

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Definisi Kulit

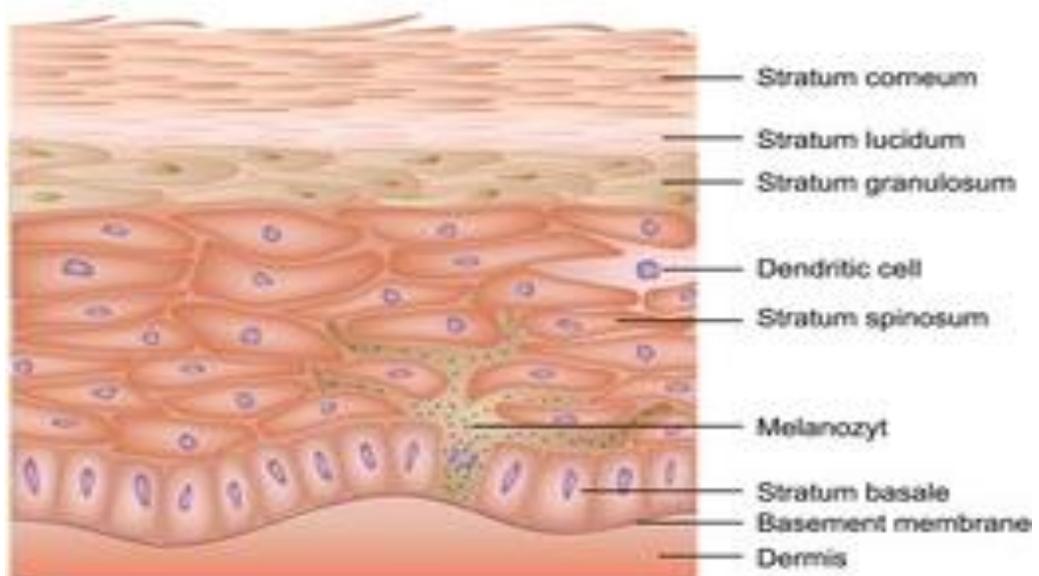
Kulit, terutama kulit wajah, yaitu salah satu bagian tubuh yang mungkin bersentuhan dengan produk kosmetik tertentu. Fungsi utama kulit adalah sebagai penghalang pelindung, mengingat itu adalah organ yang terbuka. Pada orang dewasa, kulit menyumbang 14-16% dari total massa (Mustikawati, 2017).

Beberapa mekanisme biologis, termasuk pengaturan suhu tubuh, proses biokimia, produksi sebum dan keringat, dan pembentukan pigmen melanin yang melindungi kulit dari efek radiasi UV, berkontribusi pada fungsi utama kulit sebagai pengatur suhu dan penghalang pelindung. (Mustikawati, 2017).

Bagian dan Struktur kulit

1. Epidermis

Stratum germinativum, spinosum, granulosum, lucidum, dan korneum adalah bagian dari epidermis, lapisan terluar kulit. Keratinisasi terjadi dalam sistem malpighian, dan melanosit diproduksi dalam sistem pigmentasi (Kalangi, 2014).



(Kalangi, 2014)

2. Dermis

Dermis adalah lapisan kulit yang paling tebal dan paling banyak. Jumlah papila berkisar antara 50-250/mm². Sebagian besar kulit Anda terdiri dari dermis. Dermis memiliki papila, yang dapat berjumlah 50 hingga 250 per milimeter persegi., pada bagian papilla yang terdapat dibagian bawah epidermis terdapat serat kolagen yang merupakan reseptor yang peka terhadap sentuhan ringan atau disebut badan maissner yang mana papilla berarti papilla mengandung saraf sensoris dan memiliki stratum retikuler yang mana sel mengandung butir-butir pigmen dan sebat kolagen kasar (Mustikawati, 2017).

