BAB I
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan organ luar tubuh yang banyak terpapar radikal bebas, terutama akibat paparan sinar matahari. Paparan radiasi ultraviolet (UV) dalam waktu lama dengan frekuensi yang sering dapat menyebabkan masalah kulit seperti hiperpigmentasi. Sinar UV dapat meningkatkan sintesis melanin sehingga menyebabkan kelainan pigmentasi kulit atau hiperpigmentasi (Mustika *et al*., 2020). Hiperpigmentasi dapat menyebabkan penuaan dini yang disebabkan oleh peningkatan jumlah melanin di epidermis (Puspitasari *et al*., 2017). Indonesia merupakan negara tropis dengan paparan cahaya radiasi ultraviolet (UV) yang cukup tinggi membuat masalah penuaan kulit cukup berkembang cepat setiap tahunnya. Pada penelitian Kade *et al*., (2023) menunjukkan Prevalensi kasus penuaan kulit di Indonesia terjadi sebanyak 57% penduduk usia 25 tahun yang menyadari tanda penuaan. Paparan sinar UV matahari secara kronis akan mengakibatkan perubahan struktur kulit, komposisi, dan stres oksidatif pada kulit. Dampaknya antara lain eritema, pigmentasi dan fotosensitifitas, serta efek jangka panjang berupa penuaan dini *(R. Rahmawati et al*., 2018). Penuaan kulit dapat disebabkan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan kulit intrinsik adalah proses penuaan kulit alami yang terjadi seiring bertambahnya usia. Sedangkan penuaan kulit ekstrinsik disebabkan oleh faktor eksternal seperti polusi dan paparan sinar matahari, terutama sinar ultraviolet (UV). Penuaan kulit ekstrinsik yang dipengaruhi oleh sinar ultraviolet (UV) juga dikenal sebagai *photoaging* (Lestyaning Ratri *et al*., 2021).

Photoaging adalah penuaan dini pada kulit yang disebabkan oleh paparan sinar matahari dalam jangka waktu yang lama. *Photoaging* ditandai dengan adanya kerutan, kulit yang kendur, dan permukaan kulit yang kasar. Paparan sinar UV mengakibatkan kulit terbakar dan menjadi kemerahan, merusak sel-sel kulit yang selanjutnya mengakibatkan kerusakan mekanisme regenerasi dari sel-sel kulit.

UNMAS DENPASAR

Sinar UV-A juga bisa menimbulkan efek terbakar pada kulit namun lebih lemah jika dibandingkan dengan efek paparan sinar UV-B.

Pada penelitian Wedayani *et al*., (2022) sinar matahari yang memiliki efek sebagai karsinogesnesis tersebut adalah sinar ultraviolet B (UV-B). dimana radiasi ini mempunyai pengaruh paling kuat dalam menyebabkan photoaging pada kulit (Adzhani *et al*., 2022). Pada penelitian Choi *et al*., (2010) sinar UV-B secara signifikan dapat meningkatkan produksi melanin yang terdapat pada kulit dan paparan sinar UV-B hanya dapat mengenai kulit pada bagian epidermis sehingga paparan sinar UV-B dapat meningkatkan produksi melanin pada lapisan epidermis. Kehilangan sifat elastisitas kulit, dilatasi pembuluh darah, dan penebalan kulit (keratosis) menjadi efek biologis yang dapat disebabkan oleh paparan radiasi UV. Sedangkan efek jangka panjangnya berupa kanker kulit melanoma dan penuaan dini (Sheila Pratiwi, 2017). Paparan sinar UV menyebabkan peningkatan proliferasi dan peningkatan aktivitas melanosit pada kulit, sehingga menyebabkan pigmentasi epidermal terutama pada area yang terpapar matahari (Putri, 2020).

Melanin merupakan pigmen yang dihasilkan oleh melanosit melalui proses fisiologis normal yang disebut melanogenesis (Rakhmawati, 2018). Melanin yang berfungsi sebagai pelindung kulit diproduksi lebih banyak oleh melanosit seiring dengan besarnya intensitas paparan oleh sinar matahari. Semakin intens paparan sinar matahari terhadap kulit, semakin banyak pula melanin yang akan diproduksi melanosit (I H *et al*., 2015). Salah satu cara untuk mencegah atau menghambat pembentukan melanin adalah dengan menghambat aktivitas enzim tirosinase. Penghambatan aktivitas enzim tirosinase dapat dilakukan dengan menggunakan penghambat reaksi enzim yang berupa ion atau molekul yang disebut inhibitor tirosinase. Inhibitor tirosinase menghambat aktivitas enzim tirosinase dengan cara mereduksi zat yang dapat menyebabkan oksidasi dopaquinon. Inhibitor tirosinase spesifik akan berikatan secara kovalen dengan enzim sehingga menjadi tidak aktif selama reaksi katalitik. (Mustika *et al*., 2020). Secara umum, penghambatan tirosinase dapat dilakukan dengan bahan alam dan bahan sintesis. Berbagai inhibitor tirosinase banyak ditemukan dalam bahan kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi termasuk asam hialuronat, arbutin, asam kojat, merkuri

UNMAS DENPASAR

dan hidrokuinon. Senyawa ini memiliki daya hambat yang besar, namun berbahaya karena dapat menyebabkan kanker (Sumarlin L., 2023). Pada penelitian Sholikha *et al*., (2021) Penghambat tirosinase yang bersumber dari alam dapat diperoleh dari metabolit sekunder tanaman, seperti flavonoid, furan, triterpen atau alkaloid. Flavonoid adalah salah satu turunan polifenol yang banyak terdistribusi pada bagian tanaman, seperti daun, biji, kulit, akar dan bunga tanaman. Terdapat 4000 flavonoid yang teridentifikasi dapat memberikan perlindungan terhadap radiasi sinar ultraviolet dengan peran terbesar sebagai penghambat tirosinase.

Pemanfaatan tanaman herbal diindonesia sudah dilakukan secara turun temurun hingga saat ini sudah banyak yang terbukti khasiatnya secara ilmiah. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat adalah tanaman widuri (*Calotropis Gigantea* L). Tanaman widuri (*Calotropis Gigantea* L) merupakan tanaman liar yang sangat sulit dibasmi karena perkembang biakannya sangat cepat. Bunga widuri dapat digunakan untuk mengobati gastritis, batuk, sesak nafas dan flu. Pada penelitian Rajamohan *et al*., (2014) bunga widuri memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, aktivitas antioksidan sebanding dengan antioksidan standar asam askorbat. Bunga widuri mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, saponin dan kuinon (Dewi & Fajaryanti, 2013). Bunga widuri (*calotropis gigantea* L.) berpotensi menurunkan jumlah melanin karena mengandung senyawa senyawa antioksidan yang dapat menurunkan jumlah melanin.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat kerusakan oksidatif pada molekul target. Kulit yang diberi tambahan antioksidan terbukti memberikan perlindungan tambahan terhadap kerusakan akibat sinar matahari, memperlambat penuaan kulit, mengurangi peradangan, dan pada akhirnya memperbaiki penampilan kulit. Antioksidan di luar tubuh dapat diperoleh dalam bentuk sintetik dan alami. Berdasarkan penelitian Putu Anggun Cipta Rosalita Jelantik & Cahyaningsih, (2022) Antioksidan dapat menghambat hiperpigmentasi dengan menurunkan regulasi melanogenesis yang diinduksi UV sebelum transkripsi gen tirosinase lebih lanjut. Senyawa fitokimia yang paling umum yang menunjukkan sifat antioksidan dalam pencegahan melanogenesis adalah flavonoid.

UNMAS DENPASAR

Penggunaan antioksidan sintetik yang berlebihan mempunyai efek toksik dan karsinogenik pada tubuh manusia. Kekhawatiran terhadap potensi efek samping antioksidan sintetik menjadikan antioksidan alami sebagai alternatif yang perlu dikembangkan (Putu Anggun Cipta Rosalita Jelantik & Cahyaningsih, 2022).

