit tipis. Lapisan ini terdiri dari sel pipih yang memiliki banyak filamen keratin di sitoplasma.

3. **Stratum granulosum**

Lapisan granular terdiri dari 3-5 baris sel poligonal pipih yang mengandung butiran keratohialin. Butiran keratohialin tersusun atas protein filagrin yang membentuk ikatan silang dengan filamen keratin.

4. **Stratum spinosum**

Stratum spinosum merupakan lapisan yang tersusun atas beberapa baris sel berbentuk polihedral yang berikatan dengan sel tetangga melalui desmosom. Lapisan ini menghasilkan tonofilamen yang tersusun atas keratin, kemudian membentuk tonofibril yang melekat pada spina.

5. **Stratum basal**

Stratum basal terdiri dari satu lapis sel berbentuk kuboid atau silindris yang terletak di bagian dasar epidermis. Sel-sel lapisan basal mencakup filamen perantara yang terdiri dari keratin. Lapisan ini berperan sebagai sel punca karena memiliki aktivitas mitotik yang menjadi sumber keratinosit untuk lapisan-lapisan yang berada di atasnya.

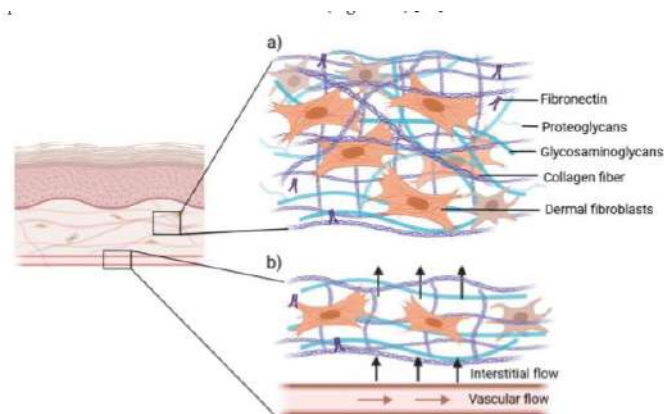
(Souto *et al.*, 2022)

Epidermis memiliki 4 jenis sel yaitu keratinosit, melanosit, sel langerhans dan sel marker. Sebagian besar sel yang menyusun lapisan epidermis adalah keratinosit. Keratinosit merupakan sel yang sitoskeletonnya tersusun atas keratin sebagai komponen utamanya. Keratin terbentuk melalui proses keratinisasi yang dimulai dari tahap sintesis hingga tahap dekomposisi ketika berpindah dari lapisan basal

menuju lapisan permukaan (Sanjaya *et al.*, 2023). Melanosit mewakili sekitar 8% lapisan epidermis dan terletak di stratum basal. Melanosit bertanggung jawab dalam memproduksi melanin yaitu pigmen yang menentukan warna kulit dan menyerap radiasi ultraviolet untuk mengurangi efek berbahaya pada kulit (Souto *et al.*, 2022). Sel langerhans merupakan sel imun penyaji antigen yang terletak pada stratum spinosum dan sel markel merupakan reseptor sensorik kulit yang terletak pada stratum basal (Hofmann *et al.*, 2023).

2.7.2 Dermis

Dermis adalah lapisan jaringan ikat yang terletak dibawah stratum basal epidermis, berfungsi sebagai penopang epidermis dan penghubung antara epidermis dengan jaringan hipodermis. Dermis terdiri dari dua lapisan yaitu lapisan papilar dan lapisan retikular. Lapisan papilar terletak di bawah epidermis, mengandung jaringan ikat longgar yang tidak beraturan, serat kolagen (terutama tipe III), fibroblas, makrofag, dan pembuluh darah. Lapisan retikular merupakan campuran jaringan ikat padat yang mengandung serat kolagen tipe I dan serat elastin kasar (Sanjaya *et al.*, 2023). Dermis sebagian besar terdiri dari komponen matriks ekstraseluler. Kolagen adalah protein berserat yang menjadi komponen utama dalam matriks ekstraseluler. Kolagen dapat membuat kulit menjadi kencang dan elastis. Kolagen tipe I menyumbang 80%-90% dari total kolagen kulit manusia, sedangkan kolagen tipe III menyumbang 8%-12%. Komponen lain dari *ECM* adalah elastin, fibronektin proteoglikan, dan glikosaminoglikan (GAG). Fibroblas adalah sel yang bertanggung jawab atas sintesis dan degradasi protein *ECM* (Shin *et al.*, 2019). Fibroblas secara aktif merombak struktur mikro *ECM* melalui sekresi enzim lisil oksidase dan matriks metaloproteinase (Plikus *et al.*, 2021). Selain komponen *ECM*, di dalam dermis juga terdapat struktur yang berasal dari epidermis seperti folikel rambut, kelenjar sebaceous, dan kelenjar keringat. Sel imun kulit seperti makrofag, dentritik dermal, sel mast, eosinofil, neutrofil, limfosit T dan limfosit B sebagian besar ditemukan di dermis. Sel imun tersebut berperan dalam mencegah infeksi dan memperbaiki jaringan yang rusak (Hofmann *et al.*, 2023).