2.2 Radiasi Sinar UV

Radiasi UV dapat mengakibatkan masalah yang terjadi pada kulit terjadi karena intensitas paparan yang berlebih, mulai dari kulit kemerahan, pigmentasi kulit, bahkan pada jangka Panjang dapat menyebabkan resiko kanker. Faktor lingkungan atau faktor eksternal yang dapat mempengaruhi proses penuaan pada kulit (*aging*) adalah paparan sinar matahari. Radikal bebas berdampak pada proliferasi sel secara terus menerus dikarenakan radikal bebas yang telah dihasilkan menjadi penyebab kerusakan DNA sehingga menjadi awal terbentuknya kanker. UV dibagi lagi menjadi UVA, UVB, dan UVC berdasarkan panjang gelombang.

UVA memiliki Panjang gelombang 315-400nm dan dapat menembus sampai ke lapisan dermis kulit. Energi dari panjang gelombang UVA dapat berubah pada keadaan yang tidak stabil karena diserap oleh kromofor, lalu energi yang dikeluarkan ditransfer pada molekul oksigen terdekat untuk menghasilkan O_2 setelah keadaan kembali stabil. Kromofor kulit seperti sitokrom, riboflavin, heme, dan porfirin reaktif terhadap sinar UVA.

UVB memiliki Panjang gelombang 290-320nm, aktivitas biologis UVB dapat menembus lapisan epidermis kulit. Energi yang dihasilkan UVB dapat bekerja dengan perantara ROS menyebabkan kerusakan DNA. Induksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) terjadi pembentukan 8-hidroksiguanin hasil dari modifikasi nukleotida guanin, basa pirimidin yang teroksidasi, dan pemutusan rantai tunggal dan mengakibatkan terjadinya kerusakan DNA.

Karena panjang gelombangnya yang pendek, UVC (yang memiliki jangkauan 200-290nm) diserap sepenuhnya oleh lapisan ozon dan tidak pernah mencapai permukaan bumi (Andarina & Djauhari, 2017; Sari, 2015).

2.3 Photoaging

Sinar ultra violet (UV) dari matahari bisa mempercepat proses penuaan kulit, suatu proses yang dikenal sebagai *photoaging*. Mekanisme seluler proses terjadinya penuaan kulit yaitu karena pengaruh ROS dalam sel hal ini membuktikan dari beberapa teori bahwa *Photoaging* merupakan suatu proses yang sangat kompleks. *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan produk sampingan dari respirasi seperti logam berat yang ada dalam beberapa modifikasi seluler, zat oksidan maupun radiasi pengion.

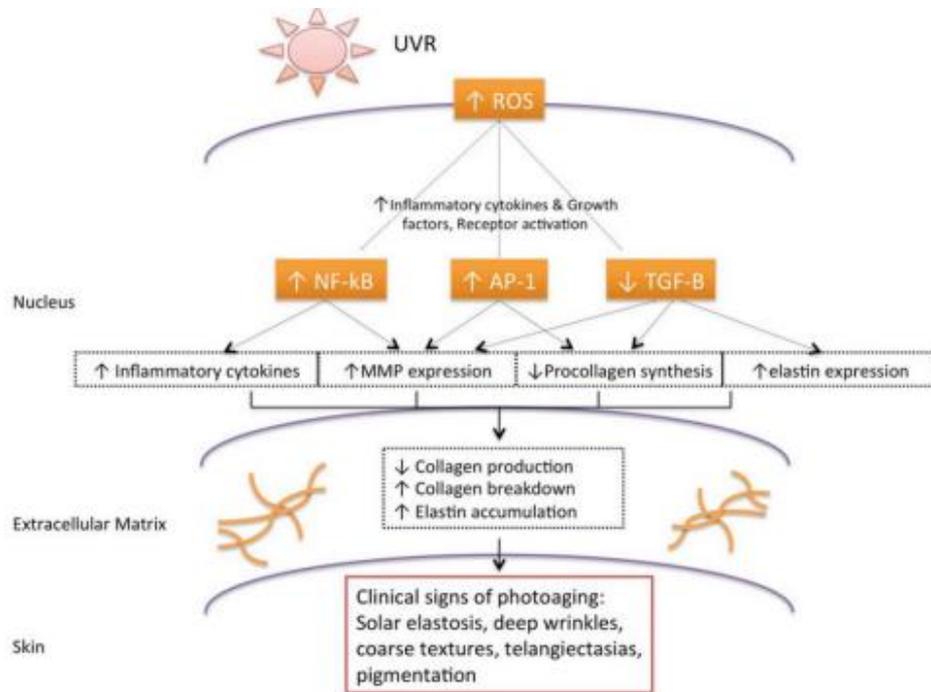
Sel-sel yang menua menjadi lebih rentan terhadap kerusakan karena penurunan aktivitas antioksidan dan peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS). Meskipun enzim antioksidan endogen seperti superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx), dan glutathione reductase (GR) dapat menghilangkan spesies oksigen reaktif (ROS), ketidak seimbangan antara oksidan dan antioksidan dapat mempengaruhi stres oksidatif (Kim, dkk.2016).

