

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kulit merupakan organ luar tubuh manusia yang paling mudah diamati, sehingga perubahan yang terjadi dapat terlihat dengan jelas. Isu terkait penuaan kulit semakin signifikan seiring dengan bertambahnya jumlah populasi lansia di seluruh dunia (Yusharyahya, 2021). Penuaan kulit adalah suatu proses biologis yang tidak dapat dihindari, yang mengakibatkan penurunan fungsi dan kapasitas kulit secara bertahap seiring bertambahnya usia. Hal ini berujung pada gangguan fungsi kulit dan meningkatnya kerentanannya terhadap penyakit (Sutanto *et al.*, 2023). Penuaan kulit merupakan proses yang kompleks, yang dipengaruhi oleh berbagai faktor baik intrinsik maupun ekstrinsik. Penuaan intrinsik terjadi secara alami sebagai bagian dari proses penuaan tubuh, sementara penuaan ekstrinsik disebabkan oleh faktor luar, seperti paparan sinar matahari, polusi udara, merokok, konsumsi alkohol, dan kekurangan gizi. Faktor-faktor ini dapat memperburuk penuaan kulit jika bekerja bersama dengan faktor intrinsik, yang mempercepat proses penuaan. Paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari merupakan faktor eksternal utama yang menyebabkan penuaan kulit, yang dikenal dengan istilah *photoaging*. Sekitar 80% dari penuaan kulit pada wajah disebabkan oleh paparan radiasi UV (Brahmanti & Puspitasari, 2023).

Photoaging adalah kondisi penuaan kulit yang terjadi lebih cepat akibat paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari, baik UV-A maupun UV-B, serta sumber sinar buatan yang mengeluarkan radiasi UV secara terus-menerus. Paparan ini dapat menyebabkan perubahan pada tekstur, struktur histologis, serta fungsi kulit. Matahari merupakan sumber utama radiasi UV dan karenanya merupakan faktor utama penyebab *photoaging*. Sinar UV terbagi menjadi tiga jenis, yaitu UV-A, UV-B, dan UV-C, yang masing-masing memiliki panjang gelombang yang berbeda. Lebih dari 95% sinar UV yang sampai ke permukaan bumi adalah sinar UV-A (320 hingga 400 nm), sementara sekitar 5% sisanya adalah sinar UV-B (280

hingga 320 nm). Sinar UV-B, yang hanya dapat menembus lapisan epidermis dan dermis papilaris, merupakan penyebab utama kerusakan langsung pada DNA, peradangan, serta penurunan fungsi sistem imun (Brahmanti & Puspitasari, 2023).

Matriks metaloproteinase (MMP) merupakan faktor penting dalam *photoaging*. Ekspresi *MMP* diinduksi dan diaktifkan hanya setelah kulit terpapar UV dan terbentuk *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Stres oksidatif meningkatkan regulasi *MMP* termasuk *MMP-1*, *MMP-3*, *MMP-9*, dan *MMP-13* melalui pengikatan *Activator Protein-1 (AP-1)* ke *MMP*. Sitokin pro inflamasi juga meningkatkan regulasi *MMP* dan menurunkan serat elastin kolagen dermal. Peningkatan *MMP* kemudian menyebabkan degradasi *Engine Control Module (ECM)* dan penurunan produksi kolagen serta biosintesis prokolagen (Brahmanti & Puspitasari, 2023). Fibroblas yang diradiasi UV mengekspresikan peningkatan sekresi *MMP-1* melalui mitogen-activated protein kinase dan aktivasi *AP-1*. Oleh karena itu, peningkatan aktivitas *MMP-1* merupakan indikator penting penuaan seluler dan perubahan kulit terkait usia. Penurunan kadar protein *MMP-1* dapat mencegah perubahan kulit terkait usia dengan mencegah degradasi kolagen, elemen dasar kulit yang terkait dengan munculnya kerutan (Lee *et al.*, 2023).

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- κ B)*. *MAPK* akan membentuk *c-Fos* dan *c-Jun*. *c-Jun* dalam kombinasi dengan *c-Fos* membentuk faktor transkripsi *AP-1*. Aktivasi faktor transkripsi *AP-1* dan *NF- κ B* 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). Oleh karena itu, kedua faktor transkripsi yaitu *AP-1* maupun *NF- κ B*, keduanya terlibat dalam proses *photoaging* (Gromkowska-Kępa *et al.*, 2021).

Senyawa *ROS* menghambat aktivitas *RPTPs* dengan mengikat sistein di situs katalitik *RPTPs*, meningkatkan *RTK* terfosforilasi dan memicu penurunan berbagai sinyal termasuk aktivasi *MAPK* dan *NF- κ B* serta faktor transkripsi (*AP-1*). *NF- κ B* dan *AP-1* yang teraktivasi akan menekan produksi kolagen dan meningkatkan transkripsi gen *Matrix Metalloproteinases (MMPs)*, yang mengakibatkan penurunan kadar kolagen pada kulit yang mengalami penuaan. Peningkatan produksi *ROS* mengaktifkan jalur *MAPK* yang merangsang produksi *AP-1*. Proses transkripsi *AP-1* mengatur *MMPs* yang menentukan komposisi dan jumlah matriks ekstraseluler di dermis (Sutanto *et al.*, 2023).

Minyak atsiri adalah minyak yang berasal dari tumbuhan dan memiliki sifat mudah menguap. Pada suhu kamar, minyak ini berwujud cair dan cepat menguap (Azizah & Qotrunnada, 2022). Minyak atsiri adalah minyak yang memiliki sifat mudah menguap dan mengeluarkan aroma khas. Kandungan ini disebabkan oleh sifat aktif biologis minyak atsiri dari beberapa tanaman, yang berfungsi sebagai antioksidan dan antibakteri (Gunawan & Karda, 2015). Antioksidan adalah senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul reaktif, sehingga dapat mengurangi kerusakan sel (Hidayah *et al.*, 2021).

Kosmetika telah dikenal sejak berabad-abad lalu, namun pada abad ke-19, penggunaan kosmetik mulai mendapat perhatian lebih, tidak hanya untuk kecantikan tetapi juga untuk kesehatan. Salah satu jenis produk kosmetik yang berkembang pesat belakangan ini adalah serum kosmetik yang mengandung bahan alami dengan sifat antioksidan. Formulasi serum ini sangat cocok digunakan pada kulit wajah di usia 18 tahun, karena pada usia tersebut, paparan sinar ultraviolet, polusi, dan radikal bebas cukup tinggi. Berdasarkan minat masyarakat yang semakin meningkat terhadap perawatan kulit untuk mencegah penuaan dini, kosmetik yang mengandung bahan alami dengan zat aktif antioksidan sangat diperlukan. Antioksidan berfungsi untuk menetralkan radikal bebas yang bersifat reaktif menjadi bentuk yang tidak reaktif dan lebih stabil, sehingga dapat melindungi kulit dari dampak buruk radikal bebas (Febriani *et al.*, 2022). Salah satu

bahan alam yang mengandung antioksidan yakni tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.).