Sumber: Zoio dan Olivias (2022, Gambar 3)

Gambar 2.7: Fibroblas dan komponen ECM

Fibroblas dermal dikelilingi oleh komponen-komponen ECM yang terdiri dari serat kolagen, glikosaminoglikan, proteoglikan, dan fibronektin. Komponen-komponen ECM disekresikan dan dibentuk kembali oleh fibroblas hingga menghasilkan anyaman yang teratur (Zoio & Oliva, 2022).

2.7.3 Hipodermis

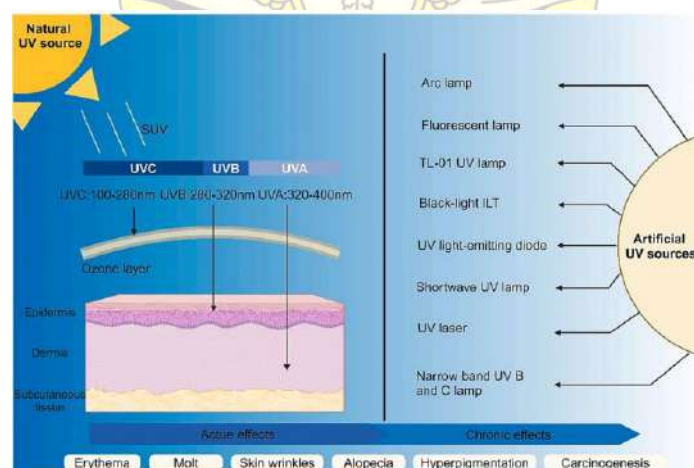
Hipodermis disebut juga dengan lapisan subkutan yang terdiri dari jaringan adiposa dan jaringan ikat longgar. Hipodermis melekat pada dermis melalui serat yang menghubungkan dermis dengan organ di bawahnya seperti otot dan tulang. Hipodermis mengandung saraf dan pembuluh darah yang lebih besar. Terdapat juga jaringan lemak yang berfungsi sebagai tempat penyimpanan energi (Souto *et al.*, 2022).

2.8 Sinar ultraviolet (UV)

Sinar ultraviolet merupakan spektrum elektromagnetik yang memiliki panjang gelombang antara 100-400 nm. Sinar UV berasal dari matahari dan UV buatan. UV buatan dapat bersumber dari lampu *fluorescent*, lampu busur, lampu UV TL-01, *black-light* ILT, dioda pemancar cahaya UV, laser UV, lampu UV-B pita sempit, dan lampu UV gelombang pendek. Sinar UV yang bersumber dari matahari dapat dibedakan menjadi 3 jenis berdasarkan panjang gelombangnya yaitu UV-A,

UV-B, dan *UV-C* (Tang *et al.*, 2024). Jumlah paparan sinar matahari yang mencapai permukaan bumi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti garis lintang geografis, ketinggian, ketebalan lapisan ozon, sudut matahari di langit dan tutupan awan. Paparan sinar *UV* dalam jumlah kecil dapat meningkatkan produksi vitamin D yang bermanfaat dalam perkembangan tulang dan membantu perbaikan jaringan (Raymond-Lezman & Riskin, 2023). Radiasi *UV* secara berlebihan dapat meningkatkan pembentukan *ROS* dan ekspresi *MMP* yang berperan dalam degradasi protein *ECM*. *MMP-1* adalah tipe yang paling terpengaruh oleh radiasi sinar *UV* dan bertanggung jawab terhadap degradasi kolagen (Anshori *et al.*, 2017). Efek kronis dari paparan *UV* adalah *photoaging*, *photoimmunosuppression*, dan *photocarcinogenesis* (Gromkowska-Kępa *et al.*, 2021).

Paparan sinar ultraviolet jangka panjang dapat menyebabkan terjadinya *photoaging*, *photoimmunosupresi* dan *photocarcinogenesis* (Gromkowska-Kępa *et al.*, 2021). Namun, paparan sinar ultraviolet dalam jumlah yang kecil dapat meningkatkan produksi vitamin D yang memberikan efek positif bagi kesehatan manusia seperti membantu perbaikan jaringan serta berperan dalam perkembangan tulang (Raymond-Lezman & Riskin, 2023).