Faktor eksternal penyebab penuaan kulit (*photoaging*) yaitu peningkatan produksi matrik metalloproteinase (MMP) melalui pembentukan ROS yang mengredasi kulit yaitu karena paparan UVA. Paparan UVA menyebabkan efek biologis yaitu seperti kehilangan elastisitas pada kulit, keratosis atau penebalan pada kulit, pada efek jangka panjang paparan UVA akan terjadi kanker menoma dan penuaan dini dan menyebabkan kulit terbakar tetapi UVA lebih lemah jika dibandingkan dengan UVB (Andarina & Djauhari, 2017).

Reactive oxygen species (ROS)

Pada **Gambar 2.2** Reactive Oxygen Species (ROS) berperan dalam photoaging karena memicu stres oksidatif, yang pada gilirannya memicu ekspresi sitokin proinflamasi dan faktor pertumbuhan. Transforming growth factor (TGF), nuclear factor-kappa B (NF-kappa B), dan hypoxia-inducible factors (HIFs) semuanya diregulasi sebagai akibat dari ekspresi ini. Koaktivator transkripsi MAPK diaktifkan oleh spesies oksigen reaktif, menyebabkan faktor transkripsi c-Jun dan c-FOS diproduksi (mitogen-activated protein kinase). Berkaitan dengan transkripsi faktor aktivator protein 1, induksi ini mengaktifkan aktivitasnya (AP-1). Matrix metalloproteinases (MMPs) seperti MMP-1, MMP-3, MMP-8, dan MMP-9 diregulasi oleh activator protein-1 (AP-1), nuclear factor kappa B (NF-), dan transforming growth factor. Secara kolektif, perubahan ini menyebabkan penurunan produksi kolagen, peningkatan kerusakan kolagen, dan akumulasi elastin dalam matriks

ekstraseluler, yang semuanya berkontribusi pada efek penuaan dari paparan cahaya (Chen dkk., 2012).