Tanaman widuri adalah jenis tanaman yang mudah ditemukan karena tumbuh liar di daerah dataran rendah. Tanaman ini merupakan semak yang banyak berkembang di wilayah dengan iklim tropis (Zahara *et al.*, 2023). Daun tanaman widuri telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati berbagai kondisi, seperti kudis, luka, sariawan, gatal akibat cacar air, campak, demam, dan batuk (Faradilla & Maysarah, 2019). Daun widuri mempunyai sejumlah aktivitas farmakologi seperti antiasma, sedatif, antidiare, antioksidan dan antiinflamasi (Handoyo & Rahman, 2024).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Bele, (2022) pemberian ekstrak daun widuri dosis 100 mg/kg berat badan dan 150 mg/kg berat badan dapat menurunkan kejadian nekrosis lambung, degenerasi dan inflamasi. Pada peneliti Safrida *et al.*, (2021) menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang diperoleh dari ekstrak daun biduri pada konsentrasi 50% sebesar 9,16 mm termasuk dalam kategori sedang, pada konsentrasi 35% sebesar 8,66 mm termasuk dalam kategori sedang, konsentrasi 20% sebesar 8,16 mm termasuk dalam kategori sedang, pada ketoconazole suspensi sebesar 11,83 mm termasuk dalam kategori kuat dan pada aquadest sebesar 0 mm yang tidak memiliki daya hambat.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Amresh & Sathyamurthy, (2019) yang terdapat dalam ekstrak metanol daun *Calotropis gigantea* L. mengandung alkaloid, flavonoid, tanin/fenol, saponin, steroid, terpenoid, karbohidrat, asam amino dan protein. Jumlah polifenol yang terdapat dalam ekstrak daun *Calotropis gigantea* L. adalah 101,39 mg/ml yang mana asam ellagic berkontribusi sebesar 25%. Asam ellagic merupakan antioksidan alami serta agen antimikroba dan karenanya daun *Calotropis gigantea* L. memiliki nilai pengobatan yang tinggi. Jumlah total antioksidan yang ada dalam ekstrak metanol daun *Calotropis gigantea* L. ditemukan sebesar 2 mg/ml yang mungkin disebabkan oleh adanya sejumlah polifenol seperti flavonoid dan antosianin. Hingga saat ini, penelitian yang secara spesifik mengevaluasi potensi minyak atsiri daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) dalam menghambat ekspresi enzim *MMP-1* sebagai agen anti-aging masih belum

ditemukan. Hal ini menunjukkan adanya peluang untuk mengkaji lebih lanjut khasiat daun widuri, terutama dalam aplikasi dermatologis untuk mengatasi kerusakan kulit akibat paparan sinar UV-B.

Penelitian *in vivo* memerlukan penggunaan hewan coba untuk memungkinkan pengamatan dan studi terhadap proses yang terjadi pada makhluk hidup. Salah satu hewan yang sering digunakan dalam penelitian adalah marmut. Marmut dipilih karena memiliki daya tahan tubuh yang baik, hewan ini umumnya lebih jarang sakit dibandingkan dengan kelinci (Hasibuan *et al.*, 2018). Marmut jantan lebih sering dipilih dalam penelitian untuk menghindari pengaruh hormon estrogen, progesteron, dan *Melanocyte Stimulating Hormone* (MSH), yang memiliki kadar lebih tinggi pada marmut betina (Fithria *et al.*, 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas, perlu dilakukanya penelitian mengenai aktivitas serum minyak atsiri daun widuri (*Calotrophis gigantea* L.) dalam menghambat ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang diinduksi sinar UV-B dengan harapan hasil penelitian dapat menambah informasi mengenai potensi tanaman widuri khususnya bagian minyak atsiri dari daun sebagai agen antioksidan dalam menghambat ekspresi *MMP-1* pada kulit yang mengalami *photoaging*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah komponen senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri daun widuri (*Calotropis gigantea* L.)?
2. Apakah serum minyak atsiri dari daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) dapat menghambat ekspresi *MMP-1* sebagai anti-aging pada kulit marmut (*Cavia procellus*) yang diinduksi sinar UV-B?
3. Apakah terdapat perbedaan antara serum dengan konsentrasi 2, 6, dan 10% dalam menghambat ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang diinduksi sinar UV-B?

1.3 Tujuan penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, yang menjadi tujuan penelitian dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri daun widuri (*Calotropis gigantea L.*).
2. Untuk membuktikan apakah serum minyak atsiri dari daun widuri (*Calotropis gigantea L.*) memiliki potensi untuk menghambat ekspresi *MMP-1* sebagai anti-aging pada kulit marmut (*Cavia procellus*) yang diinduksi sinar UV-B.
3. Untuk mengetahui perbedaan efektivitas serum dengan konsentrasi 2, 6, dan 10% dalam menghambat ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang diinduksi oleh paparan sinar UV-B.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat teoritis

Secara teoritis, penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tambahan terutama para peneliti di bidang farmasi mengenai peranan minyak atsiri daun widuri (*Calotrophis gigantea L.*) sebagai antioksidan serta aktivitasnya dalam menghambat ekspresi *MMP-1* sebagai anti-aging.

1.4.2 Manfaat praktis

Secara praktis, penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat bagi masyarakat dalam memanfaatkan minyak atsiri daun widuri (*Calotrophis gigantea L.*) sebagai antioksidan alami.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.)

2.1.1 Klasifikasi tanaman

Menurut (Bhandari *et al.*, 2019) tanaman widuri (*Calotropis gigantea* L.) memiliki klasifikasi ilmiah secara taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantea</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionata</i>
Superdivision	: <i>Spermatophyta</i>
Division	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridea</i>
Order	: <i>Gentianales</i>
Family	: <i>Apocynacea</i>
Subfamily	: <i>Asclepiadoideae</i>
Genus	: <i>Calotropis</i>
Species	: <i>gigantea</i>



Sumber: Gambar Pribadi

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

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

Calotropis gigantea L. Tanaman ini, yang dikenal dengan nama widuri, biduri, rubek, atau rubik, banyak ditemukan di daerah yang mengalami musim kemarau panjang, seperti padang rumput kering, lereng gunung rendah, dan pantai berpasir (Faradilla & Maysarah, 2019). Tanaman ini mudah ditemukan karena tumbuh liar di daerah dataran rendah sebagai semak, terutama di wilayah dengan iklim tropis. Tanaman ini telah lama dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, seperti untuk mengatasi sakit gigi, masuk angin, batuk, dan asma (Zahara *et al.*, 2023). Daun widuri mempunyai sejumlah aktivitas farmakologi seperti antiasma, sedatif, antidiare, antioksidan dan antiinflamasi (Handoyo & Rahman, 2024).

Tanaman widuri banyak ditemukan di lahan yang belum dimanfaatkan, bahkan di beberapa daerah, keberadaannya dianggap sebagai gulma. Biduri merupakan tanaman asli dari Afrika tropis dan Asia Tenggara yang mudah ditemukan di Indonesia, Filipina, Kamboja, Malaysia, Sri Lanka, Thailand, dan Cina. Tanaman ini biasanya tumbuh di daerah dengan iklim panas dan kering, di tempat terbuka yang mendapatkan sinar matahari penuh, serta di lahan marginal, tanah tandus atau kering, tanah berpasir, atau di sekitar pantai. Tanaman ini juga dapat tumbuh di celah-celah bebatuan tanaman lain sulit berkembang (Ahmad *et al.*, 2021).

Calotropis gigantea L. berupa semak tegak yang bercabang banyak dengan tinggi sekitar 1-5 meter. Akar tanaman berbentuk silinder, berkelok-kelok, dan sering bercabang, dengan bagian luar berwarna abu-abu kekuningan dan bagian dalamnya berwarna putih seperti keramik. Panjang akarnya sekitar 90 cm dengan diameter 2,5-10 cm. Kulit akar tanaman ini pendek, melengkung, dan terkadang terpotong-potong berduri, dengan ketebalan 2-5 mm dan lebar 3-5 cm, serta memiliki rasa pahit yang khas, mirip lendir. Daunnya tunggal, menyirip, berlawanan, sub-sessile, dan bertangkai. Bentuk daun lonjong, bulat telur terbalik, hingga bulat telur terbalik lebar, dengan ukuran panjang 5-30 cm dan lebar 2,5-15,5 cm. Bunga tanaman ini lengkap, biseksual, memiliki braktea, berstruktur akinomorf, dengan lima bagian yang simetris, serta hipoginous dan pedunkulasi.

Kelopak bunga terdiri dari lima sepal yang menyatu pendek di pangkal. Mahkota bunga berbentuk gamopetalous. Buahnya sederhana, berdaging, membengkak, dan berbentuk agak bulat atau oval miring. Biji tanaman ini berukuran sekitar 6 × 5 mm, pipih, padat, dengan pappus putih halus (Jahan *et al.*, 2016).

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

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Amresh & Sathyamurthy, (2019) ekstrak etanol daun widuri mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, steroid, karbohidrat, asam amino, dan protein. Tidak semua bagian tanaman widuri mengandung flavonoid. Flavonoid pada tanaman ini hanya bisa ditemukan pada bagian daun dan bunga sedangkan getah dan kulit akarnya tidak mengandung metabolit sekunder tersebut (Handoyo & Rahman, 2024).