Minyak atsiri dikenal dengan nama minyak eteris (*aetheric oil*), minyak esensial (*essential oil*), minyak aromatik (*aromatic oil*) atau minyak terbang (*volatile oil*) yang dihasilkan oleh tanaman. Penelitian Minakshi Singh & Javed, (2013) menunjukkan bahwa tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* Linn) mengandung minyak atsiri yang memiliki komposisi komparatif berupa feniletil alkohol (3.56%, 2.52%, 3.41%) dan α-terpineol (0.80%, 0.63%, 0.14%) sebagai konstituen utama dalam bunga, daun, dan buah (M Singh & Javed, 2015) dan pada penelitian Minakshi Singh & Javed, (2013) minyak atsiri bunga widuri memiliki kandungan senyawa α- terpineol (10,0%), Pentacosane (3,53%), alfa terpinolene (0,05%), Nerolidol (0,51 %) dan kandungan tertinggi adalah Linalool (46,0 %). Linalol merupakan senyawa minyak atsiri yang memiliki aktivitas antioksidan (Widayani *et al*., 2018). Studi penelitian Huang *et al*., (2015) melaporkan bahwa minyak atsiri memiliki sifat antioksidan yang kuat, bermanfaat dalam melawan radikal bebas dalam tubuh manusia. Salah satu aplikasi penting dari sifat antioksidan minyak atsiri yang secara efektif menekan aktivitas tirosinase intraseluler dan menurunkan jumlah melanin. Minyak atsiri juga menunjukkan sifat antioksidan dan secara efektif menurunkan tingkat *spesies oksigen reaktif* (ROS) intraseluler.

UNMAS DENPASAR

Perkembangan sediaan kosmetik sangat pesat pada masa ini, salah satu bentuk sediaan kosmetik yang terus mengalami perkembangan akhir-akhir ini ialah serum. Serum merupakan sediaan dengan viskositas rendah menghantarkan zat aktif melalui permukaan kulit yang memiliki lebih banyak bahan aktif dan kandungan pelarutnya rendah. Keunggulan sediaan serum adalah memiliki konsentrasi bahan aktif yang tinggi dan mengandung bahan organik sepuluh kali lebih banyak sehingga efeknya lebih cepat diserap oleh kulit dibanding sediaan lainnya, memberikan efek lebih aman dan efektif menyebar dengan mudah di permukaan kulit sehingga dapat memberikan efek yang nyaman. Serum ada dalam

berbagai jenis, termasuk anti-acne, anti-aging, wajah, dan lainnya. Saat ini, banyak serum yang dibuat dengan bahan alam (Handayani & Qa,ariah, 2023).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu adanya penelitian mengenai aktivitas minyak atsiri bunga widuri (*Calotrophis gigantea* L.) dalam menurunkan jumlah melanin pada kulit marmut yang diinduksi sinar UV-B. Diharapkan dengan hasil penelitian ini dapat menambah informasi mengenai potensi tanaman widuri (*Calotrophis gigantea* L.) khususnya bagian bunga sebagai agen antioksidan alami dan sebagai *photoaging*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah komponen senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.)?
2. Apakah serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) efektif untuk menurunkan jumlah melanin pada kulit marmut yang diinduksi oleh sinar UV-B?
3. Apakah terdapat perbedaan antara serum konsentrasi 2%, 6%, 10% dalam menurunkan jumlah melanin pada kulit marmut yang diinduksi oleh sinar UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.).
2. Untuk membuktikan serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) efektif untuk menurunkan jumlah melanin pada kulit marmut yang diinduksi sinar UV-B.
3. Untuk mengetahui perbedaan antara serum konsentrasi 2%, 6%, 10% dalam menurunkan jumlah melanin pada kulit marmut yang diinduksi oleh sinar UV-B.

UNMAS DENPASAR

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Menjadi bahan bacaan dan referensi bagi mahasiswa untuk penelitian selanjutnya mengenai peranan minyak atsiri bunga widuri *(Calotropis gigantea* L.*)* sebagai antioksidan serta aktivitasnya dalam menurunkan jumlah melanin.

1.4.2 Manfaat praktis

Diharapkan dengan penelitian ini dapat bermanfaat bagi masyarakat dalam memanfaatkan minyak atsiri bunga widuri *(Calotropis gigantea* L.*)* sebagai antioksidan serta aktivitasnya dalam menurunkan jumlah melanin.

UNMAS DENPASAR

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

2.1.1 Klasifikasi tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

Sumber: (Mutiah dkk., 2021)

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

Tanaman widuri (*Calotrophis gigantea* L.) memiliki klasifikasi ilmiah secara taksonomi sebagai berikut (Mutiah dkk., 2021):

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

UNMAS DENPASAR

2.1.2 Deskripsi tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

Morfologi tanaman Biduri atau Widuri *(Calotropis gigantea)* menurut (Charibaldi, 2021) adalah tanaman parennial. Tinggi pohonnya bisa mencapai 4 meter. Batang widuri berbentuk silinder dengan percabangan simpodial (cabang mirip batang). Batangnya berwarna hijau keputihan dan berlilin. Batangnya mengeluarkan getah berwarna putih susu bila dilukai. Daun biduri bersifat monofoliat, saling berhadapan, berbentuk lonjong dengan ujung tumpul dan pangkal bergerigi serta tepi daun rata. Daunnya berwarna putih kehijauan, panjang 8-30 cm dan lebar 4-15 cm. Daunnya memiliki tangkai daun pendek dan duri menyirip. Permukaan atas daun berbulu lebat ketika muda dan berangsur-angsur hilang ketika tua. Bunga widuri merupakan bunga majemuk berbentuk payung yang tumbuh pada ujung dahan (terminal) atau pada ketiak daun. Tangkai bunganya panjang (3-5 cm) dengan kelopak menyebar dan batang bulat telur, berbulu lembut berwarna hijau serta memiliki bracts sempit. Benang sari berbentuk tabung dan kepala putiknya lebar, berbentuk segi lima. Mahkota bunga berbentuk telur, berwarna putih atau putih keunguan dengan diameter 4-4,5 cm. Buah biduri berbentuk lonjong memanjang seperti tabung dengan ujung berbentuk kait dan berwarna hijau. Panjang buahnya 9-10 cm. Bijinya kecil, bulat telur, pipih, berwarna coklat, dengan rambut pendek dan lebat. Bijinya mempunyai jambul bulu yang panjang seperti sutra, sehingga bijinya dapat tertiup angin.

2.1.3 Kandungan senyawa tanaman Widuri (*Calotropis gigantea* L.)

UNMAS DENPASAR

Kandungan fitokimia tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) menurut penelitian (Maulani *et al*., 2023) Pada daun, bunga, getah dan kulit akar *Calotropis gigantea* mengandung fenol, tannin dan steroid. Saponin terdapat pada daun dan getah, sedangkan flavonoid hanya terdapat pada daun dan bunga. bunga biduri juga dilaporkan memiliki senyawa aktif yang ada di dalamnya yaitu fenol, tanin, alkaloid, steroid, kuinon, dan flavonoid. Kemampuan flavonoid sebagai senyawa antioksidan disebabkan oleh khasiatnya sebagai akseptor radikal bebas yang baik. Demikian pula, tanin mampu secara efisien menangkap radikal bebas dengan menyumbangkan elektron atau atom hidrogen. Senyawa fenolik diketahui memiliki

sifat antioksidan yang terbentuk pada kondisi stres. Hal ini disebabkan senyawa fenolik dan flavonoid mempunyai kemiripan struktur dengan tirosin yang berperan sebagai penghambat aktivitas tirosinase. Kondisi lingkungan berperan penting dalam pembentukan metabolit sekunder, terutama yang disebabkan oleh faktor stres. *Spesies oksigen reaktif* (ROS) banyak macamnya yaitu hidrogen peroksida, radikal hidroksil, oksida nitrat, anion superoksida, peroksinitrit dan masih banyak lagi yang mampu memicu proses degeneratif dalam tubuh. Senyawa seperti asam fenolik, polifenol, dan flavonoid dari tumbuhan mempunyai kemampuan berperan sebagai antioksidan karena mampu mengais *spesies oksigen reaktif* (ROS) penghasil radikal bebas. (B. F. Prasetyo, 2021).