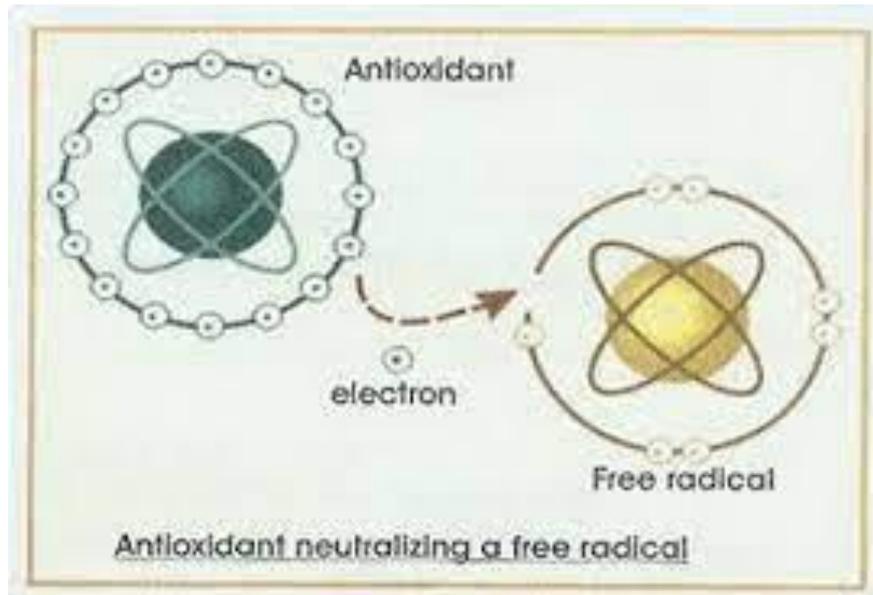
Gambar 2. 1 Dampak *reactive oxygen species* (ROS) dalam *photoaging*

Efek seluler dan klinis *reactive oxygen species* (ROS) berpotensi menyebabkan mutasi DNA, peroksidasi lipid, dan oksidasi protein. Pada tingkat klinis, ROS berperan dalam fotoaging, immunosupresi, dan fotokarsinogenesis. (Chen dkk., 2012).

2.4 Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang mencegah oksidasi zat lain dan dengan demikian melindungi sel dari kerusakan yang disebabkan oleh molekul yang tidak stabil yang disebut radikal bebas (Halliwell dan Whitemann, 2015).

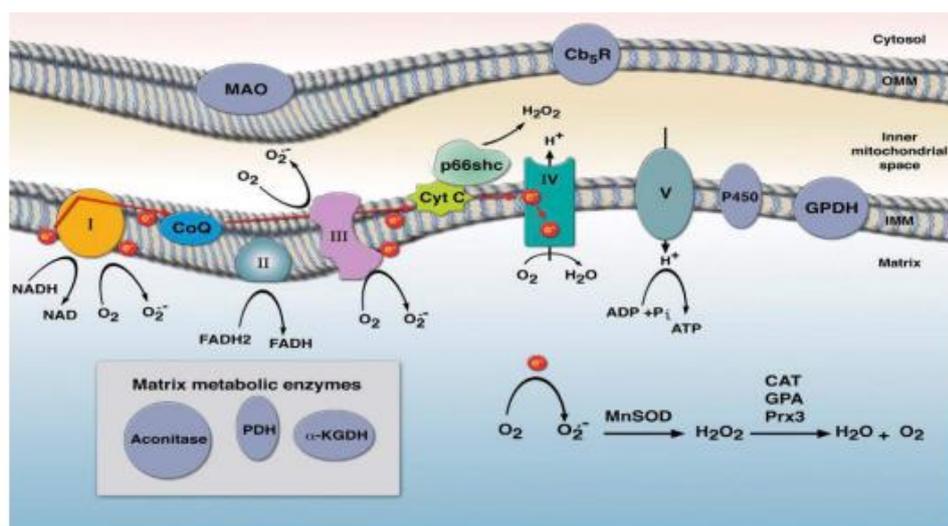
Antioksidan enzimatik seperti superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase dapat membantu menetralkan H₂O₂ (GPx). Dalam superoksida dismutase, ia mengkatalisis pembentukan hidrogen peroksida, spesies oksigen reaktif yang kurang reaktif (ROS), dan kemudian katalase dan glutathione peroksidase menguraikan H₂O₂ menjadi air dan oksigen. (Andarina, 2017).



Gambar 2. 2. Antioksidan

Pada Gambar 2.3 Antioksidan mampu menstabilkan molekul radikal bebas dengan menyumbangkan elektron kepada mereka, yang mencegah mereka menjadi lebih reaktif dengan mencuri elektron dari molekul lain. (Bolduc dkk., 2019).