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Timilsina *et al.*, (2020) ekstrak metanol dan heksana dari daun *Calotropis gigantea* L. dibuat dengan metode ekstraksi *soxhlet*. Metanol digunakan untuk mengekstrak berbagai senyawa polar dan heksana untuk senyawa non-polar. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida, flavonoid dan terpenoid. Ekstrak metanol dan heksana daun widuri memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Studi fitokimia pada *Calotropis Gigantea* L. telah menghasilkan beberapa jenis senyawa seperti kardenolida, triterpenoid, alkaloid, resin, antosianin dan enzim proteolitik dalam lateks, flavonoid, tanin, sterol, saponin, glikosida jantung. Namun daun *Calotropis gigantea* L. memiliki lima zat kimia utama metil γ -karbolin-1-karboksilat, dehidrovomifoliol, pleuron, kalotropagenin, dan kalotoksin (Bhandari *et al.*, 2019).

2.2 Ekstraksi

2.2.1 Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Metode ekstraksi berdasarkan prinsip kelarutan *like dissolves like*, pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, sementara pelarut

non-polar akan melarutkan senyawa non-polar. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik atau memisahkan senyawa dari simplisia atau campuran tersebut. Pemilihan metode ekstraksi dilakukan dengan mempertimbangkan jenis senyawa, pelarut yang digunakan, serta peralatan yang tersedia (Syamsul *et al.*, 2020).

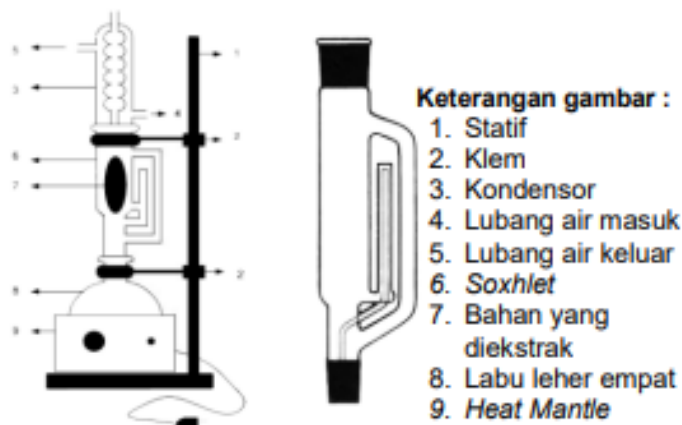
Pengambilan bahan aktif dari tanaman dapat dilakukan melalui proses ekstraksi. Ekstraksi adalah proses pemisahan bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut, di mana kandungan kimia yang larut dipisahkan dari bahan yang tidak larut. Beberapa faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi, antara lain jumlah pelarut dan durasi ekstraksi. Jumlah pelarut menjadi faktor penting karena volume pelarut harus cukup untuk melarutkan senyawa yang akan diekstraksi.

2.2.2 Ekstraksi *soxhlet*

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah suatu cara pemisahan zat dari campurannya dengan pemanasan, pelarut yang digunakan akan mengalami sirkulasi. Dibandingkan dengan metode maserasi, ekstraksi *soxhlet* cenderung menghasilkan ekstrak yang lebih banyak (Wijaya *et al.*, 2019). Metode *soxhlet* adalah metode ekstraksi dengan pemanasan yang dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah lebih banyak, menggunakan pelarut lebih sedikit (efisiensi bahan), waktu ekstraksi yang lebih cepat, dan memastikan sampel diekstraksi secara menyeluruh karena prosesnya dilakukan berulang-ulang. Selain itu, teknik ini tidak menghilangkan aktivitas biologis meskipun dilakukan pemanasan, sehingga sangat berguna dalam pencarian senyawa aktif untuk obat (Puspitasari & Proyogo, 2017).

Ekstraksi menggunakan *soxhlet* merupakan salah satu metode terbaik untuk memisahkan senyawa bioaktif dari bahan alami. Metode ekstraksi *soxhlet* memiliki sejumlah keunggulan dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya, yaitu sampel dapat berinteraksi dengan pelarut murni secara berulang, dan kemampuan ekstraksinya lebih tinggi meskipun dengan jumlah pelarut yang lebih sedikit (Wijaya *et al.*, 2022). Metode *soxhlet* sangat efektif untuk mengekstrak minyak, karena hampir 99% minyak yang ada dalam sampel dapat diekstraksi. Selain itu, metode ekstraksi *soxhlet* menghasilkan rendemen tertinggi, yaitu sekitar 33-35%, jika dibandingkan dengan metode fluida superkritis dan distilasi

uap (Sudaryanto *et al.*, 2016). Metode *soxhlet* biasanya digunakan untuk mengekstrak senyawa fenolik dan minyak dari tanaman (Zhang *et al.*, 2023).



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

Gambar 2.2: Alat *soxhlet*

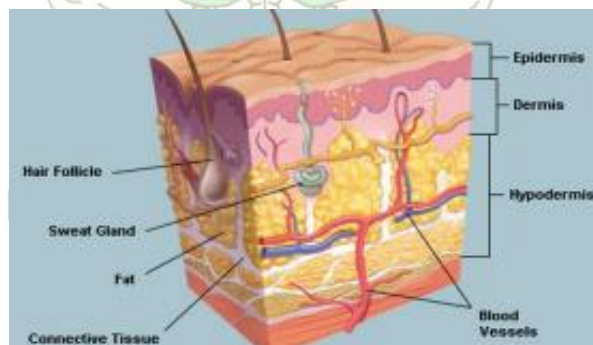
Pada penelitian yang dilakukan oleh Timilsina *et al.*, (2020) ekstrak metanol dan heksana dari daun dan batang *Calotropis gigantea L.* dibuat dengan metode ekstraksi *soxhlet*. Metanol digunakan untuk mengekstrak berbagai senyawa polar dan heksana untuk senyawa non-polar. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya metabolit sekunder seperti alkaloid, glikosida, flavonoid dan terpenoid.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Wong *et al.*, (2014), metode destilasi yang umum digunakan adalah destilasi uap. Proses ini memanfaatkan air sebagai pelarut, sehingga menghasilkan produk yang relatif aman, tidak menyebabkan iritasi dan tidak menghasilkan uap berbahaya saat dilepaskan ke lingkungan. Namun, jumlah minyak atsiri yang diperoleh melalui destilasi uap lebih sedikit dibandingkan dengan metode ekstraksi *soxhlet*. Hal ini disebabkan oleh suhu yang lebih rendah dalam destilasi uap dibandingkan dengan ekstraksi *soxhlet*, suhu yang lebih tinggi dapat mempercepat penguapan pelarut. Ekstraksi *soxhlet* menggunakan pelarut dengan titik didih lebih rendah daripada air, seperti etanol yang digunakan dalam penelitian ini, yang merupakan zat yang mudah menguap. Selama proses ekstraksi, sebagian minyak menempel pada tabung pengumpul,

sementara sebagian lainnya melekat pada corong pemisah saat pemisahan minyak dari air.

2.3 Kulit

Kulit adalah organ tubuh yang paling luas, dengan berat total antara 2,7 hingga 3,6 kg dan menerima sekitar sepertiga volume darah tubuh. Ketebalan kulit bervariasi antara 0,5 hingga 6,0 mm, yang terdiri dari sel-sel dan matriks ekstraseluler. Struktur kulit terdiri dari tiga lapisan utama yaitu epidermis sebagai lapisan terluar yang tipis, dermis sebagai lapisan tebal di bagian dalam, dan di bawah dermis terdapat jaringan lemak subkutan (hipodermis). Jaringan hipodermis adalah jaringan ikat longgar yang terletak di bawah dermis. Kulit manusia memiliki berbagai fungsi penting, terutama sebagai pertahanan pertama tubuh yang melindungi dari berbagai elemen lingkungan eksternal. Ketika kulit terluka, integritas pertahanannya terganggu, yang dapat menjadi pintu masuk bagi mikroorganisme seperti bakteri dan virus. Selain itu, kulit juga berperan dalam kesehatan mental dan kondisi sosial manusia (Sayogo *et al.*, 2017).