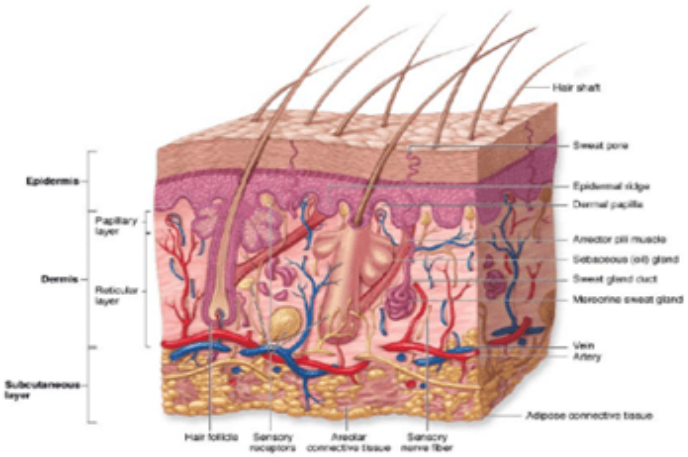
2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa yang umumnya berbentuk cairan yang diperoleh dari bagian tumbuhan seperti akar, kulit kayu, batang, daun, buah, biji atau dari bunga dengan cara penyulingan uap. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu ruangan tanpa terurai, mempunyai rasa yang menyengat, berbau aromatik tergantung tanaman yang memproduksinya, minyak atsiri dapat larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. (Astri Yuliana *et al*., 2020).

Minyak atsiri dibedakan menjadi dua kelompok, yang pertama adalah minyak atsiri yang mudah dipisahkan menjadi komponen-komponennya atau komponen murni yang dapat digunakan sebagai bahan dasar untuk diolah menjadi produk lain, sedangkan yang kedua adalah minyak atsiri yang sulit dipisahkan menjadi komponen-komponen murninya, dan umumnya minyak atsiri ini dapat digunakan langsung tanpa isolasi. Minyak atsiri memiliki banyak manfaat, antara lain digunakan sebagai bahan penyedap dan aroma, antiseptik, dan analgesik. Selain itu, beberapa jenis minyak atsiri dapat dimanfaatkan sebagai obat atau kosmetik (Astuti, 2020).

UNMAS DENPASAR

2.3 Kulit



Sumber: (Kalangi, 2014)

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 m^2 dan berat 2,7–3,6 kg. Jutaan sel kulit dapat mati dan digantikan oleh sel kulit baru yang baru tumbuh. Kulit merupakan perlindungan, 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: subkutan (lapisan paling dalam), dermis (lapisan tengah), dan epidermis (lapisan bagian luar tipis) (Nirmala Sari, 2015). Fungsi kulit antara lain: melindungi permukaan tubuh, menjaga permukaan tubuh, dan menghilangkan polutan/kotoran tertentu. Mengingat pentingnya kulit sebagai pelindung organ-organ dalam tubuh, maka kesehatannya harus tetap dijaga. Kerusakan kulit disebabkan oleh berbagai faktor seperti iklim, kondisi lingkungan, alergi, dll.

2.3.1 Epidermis

Lapisan kulit pertama atau terluar yang dapat dilihat secara langsung oleh mata disebut epidermis. Lapisan epidermis adalah lapisan permukaan kulit yang tersusun dari jenis sel yang membentuk jaringan epitel skuamosa yang berlapis dan

UNMAS DENPASAR

berkeratin. Lapisan ini terdiri dari lima lapisan sel yang berbeda, dimulai dari stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum, dan stratum corneum, berurutan dari dasar ke atas. Semakin ke atas, semakin banyak sel mati dan berkeratin yang ditemukan di permukaan (Sanjaya *et al*., 2023). Epidermis memiliki 4 jenis sel yang meliputi keratinosit, melanosit, sel Langerhans, dan sel Merkel (Kalangi, 2014).

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 sel kecil dengan cabang dendritik panjang tipis yang berakhir pada keratinosit distratum basal dan spinosum. Melanosit ditemukan di antara sel-sel lapisan basal, folikel rambut, dan pada tingkat lebih rendah di dermis. Melanin diproduksi di melanosom, organel melanosit yang mengandung asam amino tirosin dan enzim tirosinase. Tirosin diubah menjadi melanin melalui serangkaian reaksi, yang bertindak sebagai tirai yang menghalangi radiasi UV 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 turunan krista saraf paling langka yang ditemukan di lapisan basal kulit tebal, folikel rambut, dan mukosa mulut. Sel Merkel adalah sel besar dengan cabang sitoplasma pendek.

2.3.2 Dermis

Dermis merupakan lapisan kedua kulit, yang terletak tepat di bawah membran basal dan terdiri dari sistem terpadu dari fibrosa, filamen, dan jaringan

UNMAS DENPASAR

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 terdiri dari dua lapisan, struktur lapisan dermis ini lebih tebal (Sanjaya *et al*., 2023). Dermis terdiri dari 2 lapisan yaitu stratum papilaris dan stratum retikularis (Kalangi, 2014).

a. Stratum papilaris

Stratum papilaris adalah lapisan yang tersusun lebih longgardan 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. Beberapa sejumlah kecil serat elastin. Pada bagian lebih dalam, jalinan lebih terbuka, terdapat rongga yang terdiri dari jaringan lemak, sebasea, kelenjar keringat, dan folikel rambut.

2.3.3 Hipodermis

Jaringan hipodermis atau subkutan merupakan lapisan yang terdiri dari lemak dan jaringan ikat yang kaya akan pembuluh darah dan saraf. Lapisan ini penting dalam pengaturan suhu kulit dan tubuh (Sayogo, 2017), dengan beberapa di antaranya menyatu dengan dermis seperti pada daerah punggung tangan, lapis ini meungkinkan gerakan kulit di atas struktur di bawahnya. Lapisan hipodermis mengikat kulit wajah ke otot dan jaringan di bawahnya (Kalangi, 2014).

UNMAS DENPASAR

2.4 Melanin

Melanin merupakan senyawa biologis yang terdapat pada manusia, hewan dan tumbuhan yang berfungsi sebagai pigmen. Melanin pada manusia berperan sebagai zat yang memberi warna pada kulit, mata, dan rambut. Di kulit, melanin dibentuk oleh sel-sel yang disebut melanosit dengan bantuan enzim tirosinase. Melanosit menghasilkan dua jenis pigmen melanin, yaitu eumelanin (pigmen coklat kehitaman) dan pheomelanin (pigmen kuning kemerahan). Melanin memiliki peran penting dalam melindungi kulit dari efek berbahaya seperti radiasi UV, stres oksidatif, dan kerusakan DNA (Mustika *et al*., 2020). Proses pembentukan melanin merupakan upaya tubuh untuk melindungi kulit dari paparan radiasi UV sinar matahari. Namun pembentukan melanin yang berlebihan dapat menyebabkan warna kulit menjadi lebih gelap dari biasanya. Hal ini dapat mengganggu estetika kulit dan menimbulkan efek buruk seperti hiperpigmentasi (Laksmiani & Nugraha, 2019). Eumelanin merupakan pigmen melanin berwarna coklat yang menyebabkan warna kulit menjadi lebih gelap. Jika enzim tirosinase terhambat maka proses pembentukan melanin juga terhambat sehingga proses penggelapan kulit tidak terjadi (Pratiwi *et al*., 2021).