Mekanisme dari antioksidan yaitu menggolongkan radikal bebas dengan cara menjadikan radikal bebas netral secara langsung, memperbaiki membrane yang teroksidasi, mengurangi konsentrasi peroksida, Fe mengurangi produksi ROS melalui metabolisme asam lemak bebas rantai dan metabolisme lipid juga ester kolestrol menetralkan ROS (Berger, 2005).



Gambar 2. 3. Mekanisme kerja antioksidan

Radikal superoksida (O_2^-) pertama-tama direduksi menjadi superoksida dismutase, kemudian menjadi NAD, PADH, dan akhirnya PADH₂, sebelum direduksi menjadi H_2O oleh mangan superoksida dismutase (MnSOD). (Parwata, 2016).

Metalloenzymes, yang merupakan enzim antioksidan, mengkatalisis dismutasi radikal anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2), yang kemudian dinetralkan oleh enzim katalase menjadi air dan oksigen, masing-masing, di mitokondria. mitokondria glutathione peroksidase (Ihnat et al., 2007).

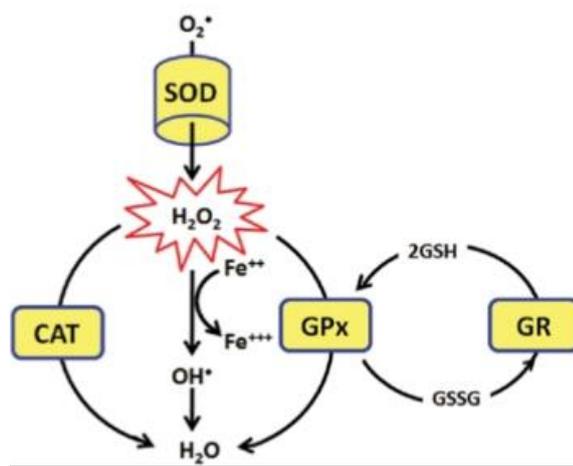
2.5 Enzim katalase

Hampir setiap jenis mikroorganisme mengandung enzim katalase (CAT). Katalase (CAT) merupakan enzim yang dapat ditemukan hampir disemua mikroorganisme. Katalase memiliki gugus porforin atau disubstitusikan dengan hemoprotein tersusun lebih dari 500 asam amino yang merupakan enzim antioksidan endogen berperan untuk mencegah terjadinya stress oksidatif. Pada membran mukosa, ginjal, darah, sumsum tulang terdapat enzim katalase (Ighodaro, 2017).

Katalase yaitu enzim yang membantu mencegah kanker, aterosklerosis, dan kerusakan membran sel yang disebabkan oleh senyawa peroksida, yang semuanya dapat menumpuk di dalam tubuh. Enzim katalase dikelompokkan ke dalam golongan enzim hidroperoksidase (Ighodaro, 2017).

Mekanisme kerja enzim katalase

Enzim superoksida dismutase (SOD) mengubah radikal bebas anion superoksida berbahaya menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) yang tidak berbahaya sebagai bagian dari mekanisme kerja katalase. Kombinasi SOD dan katalase akan memiliki efek sinergis dalam menangkal radikal bebas, karena hidrogen peroksida (H_2O_2) masih merupakan radikal bebas bagi sel dan katalase mengubah H_2O_2 menjadi air dan oksigen, yang sama sekali tidak berbahaya bagi tubuh. Untuk mencegah stres oksidatif dalam sel, enzim katalase mengkatalisis pemecahan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air yang tidak berbahaya. (Kartika, 2008).