Sumber: Sayogo *et al.*, (2017, Gambar 1)

Gambar 2.3: Struktur kulit

Kulit adalah organ tubuh manusia yang terletak dibagian paling luar dan merupakan yang terbesar, berfungsi sebagai pelindung tubuh dari pengaruh lingkungan serta dapat mencerminkan kondisi kesehatan seseorang. Perawatan yang baik dapat membuat kulit terlihat sehat, terawat, dan memancarkan

kesegaran. Kulit memiliki struktur jaringan epitel yang kompleks, bersifat elastis dan sensitif, serta memiliki jenis dan warna yang bervariasi, yang dipengaruhi oleh faktor seperti iklim, ras, jenis kelamin, dan usia (Haerani *et al.*, 2018).

Kulit merupakan pertahanan pertama dalam menghadapi mikroorganisme di lingkungan sekitar, kulit terdiri dari tiga lapisan jaringan yang mempunyai fungsi dan karakteristik berbeda. Ketiga lapisan tersebut yaitu lapisan epidermis, lapisan dermis, dan lapisan subkutan (Ervina *et al.*, 2017).

2.3.1 Epidermis

Lapisan ini adalah lapisan kulit yang paling tipis dan terluar. Lapisan epidermis memiliki peran penting dalam kosmetika karena memberikan tekstur, kelembapan, serta warna pada kulit. Sel utama yang menyusun lapisan epidermis adalah keratinosit, yang diproduksi oleh lapisan sel basal. Ketika keratinosit matang, mereka akan bergerak ke lapisan di atasnya. Lapisan epidermis dibagi menjadi lima lapisan yaitu:

1. Lapisan sel basal (*stratum basale*) adalah lapisan terendah dari epidermis yang terletak di atas lamina basalis, pada perbatasan antara epidermis dan dermis. Sel-selnya memiliki bentuk kuboid. Fungsi utama lapisan sel basal adalah melindungi epidermis dengan cara terus-menerus memperbarui sel-selnya. Lapisan ini mengandung banyak keratinosit, serta sel melanosit yang berfungsi untuk mensintesis melanin, dan sel merkel yang berperan dalam sensasi sentuhan.
2. Lapisan sel prickle (*stratum spinosum*) adalah lapisan kedua dari bawah setelah lapisan sel basal. Lapisan ini terdiri dari sel-sel kuboid atau sedikit gepeng, dengan inti terletak di tengah dan sitoplasma yang memiliki cabang-cabang berisi berkas filament. Sel-sel ini berbentuk polihedral dengan inti bulat, yang merupakan hasil pembelahan sel basal yang bergerak ke atas dan saling terhubung melalui desmosom.
3. Lapisan sel granuler (*stratum granulosum*) adalah lapisan yang mengandung butiran atau granula keratohialin di dalam sel-selnya. Lapisan ini terdiri dari 3-5 lapis sel poligonal yang gepeng, dengan sitoplasma yang mengandung granul basofilik kasar. Pada lapisan ini, sel-selnya berbentuk

datar dan tidak memiliki inti. Granula keratohialin mengandung profilagrin, yang akan berubah menjadi filagrin dalam waktu dua hingga tiga hari. Filagrin kemudian akan terdegradasi menjadi molekul yang berperan dalam hidrasi pada stratum korneum dan membantu penyerapan radiasi sinar ultraviolet.

4. Lapisan lusidum terlihat lebih jelas pada kulit yang tebal. Lapisan ini bersifat translusen dan terdiri dari lapisan tipis sel epidermis eosinofilik yang sangat gepeng.
5. Lapisan sel tanduk (*stratum korneum*) adalah lapisan paling luar dari epidermis. Lapisan ini terdiri dari 15-20 lapis sel gepeng yang berkeratin dan tidak memiliki inti, dengan sitoplasma yang dipenuhi oleh skleroprotein filamentosa birefringen, yaitu keratin. Pada lapisan ini, keratinosit yang sudah matang akan menjalani proses keratinisasi. Lapisan ini berfungsi memberikan perlindungan mekanik pada kulit serta bertindak sebagai penghalang untuk mencegah kehilangan air dari kulit, atau yang dikenal dengan transepidermal *water lost*.

2.3.2 Dermis

Lapisan ini terletak di antara epidermis dan subkutan, dengan ketebalan yang lebih besar dibandingkan epidermis. Ketebalan lapisan epidermis dapat bervariasi tergantung usia, semakin bertambahnya usia, ketebalan dan kelembapan kulit cenderung menurun. Lapisan dermis mengandung saraf, pembuluh darah, dan kelenjar keringat. Komponen utama penyusun lapisan ini adalah fibroblas, yang berperan dalam sintesis kolagen, elastin, dan glikosaminoglikan. Fungsi utama dermis meliputi menghubungkan lapisan epidermis dan subkutan, melindungi kulit dari kerusakan eksternal, serta menjaga integritas dan kekuatan struktur kulit.

Dermis terdiri atas 2 lapisan dengan batas yang tidak nyata, *stratum papillare* di sebelah luar dan stratum retikular yang lebih dalam, yaitu:

1. *Stratum papillar* adalah bagian dari dermis yang terdiri dari jaringan ikat longgar, fibroblas, serta berbagai sel jaringan ikat lainnya, seperti sel mast dan makrofag. Pada lapisan ini, terdapat serabut kolagen khusus yang

menyusup ke dalam lamina basalis dan meluas ke dermis. Serabut kolagen ini berfungsi untuk mengikat dermis dengan epidermis dan dikenal sebagai serabut penambat.

2. *Stratum retikular*, adalah bagian dermis yang terdiri dari jaringan ikat padat tak teratur, terutama kolagen tipe I. Lapisan ini memiliki lebih banyak serat dan lebih sedikit sel dibandingkan dengan stratum papilar. Dermis pada lapisan ini kaya akan jaring pembuluh darah dan limfa. Pada area tertentu, darah dapat mengalir langsung dari arteri ke vena melalui anastomosis atau pirau arteriovenosa, yang berperan penting dalam pengaturan suhu tubuh. Selain itu, lapisan dermis ini juga mengandung beberapa turunan dari epidermis, seperti folikel rambut, kelenjar keringat, dan kelenjar sebacea.

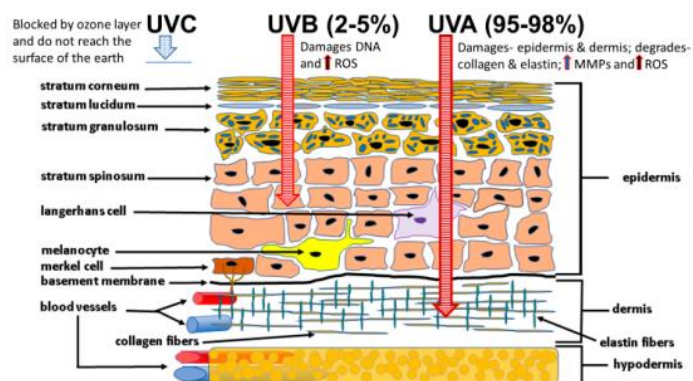
2.3.3 Hipodermis

Lapisan ini berada di bawah dermis dan dikenal sebagai lapisan subkutan atau hipodermis. Tersusun atas jaringan ikat longgar dan lemak, dengan adiposit sebagai sel utamanya. Adiposit adalah sel mesenkimal khusus yang berfungsi menyimpan lemak sebagai sumber energi penting bagi tubuh. Jumlah dan ukuran sel-sel lemak ini bervariasi tergantung pada lokasi tubuh serta status gizi seseorang. Jika lapisan subkutan cukup tebal, sering disebut sebagai panikulus adiposus. Selain itu, kulit juga memiliki struktur tambahan yang dikenal sebagai appendiks kulit, meliputi kuku, rambut, kelenjar sebacea, kelenjar ekrin, dan kelenjar apokrin.

2.4 Sinar ultraviolet

2.4.1 Definisi sinar ultraviolet

Sinar UV Sinar UV adalah gelombang elektromagnetik yang dipancarkan oleh matahari. Tidak semua sinar ultraviolet mencapai permukaan bumi, karena sebagian besar berhasil diserap oleh lapisan ozon. Namun, beberapa jenis sinar UV tertentu dapat menembus hingga ke bumi. Sinar ultraviolet ini terbagi menjadi tiga jenis utama, yaitu UV-A, UV-B, dan UV-C, yang masing-masing memiliki manfaat serta efek yang berbeda-beda (Afivah *et al.*, 2023).