Berdasarkan penelitian (Adzhani *et al*., 2022) Paparan sinar UV yang tinggi juga dapat menyebabkan kelainan kulit, yaitu penggelapan kulit (tanning). Secara alami, kulit membentuk melanin yang melindungi kulit, namun paparan sinar UV secara terus-menerus akan mengakibatkan peningkatan sintesis melanin di kulit. Peningkatan sintesis melanin dapat menyebabkan kulit menjadi gelap. Hal ini terjadi akibat terbentuknya pigmen melanin baru pada kulit yang bermigrasi ke lapisan terluar kulit. Perubahan warna kulit gelap yang mungkin muncul dalam waktu 1 jam dan mungkin hilang setelah 3 jam akibat reaksi oksidasi fotokimia.

UNMAS DENPASAR

2.5 Sinar Matahari

2.5.1 Definisi sinar ultraviolet

Sinar ultraviolet (sinar UV) adalah jenis radiasi elektromagnetik, seperti gelombang radio, radiasi infra merah, sinar X, dan sinar gamma. Sinar UV yang berasal dari matahari tidak terlihat oleh mata manusia. Sinar UV terdiri dari rentang panjang gelombang yang dikenal sebagai spektrum elektromagnetik (EM). Radiasi UV bermanfaat bagi manusia, termasuk sintesis vitamin D dan juga berfungsi membunuh bakteri. Namun selain manfaat yang disebutkan di atas, sinar UV juga bisa berbahaya bagi manusia jika terkena kulit manusia dalam jangka waktu lama (Isfardiyana *et al*., 2014).

2.5.2 Jenis-jenis sinar ultraviolet

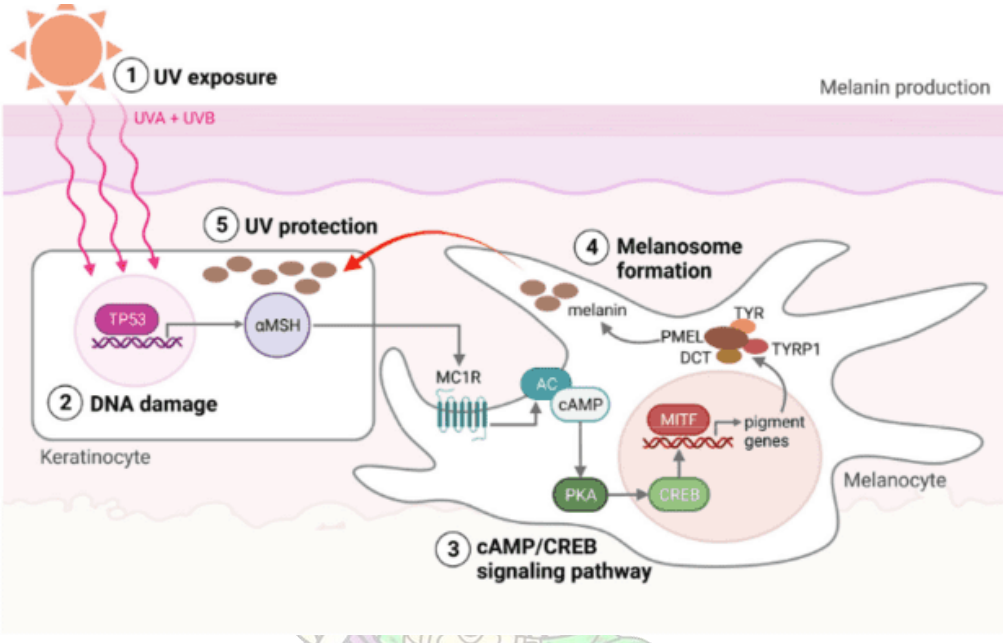
Sinar ultraviolet (sinar UV) dapat dispesifikasikan menjadi 3 jenis sinar, yaitu sinar UV-A dengan panjang gelombang diantara 320 – 400 nm, UV-B dengan panjang gelombang 290 – 320 nmdan UV-C dengan panjang gelombang 10 – 290 nm. Energi dari radiasi sinar ultraviolet yang mencapai permukaan bumi dapat memberikan tanda dan simptom terbakarnya kulit. Diantaranya adalah kemerahan pada kulit (eritema), rasa sakit, kulit melepuh dan terjadinya pengelupasan kulit (Isfardiyana *et al.*, 2014).

2.5.3 Sinar ultraviolet B

Paparan sinar UV merupakan salah satu faktor yang dapat mempercepat kerusakan jaringan kulit manusia. Paparan sinar UV kronis dapat membentuk *spesies oksigen reaktif* (ROS) seperti hidrogen peroksida, anion superoksida, dan radikal hidroksil yang dapat menyebabkan percepatan penuaan. Paparan sinar UV juga merupakan salah satu kontributor terbesar terhadap patogenesis kanker kulit, yang merupakan peristiwa multifaktorial (G. M. C. T. Pratama *et al*., 2020). Bagian sinar matahari yang diduga bersifat karsinogenik adalah sinar ultraviolet B (UV-B). Lapisan ozon di atas bumi diyakini dapat menghalangi sinar UV-B mencapai bumi. Meningkatnya penggunaan bahan kimia tertentu menyebabkan lubang pada lapisan ozon sehingga memungkinkan sinar UV-B mengenai permukaan bumi secara langsung. Hal ini menyebabkan peningkatan angka kejadian kanker kulit. Selain

UNMAS DENPASAR

sinar matahari, sinar pengion yang digunakan untuk pengobatan (radioterapi/radioterapi) juga dapat menyebabkan kanker kulit. Bahan kimia, sinar matahari dan sinar pengion serta virus juga merupakan faktor penyebab lain di luar tubuh (Wedayani *et al*., 2022).



Sumber :(Kuras, 2023)

Gambar 2. 3 Pathway produksi melanin

Produksi melanin, (1) Produksi melanin, suatu proses yang disebut melanogenesis, diaktifkan setelah paparan sinar UV. (2) Radiasi UV merusak DNA pada keratinosit, mengaktifkan jalur TP53, yang menghasilkan produksi αMSH. αMSH disekresikan dari keratinosit dan berikatan dengan MC1R pada melanosit. (3) kadar cAMP kemudian meningkat di dalam melanosit, mengaktifkan protein kinase A (PKA). Aktivasi PKA menginduksi perekrutan protein pengikat CRE-binding (CREB) dan dengan demikian aktivitas transkripsional MITF. (4) MITF mengaktifkan transkripsi gen pigmen, termasuk TYR, TYRP1, DCT, dan PMEL, yang diangkut ke melanosom yang terikat membran. (5) Melanosom yang matang kemudian dipindahkan dari melanosit ke keratinosit untuk melindunginya dari sinar UV (Kuras, 2023).

UNMAS DENPASAR

2.6 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan molekul dengan elektron tidak berpasangan yang tidak stabil dan dapat menyebabkan kerusakan pada molekul di sekitarnya. Radikal bebas berperan penting dalam kerusakan jaringan dan proses patologis pada organisme hidup. Kadar radikal bebas yang tidak normal yang masuk ke dalam tubuh dapat menyerang senyawa rentan seperti lipid dan protein serta berimplikasi pada timbulnya berbagai penyakit. Hal ini disebabkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh tidak dapat diimbangi oleh antioksidan tubuh (A. N. Pratama & Busman, 2020). Secara umum sumber radikal bebas dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis pada respirasi, transpor elektron mitokondria, dan oksidasi ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh seperti sinar UV, radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan pestisida. Pembentukan senyawa radikal baik radikal bebas endogen maupun eksogen terjadi melalui serangkaian reaksi. Tahap awal adalah pembentukan radikal bebas (inisiasi), kemudian perbanyakan atau pembentukan radikal baru (propagasi), dan tahap akhir penghancuran atau konversi senyawa radikal menjadi non radikal (terminasi).(Maharani *et al*., 2021). Berikut adalah beberapa penjelasan lebih lanjut mengenai jenis *reactive species*: (Prof. Dr. apt. Nurkhasanah, 2023)

1. *Reactive Oxygen Species* (ROS)

   Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan satu dari jenis radikal bebas yang memengaruhi berbagai mekanisme seluler, seperti proliferasi, metabolisme, dan diferensiasi. ROS adalah produk metabolisme sel normal atau sel yang terkena paparan zat penyebab inflamasi atau peradangan lainnya. ROS terutama merupakan hasil reaksi fisiologis (ROS endogen), yaitu hasil metabolisme sel normal, dan sebagian kecil merupakan hasil paparan dari eksternal (ROS eksogen), yaitu oksigen reaktif yang dihasilkan dari radiasi, polusi lingkungan, bakteri, infeksi jamur, virus, dan lain-lain.