Sumber: Tang *et al.* (2024, Gambar 1)

Gambar 2.8: Sumber sinar *UV*

2.8.1 UV-A

UV-A merupakan radiasi yang paling banyak mencapai permukaan bumi yaitu sekitar 90-95% (Egrilmez *et al.*, 2022). UV-A memiliki tingkat energi yang lebih kecil dibandingkan UV-B dan memiliki panjang gelombang terpanjang yaitu 320-400 nm sehingga dapat menembus hingga ke lapisan dermis kulit (Tang *et al.*, 2024). Perubahan histologis yang terlihat pada kulit yang terpapar UV-A adalah penebalan dermis, kerusakan serat kolagen, dan inflamasi yang menunjukkan potensi hilangnya integritas kulit pada lapisan dermis. Dampak buruk lain dari UV-A adalah dapat mengganggu fungsi sistem kekebalan tubuh (Sumali, 2023).

2.8.2 UV-B

UV-B memiliki panjang gelombang antara 280-320 nm dan dapat mencapai permukaan bumi sebanyak 5-10%. Meskipun memiliki panjang gelombang yang lebih pendek dan lebih sedikit mencapai permukaan bumi, UV-B memiliki tingkat energi yang lebih tinggi dibandingkan dengan UV-A (Egrilmez *et al.*, 2022). Paparan sinar UV-B dapat menembus lapisan epidermis bahkan sampai ke lapisan dermis kulit sehingga menyebabkan kerusakan pada keratinosit dan fibroblas. UV-B dapat menyebabkan kerusakan pada lapisan dermis lebih cepat dibandingkan UV-A (Mayangsari *et al.*, 2024). UV-B juga dapat menginduksi terbentuknya ROS dan MMP yang terlibat dalam *photoaging* (Guan *et al.*, 2021). Perubahan histologis yang terlihat pada kulit yang terpapar sinar UV-B adalah proliferasi keratinosit di epidermis. Radiasi UV-B dapat memicu terjadinya kanker kulit dan berinteraksi langsung dengan molekul DNA sehingga dapat mengubah struktur DNA (Sumali, 2023).

2.8.3 UV-C

UV-C memiliki panjang gelombang paling pendek yaitu antara 100-280 nm dan memiliki tingkat energi tertinggi dari ketiga jenis sinar UV. Paparan sinar UV-C tidak dapat mencapai permukaan bumi karena terhalang oleh lapisan ozon (Tang *et al.*, 2024).

Tabel 2.1 Peran *UV-A* dan *UV-B* terhadap *MMP* dalam *photoaging*

MMP	UV-A	UV-B
Kolagenase		
<i>MMP-1</i>	+	++
<i>MMP-8</i>	-	-
<i>MMP-13</i>	+	+
Gelatinase		
<i>MMP-2</i>	+	+
<i>MMP-9</i>	+	+
Stromelysin		
<i>MMP-3</i>	+	++
<i>MMP-10</i>	+	++
Matrilysin		
<i>MMP-7</i>	+	+
<i>MMP-26</i>	-	-
Tipe membran		
<i>MMP-14</i>	-	-
<i>MMP-15</i>	-	-
<i>MMP-16</i>	-	-
Tipe lain		
<i>MMP-12</i>	+	++

Sumber: Pittayapruek et al. 2016

Keterangan:

- ++ : regulasi sangat meningkat
 + : regulasi meningkat
 - : tidak dilaporkan

2.9 *Matrix metalloproteinase (MMP)*

MMP adalah keluarga endopeptidase yang mengandung ion *zinc* dengan berbagai spesifisitas substrat yang disekresikan oleh keratinosit dan fibroblas sebagai tanggapan terhadap berbagai rangsangan seperti stres oksidatif, radiasi ultraviolet, dan sitokin. *MMP* terlibat dalam degradasi protein *ECM* seperti kolagen, elastin, fibronectin dan proteoglikan (Pittayapruek et al., 2016). Terdapat 28 jenis *MMP* yang teridentifikasi dan memiliki peran penting dalam proses patofisiologis seperti *photoaging*, penyembuhan luka, pertumbuhan tulang, peradangan dan kanker. *MMP* dikategorikan menjadi 5 sub-kelompok utama berdasarkan spesifitas

substrat dan strukturnya yaitu kolagenase, gelatinase, stromelisin, matrilisin, dan *MMP* tipe membran (Murlistyarini & Dani, 2022).