Gambar 2. 4. Mekanisme kerja enzim katalase

Pada **Gambar 2.5** menunjukkan bahwa enzim katalase mengkatalisis reaksi dekomposisi hidrogen peroksida (H₂O₂) melalui dua mekanisme aksi, katalitik dan peroksidatif. Dengan memanfaatkan molekul H₂O₂ sebagai substrat atau donor elektron dan molekul H₂O₂ lainnya sebagai oksidan atau akseptor elektron, enzim katalase berperan sebagai antioksidan melalui proses katalitik. H₂O₂ dapat membunuh sel jika enzim katalase tidak mendegradasinya. Oleh karena itu, enzim katalase sangat penting dalam mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang sudah tidak berbahaya. (Ighodaro & Akinloye, 2018).

2.6 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica*)

Tanaman yang dikenal dengan pegagan (*Centella asiatica* L.) ini tidak memiliki batang tetapi hidup bertahun-tahun sebagai herba. Di atas tanah, stolon tanaman ini membentuk roset dengan dua hingga sepuluh daun, menyebar secara horizontal. Tanaman baru pegagan akan mengeluarkan tunas dan akar (Winarto, 2003).

Tanaman *Centella asiatica* L., lebih dikenal sebagai pegagan, telah lama dihargai karena potensinya untuk mengobati sejumlah kondisi dengan dampak moneter yang signifikan. *asiatica* menekan peroksidasi lipid dalam model *in vivo* hiperlipidemia. Pegagan (*Centella asiatica* L.) menghambat hepatotoksisitas yang diinduksi rotenon dengan menghambat peroksidasi lipid *in vivo* (Buranasudja dkk., 2021).



Gambar 2. 5. tanaman pegagan

Kingdom : Plantae
 Super divisi : Spermathophyta
 Divisi : Mangnoliophyta
 Kelas : Dicotydoncac
 Ordo : Apiales
 Family : Apiaceae
 Genus : Centella
 Spesies : *Centella asiatica* L.

(Sutardi, 2017).

Manfaat pegagan (*Centella asiatica* L.)

Asiaticoside, madecasoside, brahmi acid, modasiatic acid, meso-inositol, centellose, carotenoids, garam mineral (kalium, natrium, kalsium, besi), vellarine, tanin, resin, 7 pektin, gula, protein, fosfor, vitamin B, sedikit vitamin C, dan sedikit minyak atsiri semuanya ditemukan di pegagan, yang memiliki efek positif pada kesehatan manusia. (Sutardi, 2017).

Pegagan (*Centella asiatica* L.) mempunyai fungsi yaitu sebagai sumber metbolit sekunder dapat digunakan dalam industri farsmasi dan kosmetik memiliki manfaat terapeutik pada gangguan stress oksidatif dan juga penuaan pada kulit. Karena ketergantungan faktor geologis dan musim dan pengaruh lingkungan, merupakan tanaman liar maka memilki keterbatasan dan juga proses yang kompleks yang memakan banyak

waktu pada produksi senyawa dan penyiapan sari pegagan pemurnian metabolit sekunder (Buranasudja dkk., 2021).

Centelosides yang aktif secara farmakologis, termasuk asiaticoside, centeloside, medacoside, asam asiatic, asam medakasat, dan triterpenic, diisolasi dari tanaman pegagan.(Sutardi, 2017).

Aktivitas biologi dari ekstrak tanaman pegagan yang berasal dari turunan triterpenoid yaitu asam asiatic dan asiaticosida, dan sebagai antiinflamasi, khususnya penyembuhan luka, antioksidan, dan simunostimulan yang berasal dari flavonoid dan minyak atsiri pegagan. Menurut Buranasudja dkk.,2021 pegagan memiliki kandungan B-karoten 0,7 µg/mg ekstrak, tanin 59,7 µg/mg ekstrak, Vitamin C 9,5 ug/mg ekstrak (Buranasudja dkk.,2021).