2. *Reactive Nitrogen Species* (RNS)

   Reactive Nitrogen Species (RNS) merupakan salah satu bentuk umum dari radikal bebas. Reactive Nitrogen Species (RNS) adalah senyawa yang terbentuk

UNMAS DENPASAR

dari oksida nitrat, dan keberadaannya dalam tubuh dapat menyebabkan stres nitro-oksidatif. Jumlah oksida nitrat (NO) yang berlebih dapat memicu produksi RNS yang berperan dalam patofisiologi beberapa penyakit, termasuk kanker. RNS dihasilkan melalui metabolisme sel normal aerob yang menghasilkan spesies organik reaktif di organel seperti mitokondria dari mikrosom. Biasanya, spesies nitrogen reaktif bermanfaat karena berhubungan dengan proses seluler seperti transduksi sinyal, pemantauan ketegangan O2 , ekspresi gen, tonus pembuluh darah, dan aktivasi enzim. Jika terjadi peningatan kadar nitrogen reaktif yang signifikan, maka dapat menyebabkan kerusakan pada sel-sel tubuh sehingga perlu diatasi dengan berbagai senyawa antioksidan.

2.7 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga radikal bebas tersebut dapat direduksi. Antioksidan dipercaya berperan penting dalam melindungi sel dari kerusakan akibat radikal bebas. Peran antioksidan juga dapat mencegah oksidasi dan melindungi tubuh dari *spesies oksigen reaktif* (ROS).(Binuni *et al*., 2020). Di alam, antioksidan dapat terbentuk dari senyawa endogen maupun eksogen. Antioksidan endogen terdiri dari antioksidan enzimatik dan non-enzimatik. Contoh antioksidan endogen enzimatik adalah katalase (CAT), glutathione peroksidase (GSH-PX), SOD, vitamin E, allopurinol, omega 3, dan koenzim Q-10. Di sisi lain, bilirubin, asam urat, albumin dan metallotionin merupakan antioksidan endogen non-enzimatik. Antioksidan enzimatik bekerja dengan cara memecah dan menghilangkan radikal bebas, sedangkan antioksidan non-enzimatik bekerja dengan cara mengganggu reaksi berantai radikal bebas. Suatu senyawa antioksidan mempunyai sifat mampu mencegah atau mendeteksi rantai oksidasi dengan cara menstabilkan ROS sehingga berkontribusi terhadap pengurangan kerusakan oksidatif dalam tubuh manusia. Ada dua jenis antioksidan yaitu antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan primer bertindak dengan memutus rantai ROS, sedangkan antioksidan sekunder bertindak dalam mekanisme pencegahan seperti penonaktifan logam, penghambatan lipid hidroperoksida mencegah

UNMAS DENPASAR

produksi zat-zat volatil yang tidak berguna, dan regenerasi antioksidan primer. (A. V. Prasetyo *et al*., 2020).

2.8 Sediaan Serum

Serum merupakan sediaan semisolid dengan zat aktif dengan konsentrasi tinggi dan mempunyai ketahanan untuk melewati kulit atau terdifusi untuk melepaskan zat aktif, serum yang mempunyai viskositas rendah akan memberikan efektivitas yang baik dalam pelepasan zat aktif dengan cara membentuk lapiran film yang tipis diatas permukaan kulit. Salah satu keuntungan menggunakan sediaan serum yaitu zat aktif yang terkandung didalam serum lebih banyak dibandingkan sediaan kosmetik lainnya sehingga serum lebih cepat dan lebih efektif mengatasi masalah kulit. Penggunaan serum pada kulit dapat membuat kulit lebih kencang, tekstur lebih halus, mengecilkan pori-pori dan meningkatkan kelembaban kulit. Bentuk sediaan serum berbasis gel dianggap cukup nyaman digunakan karena memiliki kandungan air yang tinggi yang dapat melembabkan kulit dan mudah menyebar saat diterapkan (Surini *et al*., 2018).

2.9 Monografi Bahan Serum

1. Natrosol/*Hydroxyethyl Cellulose*

   Pemerian dari xanthan gum adalah berupa bubuk berwarna putih, putih kekuningan atau bubuk higroskopis berwarna putih abu-abu, tidak berbau dan tidak berasa. Natrosol ini dapat digunakan sebagai bahan pengental pada formulasi oftakmik dan topikal, meskipun dapat juga digunakan sebagai bahan pengikat. Natrosol berperan sebagai bahan penyalut, bahan pensuspensi, bahan pengikat tablet, bahan pengental, bahan penambah viskositas (Rowe, 2009).

2. DMDM Hydantoin

   Hydantoin DMDM merupakan bahan pengawet yang banyak digunakan dalam industri kosmetik. DMDM hydantoin memiliki spektrum antimikroba yang luas, sangat larut dalam air, dan cukup stabil pada rentang pH dan suhu yang luas. Perbedaan konsentrasi yang dipilih didasarkan pada konsentrasi kosmetik efektif yang aman yaitu 0,1-1%. (Sutjahjokartiko, 2017)

3. Gliserin

UNMAS DENPASAR

Deskripsi Gliserin merupakan cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, kental, higroskopis dan mempunyai rasa manis 0,6 kali lebih manis dari sukrosa. Dalam sediaan farmasi topikal dan kosmetik, gliserin umumnya digunakan sebagai humektan (Rowe, 2009).

4. Ethoxydiglycol

   Ethoxydiglycol berbentuk cairan dengan bau yang lembut dan sedap, bersifat hidroskopis. Ethoxydiglycol dapat digunakan sebagai pelarut pada produk perawatan kulit dan rambut. Ia bekerja untuk melarutkan bahan, humektan dan mengurangi viskositas formulasi. Ethoxydiglycol digunakan dalam konsentrasi 1-10% (Rahayu, 2021).

2.10 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses perpindahan suatu zat atau zat terlarut dari larutan asal atau padatan ke dalam pelarut tertentu. Ekstraksi merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan komponen-komponen dalam campuran. Secara umum ekstraksi dibedakan menjadi dua jenis, yaitu ekstraksi padat-cair (leaching) dan ekstraksi cair-cair. Ekstraksi padat-cair atau leaching adalah proses pemisahan zat terlarut dari padatan tidak larut yang disebut inert. Pektin dapat larut dalam berbagai jenis pelarut seperti air, berbagai senyawa organik, senyawa basa dan asam (Aji *et al*., 2018). berikut macam-macam metode ektraksi (Mukhtarini, 2014):

1. Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan ban- yak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa sen- yawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.
2. Ultrasound Assisted Solvent Extraction Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan *ultrasound* (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan pada sonikator dan sonikator. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan

UNMAS DENPASAR

mekanis pada sel untuk menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi..