Tabel 2.2 Klasifikasi dan peranan *MMP* dalam *photoaging*

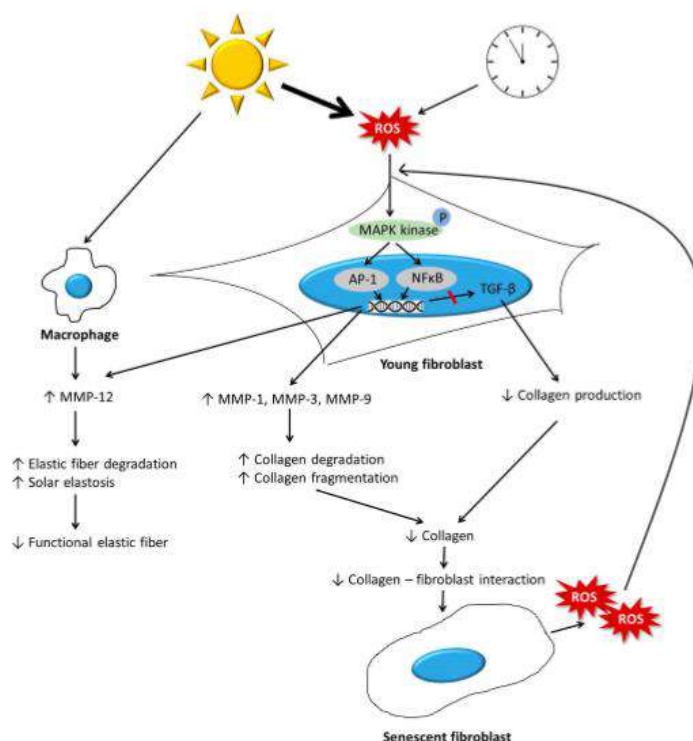
Subkelompok <i>MMP</i>	Nomor <i>MMP</i>	Peranan dalam <i>photoaging</i>
Kolagenase	<i>MMP</i> -1 <i>MMP</i> -8 <i>MMP</i> -13	Degradasi kolagen tipe I dan III Terbatas Terbatas
Gelatinase	<i>MMP</i> -2 <i>MMP</i> -9	Degradasi kolagen tipe IV Degradasi kolagen tipe IV
Stromelysin	<i>MMP</i> -3 <i>MMP</i> -10 <i>MMP</i> -11	Degradasi kolagen tipe I Antivasi pro <i>MMP</i> -
Matrilysin	<i>MMP</i> -7 <i>MMP</i> -26	Degradasi elastin -
Tipe membran	<i>MMP</i> -14 <i>MMP</i> -15 <i>MMP</i> -16 <i>MMP</i> -17 <i>MMP</i> -24 <i>MMP</i> -25	- - - - - -
Tipe lain	<i>MMP</i> -12 <i>MMP</i> -19 <i>MMP</i> -20 <i>MMP</i> -21 <i>MMP</i> -22 <i>MMP</i> -23 <i>MMP</i> -28	Degradasi elastin - - - - - -

Sumber: Pittayapruek et al. 2016

2.10 Proses *photoaging* akibat peningkatan kadar *MMP*-1

ROS yang terbentuk akibat dari paparan sinar *UV-B* bertindak sebagai pembawa pesan sekunder akan mengaktifkan *mitogen-activated protein kinase* (*MAPK*) dan *nuclear factor-kappa B* (*NF-κB*). *MAPK* akan membentuk *c-Fos* dan *c-Jun*. *c-Jun* dalam kombinasi dengan *c-Fos* membentuk faktor transkripsi *AP-1* (*Activator Protein-1*). Aktivasi faktor transkripsi *AP-1* dan *NF-κB* dapat meningkatkan ekspresi *MMP* (*MMP*-1, *MMP*-3, dan *MMP*-9) dan menghambat sinyal *transforming growth factor-β* (*TGF-β*) yang menyebabkan fragmentasi

kolagen dan penurunan biosintesis kolagen. Hal tersebut dapat menghambat interaksi mekanis antara fibroblas dan *ECM* sehingga menyebabkan ukuran fibroblas dermal mengecil. Fibroblas yang menua menghasilkan lebih banyak *ROS* yang selanjutnya akan meningkatkan ekspresi *MMP* dan menghambat sinyal *TGF- β* dan menciptakan lingkaran umpan balik yang mempercepat penuaan dermal (Shin *et al.*, 2019). Baik *AP-1* maupun *NF- κ B*, keduanya terlibat dalam proses *photoaging* (Gromkowska-Kępa *et al.*, 2021).