2.7 Gel

Gel yaitu bahan semipadat yang terdiri dari partikel anorganik mikroskopis dan molekul organik makroskopik yang diselingi dalam cairan. Makromolekul organik adalah blok bangunan gel fase tunggal, dan mereka terdispersi dalam pelarut sehingga ikatan antara mereka dan pelarut tidak mudah terlihat. Makromolekul sintesis seperti karbomer atau gom alami seperti Tragacanth, juga dikenal sebagai musilago, dapat digunakan untuk membuat gel fase tunggal. Fase pembawa gel dapat berupa apa saja dari air dan etanol hingga minyak dan minyak. Obat topikal atau injeksi juga dapat dibuat menjadi gel untuk memudahkan pemberian (USP, 2009).

Gel hidrofobik dan hidrofilik adalah basis gel yang paling umum. Bahan anorganik adalah norma untuk gel hidrofobik. Sangat sedikit interaksi antara dua fase yang terjadi ketika fase pendispersi ditambahkan ke dalamnya. Gel hidrofilik biasanya terdiri dari komponen pengembang atau biasa disebut gel base, air, humektan, dan pengawet, serta merupakan molekul organik besar yang dapat dilarutkan atau digabungkan dengan molekul dari fase pendispersi (USP, 2009).

Setiap agen pembentuk gel yang digunakan dalam formulasi farmasi atau kosmetik harus tidak beracun, tidak reaktif, dan inert. Penting untuk memikirkan ketahanan gel selama penyimpanan dan tekanan yang akan dimiliki gel di dalam tabung saat digunakan ketika memutuskan apakah akan memasukkan bahan pembentuk gel atau tidak. Polisakarida alami dan jenis gel lainnya sangat rentan terhadap kontaminasi mikroba.

Untuk menghindari kontaminasi mikroba dan degradasi sifat asli gel, bahan pengawet harus ditambahkan.

Kekakuan pada gel berasal dari jaringan fase terdispersi, yang menjalin bersama untuk menjebak dan menahan medium pendispersi di dalamnya. Beberapa gel dapat diubah kembali menjadi bentuk sol atau cair dengan mengubah suhu. Selain itu, tiksotropi menggambarkan perilaku beberapa gel, yang menjadi cair setelah dikocok tetapi kemudian membentuk kembali konsistensi aslinya ketika dibiarkan tidak terganggu untuk sementara waktu (Ansel, 1989).

Syarat Gel yang Baik

Gel yang baik harus memenuhi persyaratan sebagai berikut: (Lieberman, 1996)

1. Homogen.

Untuk memastikan bahwa distribusi dosis gel konsisten dengan efek terapeutik yang diinginkan, bahan dasarnya harus mudah larut dalam air atau terdispersi dengan baik.

2. Bahan dasar khusus zat.

Untuk mencapai efek terapeutik yang diinginkan, bahan dasar gel harus memiliki sifat kimia dan fisik yang mirip dengan zat obat. Untuk memudahkan pemindahan dari wadah dan aplikasi ke kulit, sediaan gel harus memiliki viskositas rendah atau menjadi pseudoplastik tiksotropik.

3. Stabil

Sediaan gel harus stabil baik di lingkungan yang lembadan harus tabil pada suhu selama penyimpanan dan selama penggunaan.

Kalsifikasi gel

Sediaan gel sebagian besar terdiri dari air dan bahan pembentuk gel (85-90%). Agen pembentuk gel polimer bertanggung jawab atas konsistensi gel. Menurut Voight, 1994 Gel diklasifikasikan menjadi empat yaitu hidrogel, organogel, gel organik dan ge anorganik. Hidrogel merupakan polimer yang dapat berikatan dengan air atau disebut hidrofilik yang mengandung 85-95% campuran air dan alkohol. Karena adanya pelarut yang menguap hidrogel mempunyai sensai dingin jika dioleskan pada kulit, tidak menyebabkan penyumbatan pori-pori, mempunyai daya lekat yang tinggi serta adanya lapisan film yang transparan pada kulit, mudah dicusci dan tidak menghambat pada fungsi fisiologi kulit.