3. Metode perkolasi, sampel serbuk dibasahi secara perlahan dalam suatu saringan (wadah berbentuk silinder yang dilengkapi dengan keran di bagian bawah). Pelarut ditambahkan ke bagian atas bubuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan ke bawah. Keuntungan metode ini adalah sampel selalu terkena pelarut baru. Sedangkan kelemahannya adalah jika sampel pada filter tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu cara ini juga memerlukan pelarut yang banyak dan waktu yang lama.
4. Metode soklet dilakukan dengan menempatkan bubuk sampel dalam kantong selulosa (kertas saring dapat digunakan) dalam wadah yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai ditambahkan ke dalam labu dan suhu bak diatur di bawah suhu refluks. Kelebihan metode ini adalah proses ekstraksi berlangsung secara kontinyu, sampel diekstraksi dengan pelarut murni hasil konsentrasi, sehingga tidak memerlukan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang peka terhadap panas dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh selalu berada pada titik didih.
5. Metode reflux, Sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan ke kondensor. Pelarut dipanaskan sampai titik didih. Uap mengembun dan kembali ke labu.
6. Destilasi uap memiliki proses yang biasa digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri (campuran berbagai senyawa yang mudah menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan distilat (dipisahkan menjadi 2 bagian yang tidak dapat bercampur) dikumpulkan dalam wadah yang dihubungkan ke kondensor. Kerugian dari metode ini adalah senyawa yang peka terhadap panas dapat terdegradasi.
7. Enfleurisasi adalah metode ekstraksi minyak atsiri dengan menggunakan lemak dingin sebagai adsorben. Cara ini digunakan untuk memperoleh

UNMAS DENPASAR

minyak dari bunga seperti melati, mawar, kamomil dan kamboja. Teknik aliran mampu meningkatkan rendemen minyak hingga 4-5 kali lebih banyak (Patrisia *et al*., 2017). Proses Enfleurasi sangat panjang dan rumit. Lemak mempunyai daya serap yang tinggi, jika bersentuhan langsung dengan bunga wangi maka lemak akan menyerap minyak yang dikeluarkan bunga. Kemudian dilakukan proses pemisahan campuran lemak dengan cara dilarutkan dalam suatu pelarut dan dilanjutkan dengan penguapan pelarut tersebut hingga diperoleh minyak bunga alami. Keunggulan metode ini adalah dapat menghasilkan minyak atsiri dari bunga dalam jumlah dan kualitas yang baik. (Sundari *et al*., 2021).

2.11 Sokletasi

Sokhletasi merupakan suatu metode pemisahan zat dari campurannya dengan pemanasan, pelarut yang digunakan akan mengalami sirkulasi. ekstraksi ini pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relative sedikit. Bila ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Biasanya pelarut yang digunakan adalah pelarut-pelarut yang mudah menguap atau memiliki titik didih rendah. Sokletasi dilakukan dengan cara pemanasan pelarut. Uap pelarut yang dihasilkan mengalami pendinginan dalam kondensor dan secara kontinyu akan membasahi sampel, dimana secara teratur pelarut tersebut dimasukkan kembali kedalam labu dengan membawa analit. Proses ini berlangsung secara kontinyu. Pelarut yang digunakan dapat diuapkan kembali dan dipidahkan dari analit. Sokletasi dapat dihentikan dengan cara menghentikan pemanasan. Peralatan yang digunakan dalam sokletasi terdiri dari kondensor, soklet, labu alas bulat dan pemanas. Soklet terdiri dari timbal, pipa F dan sifon. Kondensor berfungsi sebagai pendingin untuk mempercepat proses pengembunan, timbal berfungsi sebagai wadah untuk menyimpan sampel, pipa F berfungsi sebagai saluran bagi uap pelarut yang dipanaskan pada labu alas bulat ke kondensor, sifon berfungsi sebagai perhitungan siklus, bila larutan pada sifon penuh dan jatuh ke dalam labu alas bulat maka dihitung sebagai satu siklus. Labu alas bulat berfungsi

UNMAS DENPASAR

sebagai wadah pelarut, sedangkan pemanas berfungsi untuk memanaskan pelarut (Firyanto *et al*., 2020).

Keuntungan dari metode sokhletasi antara lain menggunakan pelarut yag lebih sedikit karena pelarut tersebut akan dipakai untuk mengulang ekstraksi dan uap panas tidak melalui serbuk simplisia, tetapi melalui pipa samping. Namun metode soklet extraction memiliki beberapa kelemahan antara lain, tidak dapat digunakan pada bahan yang mempunyai tekstur yang keras, selain itu pengerjaannya rumit dan agak lama, karena harus diuapkan di rotavapor untuk memperoleh ekstrak yang kental. Sehingga metode konvensional ini kurang efektif untuk mengekstrak minyak atsiri (Triesty & Mahfud, 2017).

Penelitian Ekasari, (2020) melakukan perbandingan rendemen minyak atsiri menggunakan metode sokletasi dan menggunakan destilasi mndapatkan perbedaan pada hasil rendemen. Rendemen minyak dengan proses destilasi uap lebih tinggi dibandingkan dengan proses destilasi air karena uap yang berasal dari ketel uap memiliki tekanan dan suhu yang lebih tinggi sehingga dapat mempercepat proses difusi dan osmosis minyak atsiri dari sampel. Sedangkan proses pengambilan dengan menggunakan sokletasi menghasilkan rendemen minyak yang lebih rendah daripada proses destilasi uap hal ini disebabkan karena pada proses ekstraksi menggunakan pelarut yang mudah menguap dan prosesnya lebih panjang dan sebagian minyak teruapkan pada saat pemisahan minyak dengan pelarut n-heksan menggunakan dengan proses destilasi. Selain itu semakin lama waktu dan semakin tinggi suhu yang digunakan dalam proses eksraksi maka semakin banyak kemungkinan minyak atsiri yang menguap.

UNMAS DENPASAR

Pada penelitian Wong *et al*., (2014) Proses destilasi yang umum digunakan adalah distilasi uap. Destilasi uap memerlukan air sebagai pelarut sehingga menghasilkan produk yang tidak terlalu berbahaya dan tidak menyebabkan iritasi. Itu juga tidak menghasilkan uap berbahaya ketika dilepaskan ke lingkungan. Hasil minyak atsiri yang diekstraksi dengan metode distilasi uap lebih sedikit dibandingkan dengan minyak atsiri yang diekstraksi dengan ekstraksi Soklet. Hal ini disebabkan suhu yang digunakan untuk destilasi uap lebih rendah dibandingkan suhu ekstraksi Soklet. Suhu yang lebih tinggi menyebabkan pelarut lebih cepat

menguap. Ekstraksi soklet menggunakan pelarut yang memiliki titik didih lebih rendah dibandingkan air dan pada penelitian tersebut menggunakan pelarut etanol yang merupakan zat yang mudah menguap. Karena produknya adalah minyak, sebagian menempel pada tabung pengumpul selama ekstraksi dan sebagian lagi menempel pada corong pemisah selama pemisahan minyak dari air.

2.12 GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometer)

Metode GC-MS merupakan metode yang menggunakan mekanisme pemisahan sampel dengan menggunakan metode analisis kromatografi gas menggunakan MS (*Mass spectroskopi*). Metode GC-MS mempunyai sensitivitas yang tinggi untuk dapat memisahkan senyawa-senyawa yang bercampur dan mampu menganalisis berbagai senyawa pada kadar/konsentrasi rendah. yang sesuai dengan kriteria sampel yang sering ditemukan pada kasus forensik, seperti sampel darah dan urin yang berbentuk matriks kompleks (Diva Candraningrat *et al*., 2021).