Sumber: Shin *et al.* (2019, Gambar 1)

Gambar 2.9: Skema terjadinya *photoaging*

2.11 Radikal bebas

Radikal bebas adalah molekul yang mempunyai sekelompok atom dengan elektron yang tidak berpasangan pada kulit terluarnya atau dapat dikatakan kehilangan elektron, sehingga bersifat sangat reaktif mencari pasangan dengan cara mengikat elektron yang berada disekitarnya seperti lipid, protein, DNA, dan

karbohidrat (Herb & Schramm, 2021). Elektron yang tidak berpasangan pada suatu radikal bebas ditandai dengan suatu titik pada atom atau gugus tempat elektron tersebut berada, misalnya $\bullet\text{H}$ (atom hidrogen), $\bullet\text{CH}_3$ (metil) dan $\bullet\text{CH}_2\text{CH}_3$. Pada radikal oksigen, elektron tidak berpasangan terletak pada atom oksigen, misalnya superoksida ($\text{O}_2\bullet^-$), hidroksil ($\bullet\text{OH}$), dan peroksil ($\text{ROO}\bullet$). Jumlah elektron yang ganjil pada suatu radikal bebas menjadikannya tidak stabil, berumur pendek, dan sangat reaktif (Martemucci *et al.*, 2022). Radikal yang keberadaannya paling banyak di dalam tubuh adalah radikal bebas turunan oksigen atau *reactive oxygen species* (ROS) dan reactive nitrogen species (RNS).

Faktor lingkungan seperti sinar ultraviolet matahari (UVA dan UVB), cahaya tampak, spektrum infrared dan polusi lingkungan dapat meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) di kulit. Sinar UV merupakan penggagas utama timbulnya ROS pada kulit. Pembentukan ROS dan RNS yang disebabkan oleh UV dapat bertindak sebagai pemberi sinyal untuk meningkatkan kerusakan oksidatif pada kulit. Kerusakan oksidatif yang ditimbulkannya dapat memperburuk pigmentasi dan penuaan kulit, menyebabkan perubahan homogenitas warna kulit, kerutan, kendur, kering dan kasar. Polusi lingkungan seperti debu, asap yang berasal dari pembakaran bahan bakar kendaraan mengandung hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) yang beberapa di antaranya sangat fotoreaktif dan dapat menyebabkan stres oksidatif yang kuat di bawah paparan sinar UV (Chen *et al.*, 2021).

UNMAS DENPASAR

2.12 Antioksidan

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. Antioksidan adalah kelompok senyawa kimia heterogen yang dapat diklasifikasikan menurut strukturnya, kelarutannya dalam air atau lemak dan kinetika reaksi yang melibatkannya. Antioksidan yang larut dalam lemak meliputi

α -tokoferol, β -karoten, asam lipoat, dan ubiquinon (koenzim Q10), sedangkan antioksidan yang larut dalam air meliputi glutathione (GSH) dan asam askorbat (Michalak, 2022).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu :

1. Antioksidan endogen merupakan antioksidan yang secara alami diproduksi di dalam tubuh manusia. Contohnya adalah *Superoxide dismutase (SOD)*, *Glutathione peroxidase (GPx)* dan *Catalase (CAT)*.
2. Antioksidan sintetis merupakan antioksidan buatan yang banyak digunakan pada produk pangan maupun kosmetik seperti *Butylated Hydroxyanisol (BHA)*, *Butylated Hydroxytoluene (BHT)*, *Tertiary-butyl hydroquinone (TBHQ)*.
3. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari. Contoh dari antioksidan alami adalah vitamin A, vitamin C, vitamin E, senyawa fenolik dan minyak atsiri.

(Anggarani *et al.*, 2023)

2.13 Serum

Serum merupakan sediaan berupa cairan sedikit kental, memiliki tekstur yang ringan dikulit, berwarna transparan hingga semi transparan, dan memiliki viskositas yang rendah (Masita *et al.*, 2024). Serum memiliki beberapa keuntungan seperti lebih efektif dalam mengatasi masalah kulit karena mengandung bahan aktif yang lebih banyak, cepat menyerap ke kulit dan memberikan efek yang nyaman (Muadifah *et al.*, 2024). Penyerapan serum sebagian besar terjadi di lapisan epidermis yaitu pada *stratum korneum* yang merupakan lapisan terluar kulit dengan pH sekitar 4,5-6,5 (Hikmah *et al.*, 2023). Serum dapat diaplikasikan pada wajah, kelopak mata, leher, dan bahu. Efek yang dapat diberikan oleh serum adalah *lifting up*, menyegarkan, melembutkan, menutrisi, antiinflamasi, *antiaging*, dan *antistress* pada kulit (Hermawan & Susanti, 2022). Serum terdiri dari *gelling agent*, humektan, bahan aktif, pengawet, penetran, emolien, dan pelarut. Selain itu, serum

juga dapat mengandung pewangi dan zat antioksidan (Sawiji, 2024). Berikut adalah bahan yang dapat digunakan dalam formulasi sediaan serum.