Sumber: Lephart (2018, Gambar 2)

Gambar 2.4: Lapisan kulit manusia yang dipengaruhi oleh radiasi UV

Radiasi matahari yang mencapai tubuh manusia telah melalui beberapa proses filtrasi alami oleh ozon, uap air, serta gas lainnya. Meskipun demikian, paparan yang terlalu lama tetap dapat menimbulkan dampak berbahaya. Terlebih lagi, jika seluruh radiasi tersebut mengenai tubuh tanpa adanya penyaringan, risikonya akan semakin besar. Sinar ultraviolet (UV) dianggap sebagai jenis radiasi berbahaya karena dikaitkan dengan berbagai masalah kesehatan, termasuk penyakit kulit dan kanker.

Tabel 2.1 Jenis sinar ultraviolet (UV)

No.	Sinar UV	Panjang Gelombang (nm)
1.	UV A	315-400
2.	UV B	280-325
3.	UV C	100-280

Sumber: Kurniawan & Rudy, (2021)

2.4.2 Jenis-jenis sinar ultraviolet

1. Sinar UV-A memiliki panjang gelombang antara 320 nm hingga 400 nm dan tingkat energi yang rendah. Sekitar 95% sinar UV-A mampu menembus hingga ke permukaan bumi. Paparan UV-A dapat menyebabkan perubahan warna kulit menjadi coklat tanpa menimbulkan kemerahan (Adzhani *et al.*, 2022).

2. Sinar UV-B memiliki panjang gelombang antara 290 nm hingga 320 nm. Gelombang ini lebih pendek namun memiliki tingkat energi yang tinggi. Sebagian sinar UV-B mencapai permukaan bumi, terutama yang panjang gelombangnya mendekati UV-A. Jenis ini dikenal sebagai wilayah eritemogenik, yang dapat menyebabkan rasa nyeri akibat sengatan matahari (*sunburn*) dan memicu reaksi awal pembentukan melanin pada kulit (Adzhani *et al.*, 2022).
3. Sinar UV-C dengan panjang gelombang 10 nm hingga 290 nm, memiliki gelombang terpendek dan energi paling tinggi. Namun, sinar UV-C tidak mencapai permukaan bumi karena diserap oleh lapisan ozon, uap air, oksigen, dan karbon dioksida. Lapisan ozon efektif menyerap gelombang ultraviolet yang lebih pendek. Jika lapisan ozon menipis, sinar UV-C yang berbahaya dan memiliki energi tinggi dapat mencapai bumi, berpotensi menimbulkan dampak negatif bagi kehidupan manusia (Adzhani *et al.*, 2022).

Dari ketiga sinar UV tersebut yang paling memiliki efek berbahaya/membakar adalah UV-C, namun untungnya saat mencapai permukaan bumi yang mengenai tubuh hanya UV-A, karena hampir seluruh UV-C terhalang oleh ozon sedangkan UV-B hampir 90% juga diserap oleh ozon, uap air dan zat lain. Besar kecilnya UV yang diterima tubuh kita juga dipengaruhi beberapa faktor seperti sudut datang sinar matahari, posisi lintang atau semakin ke kutub semakin kecil, banyaknya awan, ketinggian suatu tempat, lapisan ozon, pemantulan dari permukaan bumi (Kurniawan & Rudy, 2021).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Liliana *et al.*, (2017) pemberian krim yang mengandung ekstrak panax ginseng pada kulit tikus wistar yang terpapar sinar UV-B dapat menghambat peningkatan ekspresi *MMP-1* dan mencegah penurunan jumlah kolagen. Hal ini menunjukkan potensi panax ginseng sebagai agen anti-penuaan kulit akibat paparan UV-B.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ekawati & Wulandari, (2021) pemberian suplementasi astaxanthin menunjukkan efek perlindungan

terhadap kulit dengan menekan ekspresi *MMP-1* dan meningkatkan sintesis kolagen dibandingkan dengan kelompok kontrol. Astaxanthin memiliki potensi sebagai agen anti-penuaan yang efektif untuk melindungi kulit dari kerusakan akibat radiasi UV.

2.4.3 Manfaat dan kerugian sinar ultraviolet

Sinar ultraviolet memiliki berbagai manfaat untuk manusia, seperti meningkatkan produksi vitamin D, memperkuat sistem kekebalan tubuh, mengobati penyakit kulit, mencegah depresi, dan mengurangi risiko kanker. Namun, selain manfaatnya sinar UV juga dapat memberikan dampak negatif pada kulit, antara lain menyebabkan kemerahan yang disebabkan oleh sinar UV-B yang bisa mengiritasi kulit, kulit terbakar, munculnya eritema yang mengakibatkan kulit memerah dan bengkak, serta menyebabkan kerutan pada kulit sehingga kulit menjadi kurang elastis (Afivah *et al.*, 2023).

2.5 Serum

2.5.1 Pengertian serum

Serum adalah sediaan dengan viskositas rendah yang mengandung bahan aktif dalam jumlah lebih banyak dan sedikit pelarut, sehingga memiliki konsentrasi yang lebih tinggi. Keunggulan dari serum adalah konsentrasi bahan aktif yang tinggi, yang memungkinkan penyerapan cepat ke dalam kulit, memberikan efek yang lebih cepat terasa, serta mudah menyebar di permukaan kulit, sehingga lebih aman dan efektif dalam penggunaannya (Handayani *et al.*, 2023). Serum adalah produk cair dengan konsistensi sedikit kental, biasanya berwarna transparan atau semi transparan, yang terasa ringan saat digunakan pada kulit. Serum mengandung konsentrasi bahan aktif tinggi, seperti antioksidan dan eksfoliator. Produk ini efektif untuk mengatasi masalah kulit seperti flek hitam, garis halus, kulit kering, serta membantu memudahkan bekas jerawat (Pratiwi *et al.*, 2021).

2.5.2 Monografi bahan

1. Natrosol/Hydroxyethyl Cellulose

Hidroksietil selulosa adalah bubuk higroskopis berwarna putih, putih kekuningan, atau putih keabu-abuan, tanpa bau dan rasa. Sebagai polimer nonionik yang larut dalam air, hidroksietil selulosa sering digunakan dalam formulasi farmasi. Fungsinya meliputi agen pelapis, agen pensuspensi, pengikat dalam tablet dan kapsul, serta zat penambah viskositas (Rowe *et al.*, 2020).

2. DMDM Hydantoin

DMDM hydantoin adalah pengawet yang umum digunakan dalam industri kosmetik. Dengan spektrum antimikroba yang luas, DMDM hydantoin sangat larut dalam air dan stabil pada berbagai rentang pH serta suhu. Konsentrasi yang dipilih biasanya berada dalam kisaran 0,1-1%, yang dianggap efektif dan aman untuk digunakan dalam produk kosmetik (Sutjahjokartiko, 2017).

3. Gliserin

Gliserin adalah cairan bening, tidak berwarna, tidak berbau, kental, dan bersifat higroskopis dengan rasa manis. Dalam formulasi sediaan farmasi dan kosmetik topikal, gliserin berfungsi sebagai humektan dan emolien dengan konsentrasi yang umumnya tidak lebih dari 30% (Rowe *et al.*, 2020).

4. Ethoxydiglycol

Ethoxydiglycol adalah cairan dengan bau lembut dan menyenangkan, bersifat higroskopis. Bahan ini digunakan sebagai pelarut dalam produk perawatan kulit dan rambut, berfungsi untuk melarutkan bahan aktif, sebagai humektan, dan mengurangi viskositas formulasi. Ethoxydiglycol umumnya digunakan pada konsentrasi 1-10% (Rahayu, 2021).