Kromatografi gas digunakan untuk mencari senyawa yang mudah menguap dalam kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah saat dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa digunakan untuk menentukan berat molekul, jenis molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan (Hotmian *et al*., 2021). Pemisahan kromatografi gas didasarkan pada perbedaan koefisien partisi. Senyawa yang menguap antara fasa cair dan fasa gas melewati kolom dengan bantuan gas pembawa. Temperatur injektor harus cukup tinggi agar analit dapat menguap dengan cepat agar tidak menghilangkan efisiensi yang ditimbulkan oleh metode injeksi. Di sisi lain, suhu injektor harus cukup rendah untuk mencegah dekomposisi termal. Temperatur kolom harus cukup tinggi agar sesuai dengan temperatur injektor sehingga analisis dapat diselesaikan dalam waktu yang wajar dan pemisahan yang diinginkan tercapai. Suhu detektor minimal harus 125 ℃ agar sampel tidak mengembun. Pelebaran puncak dan hilangnya puncak komponen merupakan ciri khas kondensasi (Rizalina *et al*., 2018). Waktu retensi adalah waktu yang diperlukan komponen senyawa untuk keluar dari kolom menuju detektor. Perbedaan waktu retensi dipengaruhi oleh titik didih masing masing komponen dimana titik didih komponen yang lebih rendah akan terelusi terlebih dahulu dan perbedaan persentase area menunjukan besarnya konsentrasi senyawa yang berada dalam suatu sampel (Agie

UNMAS DENPASAR

novilda *et al.*, 2022). Pemisahan yang terjadi di dalam kolom GCMS, berdasarkan sifat kepolaran senyawa, senyawa dengan kepolaran yang berbeda dengan kolom akan menyebabkan senyawa tersebut lebih cepat dipisahkan (Sugiarto, 2021).

2.13 Metode Uji Melanin

Histologi merupakan cabang ilmu Biologi yang mengkaji secara umum tentang jaringan penyusun tubuh, kimia jaringan, dan sel yag dipelajari dengan metode analitik mikroskopik.berikut adalah tahapan histologi:

1. Tujuan utama fiksasi adalah untuk menjaga sel dan komponen jaringan pada keadaan "life-like state". Selama proses fiksasi dan tahap-tahap yang menyertainya terdapat perubahan substansial pada komposisi dan penampakan sel serta komponen jaringan dan keadaan ini dapat mengubah keadaan dari "life-like state" yang ideal (Musyarifah & Agus, 2018).
2. Dehidrasi merupakan metode yang digunakan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan setelah dilakukan proses fiksasi. Tujuan pemendaman adalah membuat blok jaringan menjadi keras kaku sehingga dapat dipotong menjadi irisan-irisan tipis.
3. Clearing adalah tahapan yang bertujuan untuk menjernihkan jaringan dari berbagai komponen biokimia yang dapat mengganggu pewarnaan sediaan. Larutan clearing yang biasa digunakan pada proses histoteknik adalah xylol. Sifat larutan xylol yang sangat menolak air dapat dijadikan kontrol keberhasilan proses dehidrasi. Apabila pada langkah awal larutan clearing menjadi keruh maka menandakan proses dehidrasi belum sempurna dan jaringan masih mengandung air (Sumanto, 2014).
4. Proses embedding (pembenaman) adalah proses merendam spesimen yang telah diproses secara tepat dalam media yang mendukung proses mikrodiseksi. Media yang dapat digunakan adalah lilin parafin. Proses penyematan dilakukan dengan menggunakan cetakan dasar yang tahan panas dan konduktif dingin (stainless steel) dan bila dibekukan dapat terbentuk blok. Blok ini memfasilitasi mikrodiseksi (Sumanto, 2014).
5. Pembuatan (Blocking) merupakan proses pengisian parafin padat cair sehingga dapat dipotong dengan mikrotom. Prosedur ini menggunakan

UNMAS DENPASAR

parafin sebagai media pengisi jaringan sehingga mengeras dan mudah dipotong. Caranya, siapkan area penyekat dan tuang parafin, kemudian letakkan alat di dalam parafin yang telah disediakan. Kemudian, setelah blok parafin mengering dan membeku, dapat dikeluarkan dari area pemblokiran.

6. Sectioning merupakan proses yang dilakukan untuk memotong jaringan dengan mikrotom dan menempelkannya pada kaca objek yang selanjutnya akan diproses sehingga menghasilkan suatu sediaan yang dapat diamati secara mikroskopis. Umumnya proses ini diperoleh dari jaringan yang ditanam dalam paraffin.
7. Floating adalah suatu proses dimana obyek glass dimasukkan ke dalam waterbath lalu digerakkan kearah pita parafin yang akan direkatkan pada obyek glass. Tujuan floating adalah untuk merekatkan pita parafin pada kaca obyek dengan cara memasukkan kedalam water bath suhu 60 OC (Juliati *et al*., 2017).
8. Deparafinisasi adalah suatu tahap pada proses pewarnaan (Staining) dengan menggunakan xylol untuk membersihkan parafin dari jaringan dan kaca objek. Tujuan dari tahap ini untuk membersihkan jaringan pada kaca objek dari parafin.
9. Pewarnaan merupakan proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong agar unsur jaringan mudah dikenali pada saat pengamatan dengan menggunakan mikroskop.
10. Hematoxylin-Eosin (HE) merupakan pewarna sintetis yang umum digunakan dalam pemeriksaan histologi. Hematoxylin berperan sebagai pewarna dasar yang mewarnai inti sel sehingga menjadi biru sedangkan sitoplasma dan matriks ekstraseluler oleh eosin. Eosin berperan sebagai pewarna counter yang menghasilkan warna merah muda *(F. Rahmawati et al*., 2023).
11. Software Image J merupakan salah satu alat yang dipakai untuk menilai secara klinis expresi melanin pada kulit. Jumlah melanin dalam sel melanosit akan tampak sebagai warna coklat gelap pada pewarnaan HE

UNMAS DENPASAR

(*Hematoxylin eosin*) dibagian basal dari lapisan epidermis. Jumlah melanin merupakan prosentase hasil perhitungan perlapangan pandang dalam satuan pixel yang dihitung dengan rumus: Pixel melanin dibagi Pixel epidermis x 100% (Elfiah, 2022).

2.14 Marmut (*Cavia porcellus*)

Sumber: (D.L. Hickman, J. Johnson,T.H. Vemulapalli Crisler1 & Shepherd, 2020)

Gambar 2. 4 Marmut (*Cavia porcellus*)

Marmut (*Cavia porcellus*) memiliki klasifikasi ilmiah secara taksonomi sebagai berikut (Chende *et al*., 2021):

Kingdom : *Animalia*
Kelas : *Mamalia*
Ordo : *Rodentina*
Sub ordo : *Hystricomorpha*
Famili : *Caviidae*
Sub Famili : *Caviinae*
Genus : *Cavia*
Spesies : *Cavia porcellus*

Marmut *(Cavia porcellus)* merupakan hewan percobaan yang biasa digunakan untuk hewan coba saat di laboratorium. Selain bisa digunakan sebagai hewan coba karena kondisi fisiologis dan reproduksinya mirip dengan mamalia (Wijayanti *et al*., 2017). Marmut memiliki tubuh yang kecil, kekar, tanpa ekor, dan kepalanya yang besar dengan mata yang besar. Kaki marmut pendek, dengan tiga