1. *Hydroxyethyl cellulose/HEC/Natrosol*

Hidroksietil selulosa adalah polimer non-ionik yang larut dalam air, umumnya berbentuk bubuk berwarna putih, putih kekuningan atau putih keabuan, tidak berbau, bersifat higroskopis, tidak mengiritasi, dan tidak toksik. Dalam larutan 1% b/v, *HEC* memiliki rentang pH 5,5-8,5. *HEC* melebur pada suhu 135-140°C, dan terurai pada suhu 280°C. Larutan hidroksietil selulosa stabil pada rentang pH 2-12 dengan viskositas yang konstan. *HEC* biasa digunakan dalam formulasi sediaan farmasi topikal dan oftalmik sebagai agen pengental dan peningkat viskositas. Bubuk *HEC* disimpan dalam wadah tertutup baik, diletakan di tempat sejuk dan kering (Harunisa *et al.*, 2022).

2. *Gliserin/Gliserol*

Gliserin adalah cairan bening, tidak berbau, kental, memiliki rasa manis dan bersifat higroskopis. Gliserin dapat mengkristal pada suhu rendah sehingga sebaiknya disimpan dalam wadah kedap udara di tempat yang sejuk dan kering. Gliserin biasa digunakan dalam berbagai macam formulasi sediaan farmasi seperti pada sediaan oral, telinga, mata, topikal dan parenteral. Dalam sediaan topikal dan kosmetik, gliserin digunakan sebagai humektan dan emolient. Penambahan humektan pada sediaan serum dapat menjaga kestabilan sediaan dengan cara menyerap lembab dari lingkungan, meminimalisir penguapan air dari sediaan dan juga dapat melembabkan kulit agar tidak kering (Harunisa *et al.*, 2022).

3. *DMDM hydantoin*

DMDM hydantoin adalah cairan tidak berwarna yang larut dalam air. Pada sediaan serum, *DMDM hydantoin* berfungsi sebagai agen antimikroba dengan kadar yang aman pada rentang 0,1-1% (Sutjahjokartiko, 2017). Antimikroba diperlukan dalam sediaan serum untuk mencegah pertumbuhan mikroba karena terdapat kandungan air. *DMDM hydantoin* memiliki spektrum antimikroba yang luas dan efektivitas yang tinggi

sehingga baik digunakan untuk sediaan serum yang kandungan airnya tinggi (Harunisa *et al.*, 2022).

4. *Ethoxydiglycol*

Ethoxydiglycol dalam formulasi serum berfungsi sebagai penetran atau *co-solvent* untuk mempermudah kelarutan (Ekawati & Hariningsih, 2023). *Ethoxydiglycol* merupakan cairan bening, tidak berwarna, larut dalam air, etanol, dan propilenglikol. Konsentrasi yang aman digunakan dalam formulasi sediaan kosmetik adalah berkisar antara 1-10% dan hanya boleh digunakan untuk pemakaian luar.

2.14 Marmut

Marmut (*Cavia porcellus*) adalah hewan pengerat yang berasal dari daerah pegunungan Andes di Amerika Selatan. Marmut merupakan hewan herbivora krepuskular dengan berat berkisar antara 700 hingga 1.200 gram. Mereka telah digunakan dalam penelitian sejak tahun 1600-an dan pertama kali digunakan dalam studi anatomi. Marmut memiliki banyak kesamaan dengan manusia dari segi hormonal, imunologi dan fisiologi (Hickman *et al.*, 2017). Secara taksonomi, marmut dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Chende *et al.*, 2021):

<i>Kingdom</i>	: <i>Animalia</i>
<i>Filum</i>	: <i>Cordata</i>
<i>Class</i>	: <i>Mammalia</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Rodentia</i>
<i>Subordo</i>	: <i>Hystricomorpha</i>
<i>Family</i>	: <i>Caviidae</i>
<i>Subfamily</i>	: <i>Caviinae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Cavia</i>
<i>Species</i>	: <i>porcellus</i>



Sumber: Hickman et al. (2017, Gambar 7.20)

Gambar 2.10: Marmut

Secara fisiologis, marmut memiliki banyak kemiripan dengan manusia seperti tubuh yang tidak mampu mensintesis vitamin C dan juga memiliki melanin yang identik yaitu eumelanin dan pheomelanin. Marmut memiliki karakteristik kulit yang mirip dengan kulit manusia dalam hal ketebalan, pigmentasi dan respon terhadap radiasi *UV-B*. Sama halnya dengan manusia, kulit marmut juga terdiri dari lapisan epidermis dan dermis (Fitria & Gunawan, 2024).