2.6 Marmut

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

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



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

Gambar 2.5: Marmut (*Cavia porcellus*)

Marmut (*Cavia porcellus*) telah digunakan sebagai hewan percobaan dalam berbagai bidang, termasuk biomedis, epidemiologi, dan farmasi, sejak abad ke-16. Hewan ini dikenal karena sifatnya yang jinak, ukurannya yang sedang, serta kesamaan fisiologisnya dengan manusia. Beberapa kesamaan antara marmut dan manusia termasuk ketidakmampuan untuk mensintesis vitamin C secara endogen, serta memiliki kulit yang mengandung melanosit epidermal aktif (berpigmen), mirip dengan manusia (Alvianti & Fitria, 2023). Marmut adalah hewan pengerat atau rodensia yang terkenal di seluruh dunia dan banyak dipelihara oleh peternak. Selain digunakan sebagai hewan peliharaan untuk jenis marmut hias, marmut lokal juga dimanfaatkan sebagai sumber daging. Disamping itu, marmut sering

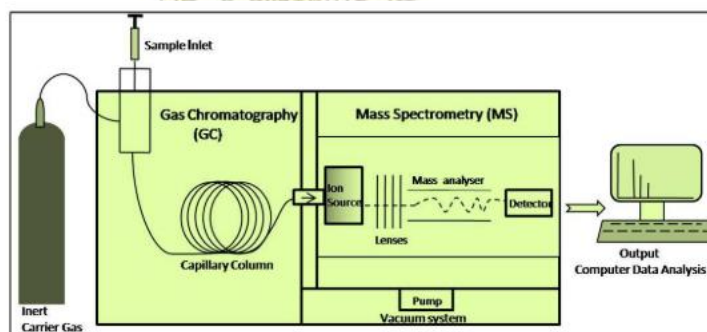
digunakan dalam percobaan ilmiah. Hewan ini memiliki ketahanan tubuh yang baik, cenderung lebih jarang sakit dibandingkan dengan kelinci. Namun, kondisi kandang yang kurang bersih, kebersihan tubuh yang terabaikan, dan kontak antara marmut sehat dengan marmut yang sakit dapat menyebabkan masalah kesehatan pada marmut, seperti kudis atau scabies (Hasibuan *et al.*, 2018).

Marmut (*Cavia porcellus*) adalah hewan pengerat yang berkerabat dekat dengan landak dan chinchilla. Asal-usulnya berasal dari daerah pegunungan dan padang rumput di sepanjang Pegunungan Andes di Amerika Selatan. Marmut adalah hewan herbivora krepuskular yang kecil, kekar, dan tidak menggali, memiliki kaki pendek dan ekor yang sangat kecil atau bahkan tidak ada sama sekali. Berat tubuhnya berkisar antara 700 hingga 1200 gram, dengan betina cenderung lebih kecil daripada jantan (Hickman *et al.*, 2017). Marmut dapat dimanfaatkan sebagai model hewan dalam penelitian dermatologi dan kedokteran estetika karena kulitnya memiliki karakteristik yang mirip dengan kulit manusia, seperti ketebalan, keberadaan melanosit, serta melanosom di epidermis, dan respons terhadap radiasi UV-B. Meskipun marmut banyak ditemukan di Indonesia, mereka belum banyak digunakan dalam penelitian. Salah satu alasannya adalah karena belum ada fasilitas yang mengembangkan marmut secara komersial untuk keperluan riset. Sebagian besar masyarakat lebih sering memelihara marmut sebagai hewan peliharaan (Fitria & Gunawan, 2024).

Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sofiana *et al.*, (2017) dilakukan penelitian untuk menguji efektivitas krim ekstrak biji markisa (*Passiflora edulis*) dalam menghambat peningkatan jumlah melanin pada kulit marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UV-B. Penelitian ini menggunakan 30 ekor marmut jantan berusia 6-8 bulan dengan berat badan 250-300 gram. Hasil penelitian menunjukkan bahwa krim ekstrak biji markisa memiliki efektivitas yang setara dengan krim hidrokuinon 4% dalam mengurangi jumlah melanin pada kulit marmut yang terpapar UV-B, menunjukkan potensi ekstrak biji markisa dalam perawatan kulit. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Sitanggang, (2019) yaitu krim astaxanthin 0,02% dapat mencegah peningkatan jumlah melanin kulit marmut yang dipapar sinar UVB dengan efektivitas yang sama dengan krim hidrokuinon 4%.

2.7 Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)

Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan kromatografi gas dengan spektrometri massa. Kromatografi gas digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah saat dipanaskan. Sementara itu, spektrometri massa digunakan untuk menentukan bobot molekul, rumus molekul, serta menghasilkan ion bermuatan yang membantu dalam identifikasi dan analisis senyawa. Teknik ini sangat berguna dalam menganalisis komponen-komponen kimia dalam sampel yang kompleks (Hotmian *et al.*, 2021). Teknik *GC-MS* memiliki ketajaman tinggi, memungkinkan pemisahan senyawa yang tercampur serta analisis senyawa dalam konsentrasi rendah. *GC-MS* dapat mendeteksi konsentrasi obat di bawah 1 µg/L dalam waktu yang relatif singkat. Senyawa yang dapat dianalisis dengan *GC-MS* adalah yang memiliki sifat mudah menguap. Sementara itu, untuk senyawa yang sulit menguap, proses derivatisasi perlu dilakukan sebelum dianalisis dengan *GC-MS* (Nuriah *et al.*, 2023).



Sumber: Ranjan Maji *et al.*, (2023, Gambar 1)

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

Dasar pemisahan menggunakan kromatografi gas adalah penyebaran cuplikan pada fase diam sedangkan gas sebagai fase gerak mengelusi fase diam. Cara kerja dari *GC* adalah suatu fase gerak yang berbentuk gas mengalir di bawah tekanan melewati pipa yang dipanaskan dan disalut dengan fase diam cair atau dikemas dengan fase diam cair yang disalut pada suatu penyangga padat. Spektrometer massa diperlukan untuk identifikasi senyawa sebagai penentu bobot

molekul dan penentuan rumus molekul. Prinsip dari *MS* adalah pengionan senyawa-senyawa kimia untuk menghasilkan molekul bermuatan atau fragmen molekul dan mengukur rasio massa/muatan (Darmapatni *et al.*, 2016). Prinsip dari *GC-MS* adalah pemisahan komponen-komponen dalam campuran dengan kromatografi gas dan tiap komponen dapat dibuat spectrum massa dengan ketelitian yang lebih tinggi. Hasil pemisahan dengan kromatografi gas dihasilkan kromatogram, sedangkan hasil pemeriksaan spektrometri massa masing-masing senyawa disebut spectrum (Sipahelut, 2019).

Metode *GC-MS* adalah teknik yang menggabungkan kromatografi gas untuk memisahkan solut-solut yang mudah menguap, dan spektrometri massa untuk analisis senyawa. Prinsip dasar spektrometri massa adalah menghasilkan ion dari senyawa anorganik atau organik, memisahkan ion berdasarkan *mass-to-charge ratio* (m/z), dan mendeteksinya secara kualitatif dan kuantitatif berdasarkan m/z dan kelimpahannya. Keunggulan dari metode *GC-MS* antara lain yaitu efisiensi tinggi, resolusi yang sangat baik untuk analisis partikel kecil, aliran gas yang terkontrol dengan kecepatan konstan, waktu analisis yang cepat, tidak merusak sampel, serta sensitivitas yang tinggi untuk memisahkan dan menganalisis senyawa dalam konsentrasi rendah. Namun, metode ini juga memiliki beberapa kekurangan, seperti hanya dapat digunakan untuk senyawa yang mudah menguap, tidak dapat memisahkan campuran dalam jumlah besar, dan fase gerak yang tidak reaktif terhadap fase diam serta zat terlarut (Candraningrat *et al.*, 2021).

2.8 Minyak atsiri

Minyak atsiri atau yang sering disebut minyak eteris (*ethereal oil* atau *volatile oil*), merupakan senyawa alami yang berasal dari tumbuhan. Minyak ini memiliki karakteristik unik, seperti kemampuan menguap dengan mudah pada suhu kamar tanpa mengalami kerusakan. Rasanya cenderung getir dan memiliki aroma khas yang sesuai dengan tumbuhan penghasilnya. Minyak atsiri umumnya dapat larut dalam pelarut organik namun tidak dapat larut dalam air. Selain itu, minyak ini terkenal karena sifatnya yang kuat sebagai antibakteri dan antijamur (Sari *et al.*,

2023). Minyak atsiri dapat bersumber pada setiap bagian tanaman yaitu dari daun, bunga, buah, biji, batang atau kulit dan akar atau *rhizome* (Berlian *et al.*, 2023).