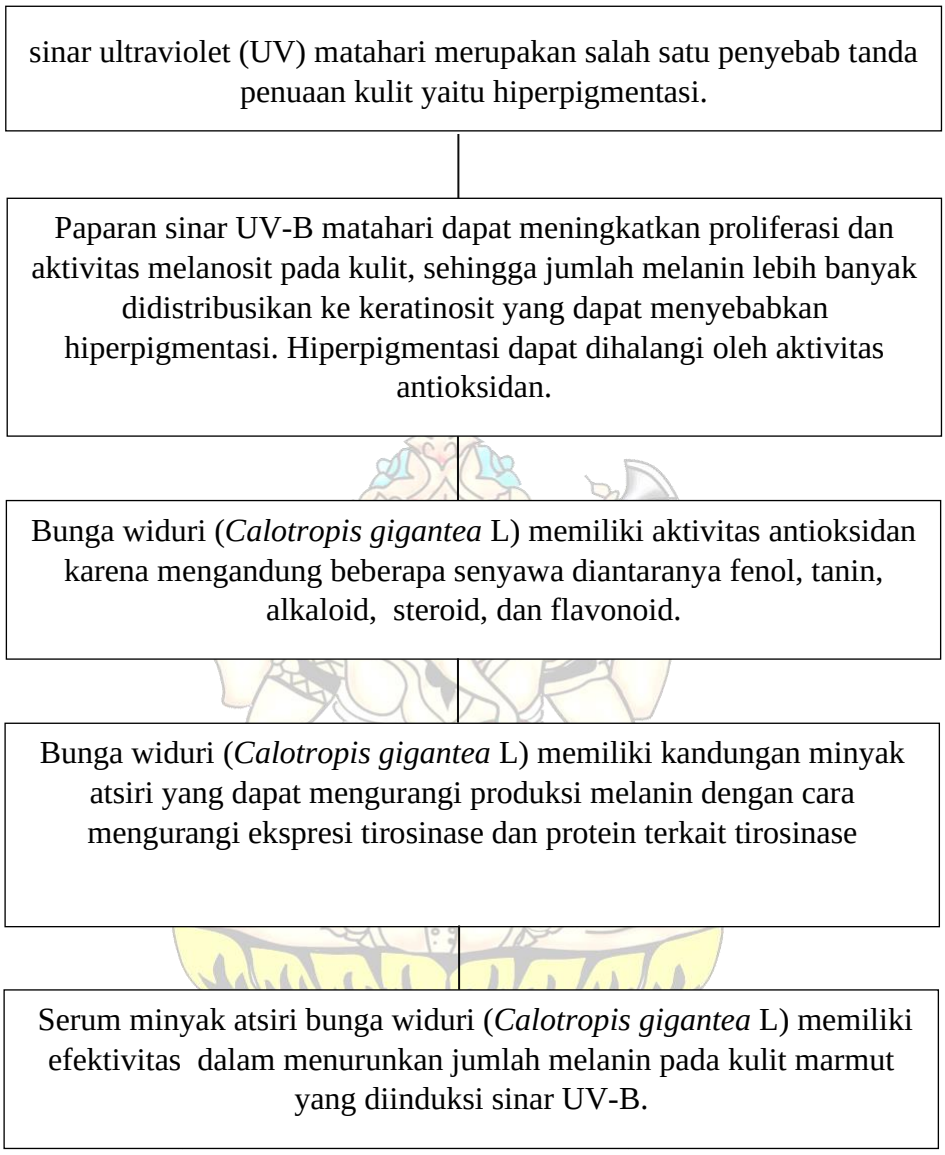
UNMAS DENPASAR

jari di kaki belakang dan empat jari di kaki depan. Di alam liar, setiap jari kaki memiliki cakar tajam yang dapat digunakan untuk mengais dan menggali. Selain indra penciuman dan pendengaran yang tajam, kumis yang panjang marmot sangat peka terhadap perubahan di sekitarnya, membantu mereka menemukan pemangsa dengan lebih mudah (Noor, 2021).

Marmut sering digunakan sebagai hewan uji karena memiliki banyak persamaan biologis dengan manusia. Mereka juga memiliki beragam jenis melanin, termasuk albino, eumelanin, dan pheomelanin. Marmut jenis kelamin jantan lebih sering digunakan dalam penelitian karena menghindari adanya pengaruh hormon *Melanocyte Stimulating Hormone* (MSH), estrogen, dan progesteron yang lebih banyak ada pada jenis kelamin betina dibandingkan pada jantan. Sehingga, melanin yang diproduksi tidak banyak dipengaruhi oleh pemicu internal, termasuk hormon tetapi peningkatan produksi melanin dapat dipicu oleh rangsangan sinar UV-B, serta marmut jantan tidak memiliki siklus menstruasi seperti marmut betina karena menstruasi yang dialami marmut betina dapat menyebabkan stres pada marmut yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis marmut. di samping ciri-ciri lain seperti sirkulasi janin, anatomi jantung dan hati, dan lain-lain, yang akan membuat itu disarankan untuk studi eksperimental pada kulit dan lainnya bidang seperti imunologi, fisiologi peredaran darah, farmakologi, endokrinologi. (Fithria *et al.*, 2017).

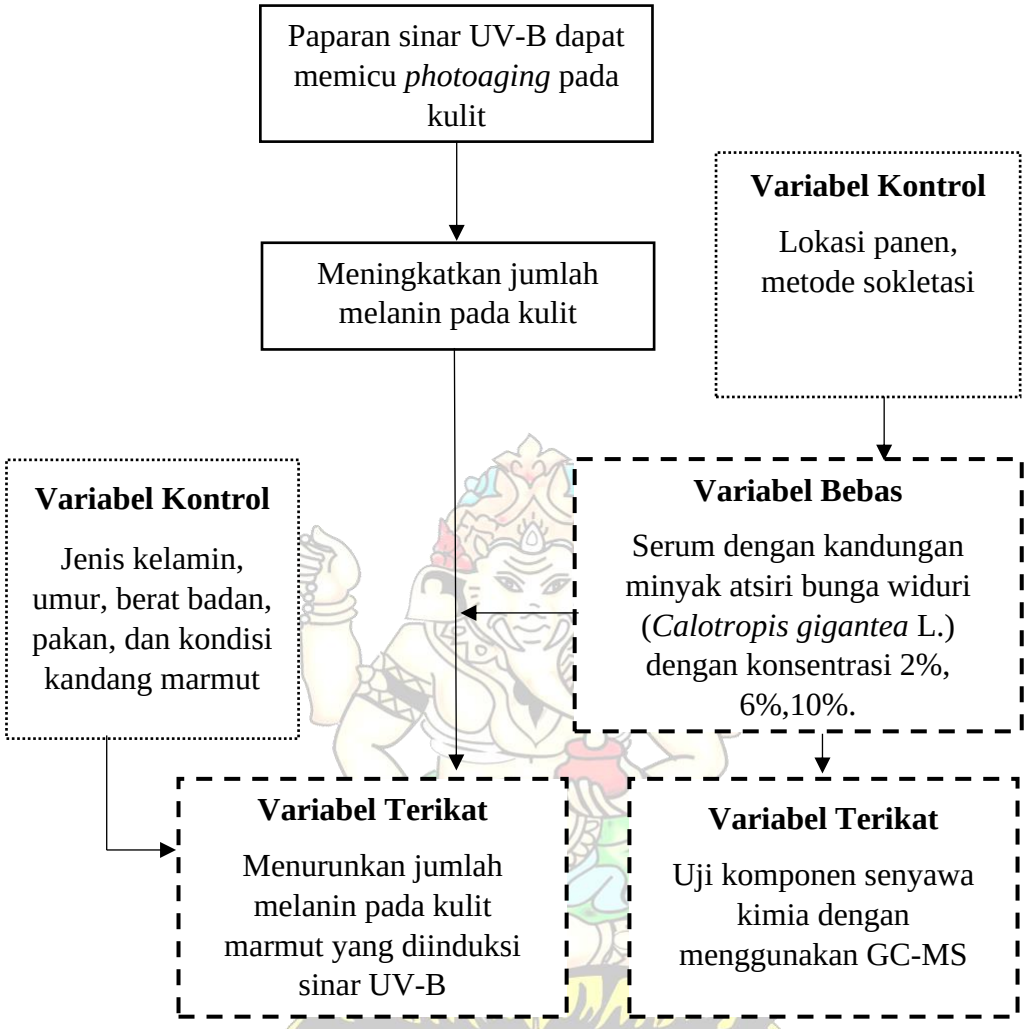
UNMAS DENPASAR

2.15 Kerangka Teori



Gambar 2. 5 Kerangka Teori

2.16 Kerangka Konsep



Gambar 2. 6 Kerangka Konsep

UNMAS DENPASAR

Keterangan:

= Dianalisis pada saat penelitian

= Dikendalikan pada saat rancangan penelitian

2.17 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka berpikir serta kajian pustaka maka dibuatlah hipotesis penelitian, yaitu diduga serum minyak atsiri bunga widuri (*Calotropis gigantea* L.) dengan konsentrasi 2%, 6%, dan 10% dapat menghasilkan rerata jumlah melanin lebih rendah pada kulit marmut yang dipapar sinar UV-B dibandingkan dengan control lainnya.

UNMAS DENPASAR