2.15 Metode Imunohistokimia

Imunohistokimia (IHK) adalah teknik laboratorium yang menggunakan antibodi sebagai probe untuk menentukan keberadaan dan lokasi spesifik protein dalam sampel sel atau jaringan (Guerin, 2023). Prinsip dari teknik ini adalah dengan memanfaatkan interaksi spesifik antara antigen dan antibodi, dimana antibodi yang ditandai dengan zat pewarna atau enzim akan berikatan dengan antigen target dalam sampel jaringan sehingga antigen dapat diidentifikasi dibawah mikroskop. Teknik IHK yang umum digunakan adalah dengan metode langsung maupun tidak langsung.

1. Metode langsung

Metode ini melibatkan antibodi primer yang telah terkonjugasi dengan label *fluorescent* atau enzimatik. Antibodi primer akan langsung mengikat antigen

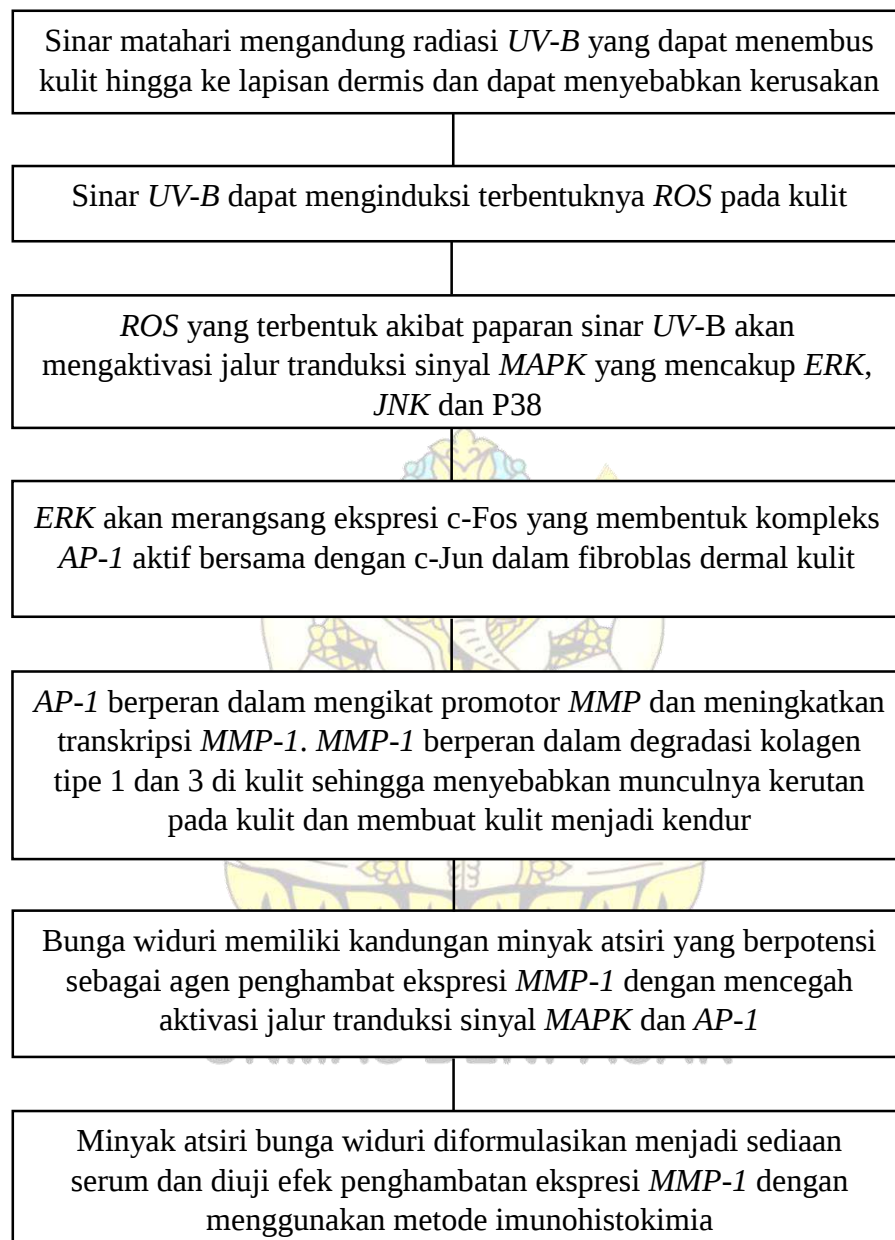
target dalam jaringan, kemudian keberadaan antigen dapat dideteksi melalui sinyal yang dihasilkan oleh label yang terikat pada antibodi. Dalam metode ini, antibodi sekunder tidak digunakan sehingga prosesnya lebih cepat karena langkah yang diperlukan lebih sedikit. Metode langsung cocok digunakan untuk diagnosis klinis atau penelitian yang memerlukan analisis cepat. Keunggulan dari metode ini adalah prosesnya cepat, langkah yang digunakan lebih sedikit, reagen dan langkah pencucian lebih sedikit sehingga mengurangi risiko kontaminasi. Kekurangan dari metode ini adalah sensitivitas yang lebih rendah karena hanya ada satu lapisan antibodi yang mengikat antigen sehingga sinyal yang dihasilkan cenderung lebih lemah.