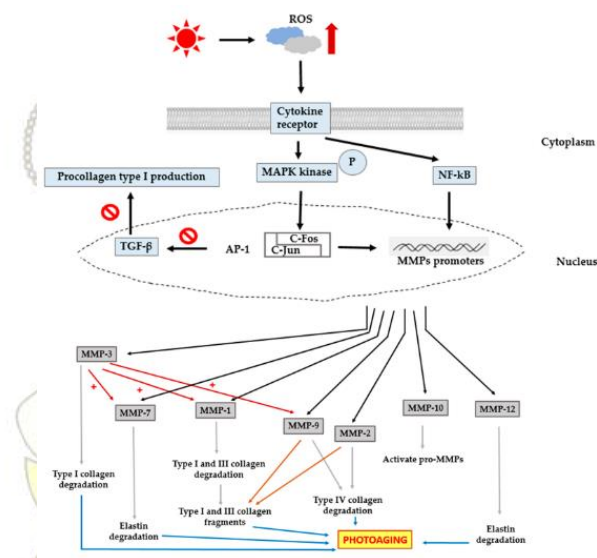
Minyak atsiri adalah cairan yang diperoleh dari bagian tanaman aromatik melalui proses ekstraksi. Cairan ini menjadi sumber bahan penting dalam berbagai industri, seperti farmasi, kosmetik, dan makanan. Ekstraksi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa metode, termasuk hidrodistilasi, ekstraksi *microwave* tanpa pelarut, distilasi uap, gelombang mikro hidrodifusi dan gravitasi, serta hidrodistilasi dengan bantuan enzim. Metode yang digunakan dapat mempengaruhi sifat dan kualitas minyak atsiri, sehingga pemilihan proses ekstraksi yang tepat sangat penting. Ketidaktepatan dalam memilih metode dapat menyebabkan kerusakan serta perubahan aktivitas fitokimia dalam minyak atsiri (Siswantito *et al.*, 2023).

Minyak atsiri adalah salah satu metabolit sekunder dari tanaman yang berbentuk minyak dengan karakteristik yaitu mudah menguap (*volatile*). Kandungan utama dari minyak atsiri yang dimiliki hampir seluruh tanaman adalah terpen, aseton, fenol, aldehid, alkohol, ester, asam (Aprilia *et al.*, 2021). Pelarut yang dapat digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri antara lain alkohol, heksana, benzena, toluena, kloroform, petroleum eter, dietil eter, dan etil asetat. Komponen minyak atsiri bersifat non-polar, sehingga pelarut yang digunakan untuk mengekstrak komponen minyak atsiri dipilih yang juga bersifat non-polar (Iskandar *et al.*, 2019). Komponen utama minyak atsiri adalah terpenoid dan non-terpenoid (terutama fenilpropanoid). Monoterpenoid dan seskuiterpenoid 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, dan fenol (Siddiqui *et al.*, 2024).

2.9 Matriks Metaloproteinase-1 (MMP-1)

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. Spesies oksigen reaktif intraseluler berlebih yang diinduksi UV mengaktifkan *Mitogen Activated Protein Kinase* (*MAPK*) dan *Nuclear Factor Kappa-B* (*NF-κB*), yang berpuncak pada regulasi transkripsi *MMP*, dan mengakibatkan degradasi kolagen dan elastin, yang selanjutnya memicu penuaan dini. Selain degradasi kolagen dan elastin, *AP-1* menghambat pensinyalan *Transforming Growth Factor Beta* (*TGF-β*), yang menyebabkan penurunan sintesis prokolagen (Pittayapruek *et al.*, 2016).



Sumber : Pittayapruek *et al.*, (2016, Gambar 1)

Gambar 2.7: Peran *MMP* dalam penuaan dini

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. *Matriks metaloproteinase* (*MMP*) berperan penting dalam proses *photoaging*. Paparan sinar UV pada kulit memicu pembentukan *ROS* (*Reactive Oxygen Species*), yang kemudian menginduksi dan mengaktifkan ekspresi *MMP*. Stres oksidatif meningkatkan ekspresi *MMP*, seperti

MMP-1, *MMP-3*, *MMP-9*, dan *MMP-13*, melalui aktivasi faktor transkripsi *AP-1*. Selain itu, sitokin pro-inflamasi juga berkontribusi dengan meningkatkan ekspresi *MMP* dan mengurangi elastisitas serat kolagen dermis. Aktivitas *MMP* yang meningkat menyebabkan degradasi *matriks ekstraseluler (ECM)*, penurunan produksi kolagen, dan gangguan biosintesis prokolagen. Dengan demikian, pengembangan inhibitor *MMP* dianggap sebagai strategi yang menjanjikan untuk terapi anti-aging (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-1</i> <i>MMP-8</i> <i>MMP-13</i>	Degradasi kolagen tipe I dan III Terbatas Terbatas
Gelatinase	<i>MMP-2</i> <i>MMP-9</i>	Degradasi kolagen tipe IV Degradasi kolagen tipe IV
Stromelysin	<i>MMP-3</i> <i>MMP-10</i> <i>MMP-11</i>	Degradasi kolagen tipe I Antivasi pro <i>MMP</i> -
Matrilysin	<i>MMP-7</i> <i>MMP-26</i>	Degradasi elastin -
Tipe membran	<i>MMP-14</i> <i>MMP-15</i> <i>MMP-16</i> <i>MMP-17</i> <i>MMP-24</i> <i>MMP-25</i>	- - - - - -
Tipe lain	<i>MMP-12</i> <i>MMP-19</i> <i>MMP-20</i> <i>MMP-21</i> <i>MMP-22</i> <i>MMP-23</i> <i>MMP-28</i>	Degradasi elastin - - - - - -

Sumber: Pittayapruek et al., (2016)

Paparan UV-A dan UV-B dapat memicu stres oksidatif yang menyebabkan kerusakan genetik sementara maupun permanen, meningkatkan regulasi aktivitas *AP-1*, serta mendorong peningkatan ekspresi *MMP*. Paparan UV akut sementara memicu peningkatan ekspresi tiga jenis *MMP*, yaitu *MMP-1*, *MMP-3*, dan *MMP-*

9, dengan sumber utama dari epidermis. Sementara itu, kerusakan kulit akibat paparan kronis sinar UV mengakibatkan peningkatan ekspresi tujuh jenis *MMP*, yakni *MMP-1*, *MMP-2*, *MMP-3*, *MMP-9*, *MMP-11*, *MMP-17*, dan *MMP-27*, yang sebagian besar berasal dari fibroblas dermis (Murlistyarini & Amalia, 2022).