2. Metode tidak langsung

Metode ini melibatkan dua tahap yaitu penggunaan antibodi primer yang tidak dilabeli untuk mengikat antigen target dan penggunaan antibodi sekunder yang dilabeli untuk mengikat antibodi primer. Proses ini menghasilkan amplifikasi sinyal karena satu antibodi primer dapat mengikat beberapa antibodi sekunder sehingga meningkatkan visibilitas antigen yang terdeteksi. Keunggulan dari metode tidak langsung adalah memiliki sensitivitas yang lebih tinggi karena beberapa antibodi sekunder dapat berikatan dengan satu antibodi primer sehingga sinyal yang dihasilkan diperkuat dan memungkinkan deteksi antigen yang diekspresikan pada tingkat yang sangat rendah. Kekurangan dari metode ini adalah memerlukan lebih banyak waktu inkubasi dan pencucian sehingga durasi keseluruhan prosedur lebih lama.

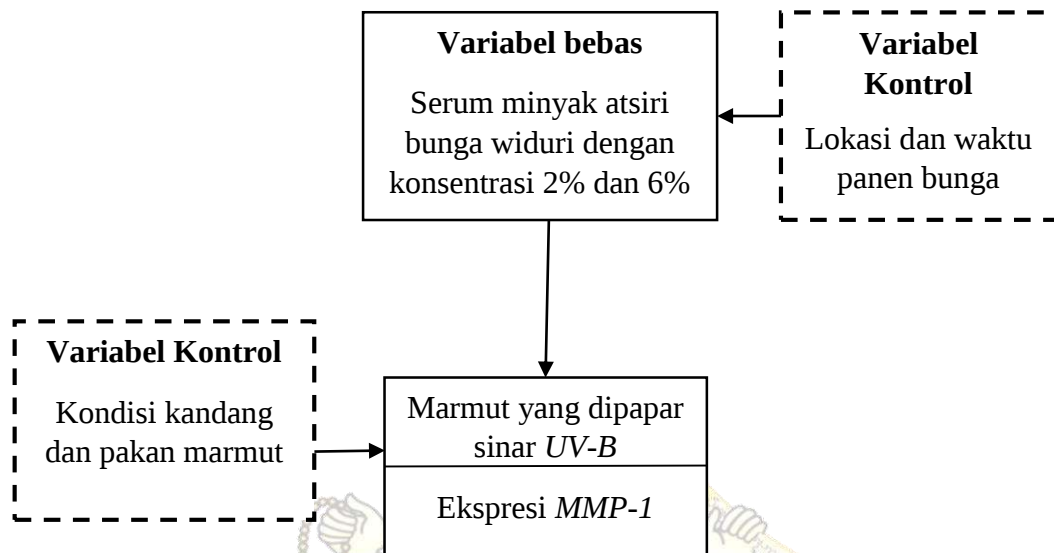
(Nurcahyanti, 2024)

2.16 Kerangka teori



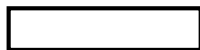
Gambar 2.11: Kerangka teori

2.17 Kerangka konsep



Gambar 2.12: Kerangka konsep

Keterangan:



= Dianalisis pada saat penelitian



= Dikendalikan pada saat penelitian

2.18 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 menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut yang dipapar sinar *UV-B* dan terdapat perbedaan aktivitas antara serum dengan konsentrasi 2% dan 6%.