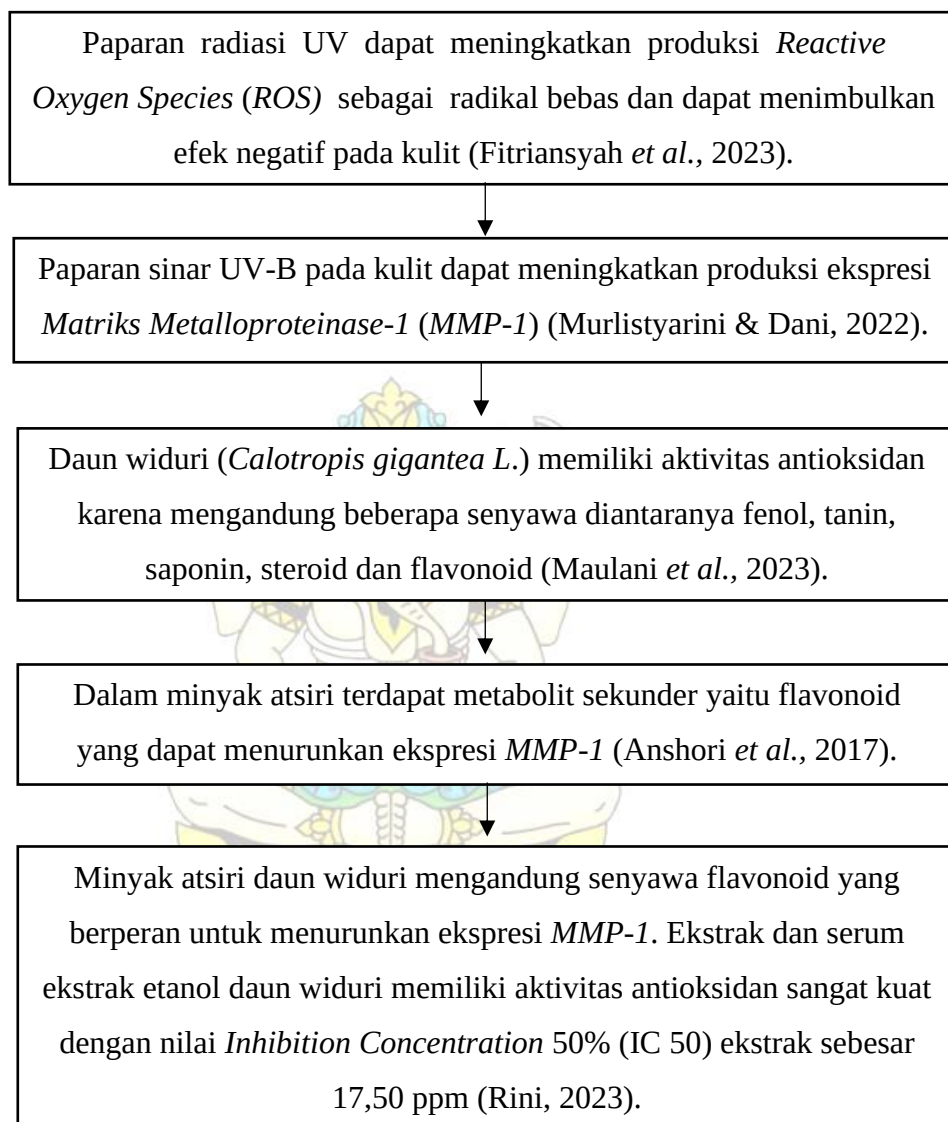
2.10 Imunohistokimia (IHC)

Imunohistokimia (IHC) adalah metode penting yang digunakan oleh ahli patologi untuk memvisualisasikan distribusi dan jumlah molekul tertentu dalam jaringan melalui reaksi antigen-antibodi spesifik. IHC semakin berkembang dengan penemuan lebih banyak molekul yang terlibat dalam patogenesis, diagnosis, dan pengobatan penyakit. Salah satu keunggulan IHC adalah kemampuannya untuk melaksanakan uji tanpa merusak struktur histologis jaringan, yang memungkinkan penilaian pola ekspresi molekul dalam konteks lingkungan mikro jaringan. Hal ini sangat penting dalam analisis molekul target bersama dengan hubungan subseluler dan interseluler, yang semakin dihargai dalam penelitian biomedis, pengembangan obat, dan biomarker prognostik. Sebagai ahli patologi, pemahaman menyeluruh tentang prosedur dan interpretasi IHC, serta berbagai jebakan dan kiatnya, sangat penting. Keberhasilan dalam aplikasi ini dapat meningkatkan ketepatan diagnosis dan pemahaman penyakit yang lebih dalam, memberikan dampak signifikan pada penelitian dan pengobatan (Kim *et al.*, 2016).

Imunohistokimia (IHC) adalah metode untuk mendeteksi molekul atau komponen dalam sel atau jaringan dengan menggunakan prinsip reaksi antigen-antibodi. Teknik ini memanfaatkan antibodi spesifik yang dilabel dengan zat yang dapat terlihat, tanpa mengubah kemampuan antibodi untuk membentuk kompleks dengan antigen target. IHC sering digunakan untuk menentukan lokasi dan jenis protein (antigen) dalam sel atau jaringan, serta untuk menganalisis pola ekspresi biomarker seperti ER (Estrogen Receptor) dan PR (Progesterone Receptor). Metode ini sangat berguna dalam penelitian dasar untuk mengetahui distribusi dan lokasi biomarker atau protein yang terekspresi di berbagai jaringan tubuh (Fauziah *et al.*, 2018).

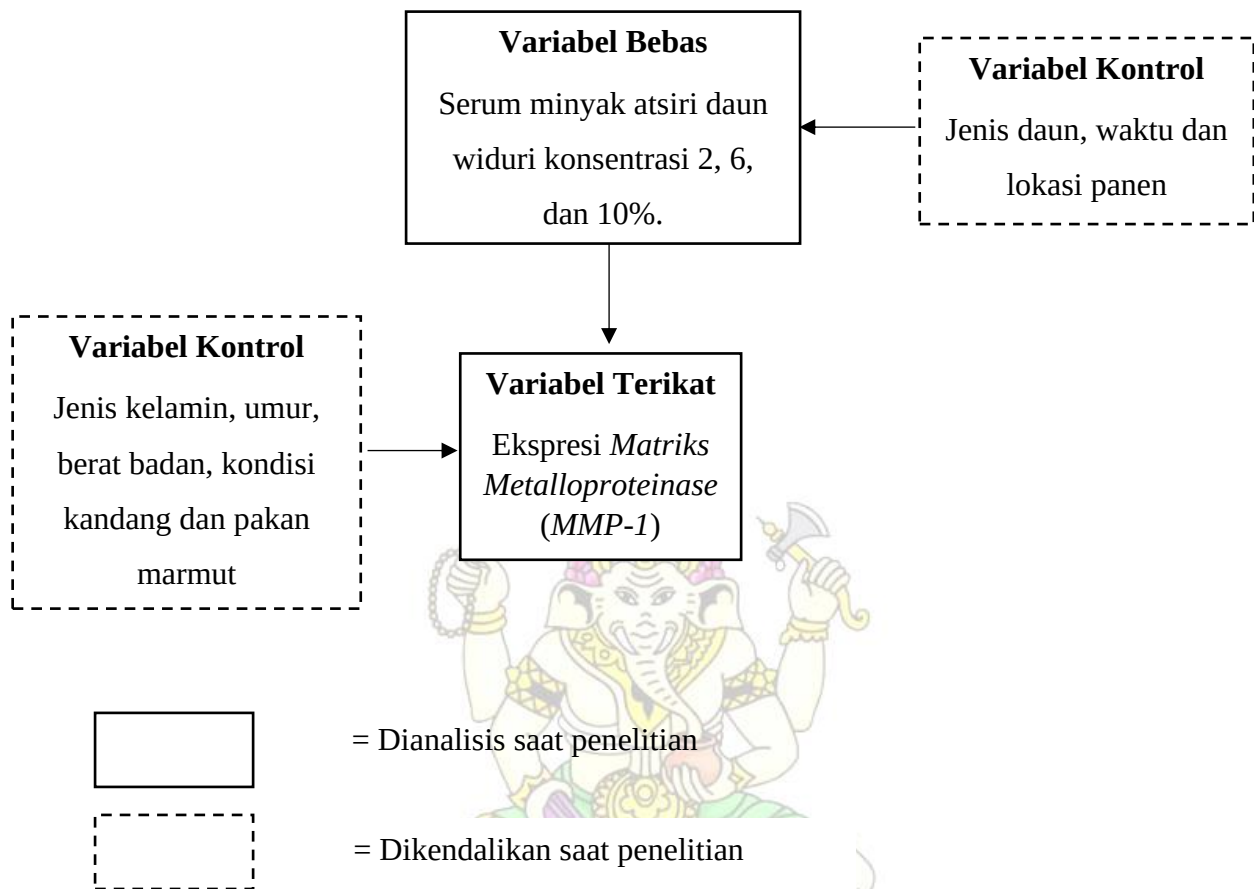
2.11 Kerangka konseptual

2.11.1 Kerangka teori



Gambar 2.8: Kerangka teori

2.11.2 Kerangka konsep



Gambar 2.9: Kerangka konsep

2.12 Hipotesis

Berdasarkan kerangka berpikir serta kajian pustaka, maka dibuatlah hipotesis penelitian yaitu, diduga serum minyak atsiri daun widuri (*Calotropis gigantea* L.) sebagai anti-aging dapat menghambat ekspresi *MMP-1* pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang diinduksi sinar UV-B dibandingkan dengan kontrol.