Mekanisme Pembentukan Gel

Cara kerja pembentukan gel yaitu polimer hidrofilik, atau yang dapat membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan molekul air, adalah bahan penyusun gel dan zat pembentuk gel. Ketika senyawa ini dilarutkan dalam air, sediaan gel atau bahan pembentuk gel mengembang, menyebabkan molekul air menjadi terhidrasi dan terperangkap dalam struktur molekul kompleks gel (Lieberman, 1996).

Parameter kritis dalam proses pembentukan gel adalah:

- a. Dimungkinkan untuk mengembangkan senyawa polimer ketika terdispersi dalam air, tetapi kemampuan untuk melakukannya tergantung pada suhu atau temperatur.
- b. Gel tidak larut oleh pelarut karena sistem gel dapat rusak jika adhesi antara pelarut dan gel lebih kuat daripada kohesi antar gel.
- c. Ada korelasi antara jumlah gelembung udara dalam sistem polimer dan intensitas dan durasi pengadukan.

Jenis Fase Gel

Gel fase tunggal adalah gel di mana makromolekul terdistribusi secara merata seluruh cairan tanpa batas yang jelas antara makromolekul yang terdispersi dan cairan. Massa gel yang terdiri dari flokulan partikel kecil yang berbeda disebut sistem dua fase, sering disebut sebagai magma. Senyawa polimer dapat terbentuk dalam air, tetapi perkembangan ini bergantung pada suhu atau temperatur. Karena adhesi antara pelarut dan gel dapat lebih kuat daripada kohesi antar gel, pelarut tidak mampu melarutkan gel. Pembentukan gelembung dalam sistem polimer sebanding dengan laju agitasi dan waktu.(Ansel dkk, 2014).

Basis Gel

Berdasarkan komposisinya, basis gel dapat dibedakan menjadi basis gel hidrofobik dan basis gel hidrofilik.

- a. Basis gel hidrofobik

Untuk membuat gel hidrofobik, partikel anorganik digunakan sebagai alas bedak. Ketika kental, fase pendispersi hampir tidak bereaksi ketika fase lain ditambahkan ke dalamnya. Bahan hidrofobik, berbeda dengan yang hidrofilik, tidak menyebar dengan sendirinya; sebaliknya, mereka membutuhkan langkah-langkah tambahan untuk bergerak. (Gunarti & Fikayuniar, 2020).

b. Basis gel hidrofilik

Karena afinitasnya terhadap air, basis gel hidrofilik biasanya merupakan molekul organik yang mudah larut atau bergabung dengan molekul fase pendispersi. Secara umum, sistem koloid hidrofilik memiliki stabilitas yang lebih besar dan lebih sederhana untuk membentuk gel. (Maria dkk., 2018)

Stabilitas Sediaan

Agar bisa stabil, maka produk atau sediaan harus mempertahankan kualitas, identitas, kekuatan, dan kemurniannya dari waktu ke waktu dan dalam kondisi yang terkendali, seperti penyimpanan dan penggunaan.

Jika sediaan mempertahankan sifat dan karakteristik yang sama seperti saat pertama kali dibuat selama periode penyimpanan dan penggunaan, maka sediaan tersebut dapat dianggap stabil. (Wistar dkk., 2020).

Tujuan dari pengujian stabilitas kosmetik adalah untuk jaman bahwa pada setiap sediaan atau bahan obat yang telah didistribusikan memenuhi persyaratan yang ditetapkan meskipun pada penyimpanannya sudah cukup lama dan digunakan sebagai penentuan batas kadaluarsa dan cara penyimpanan yang mana perlu dicantumkan pada tabel (Garg dkk., 2002).

Tujuan lainnya dari pengujian stabilitas adalah untuk menentukan kondisi penyimpanan, menentukan masa edar produk, pemilihan formulasi yang sesuai, menyesuaikan berdasarkan stabilitas bentuk penutup pada wadah, dan membuktikan tidak adanya perubahan pada formulasi ataupun pada proses pembuatan yang memberikan efek tidak baik pada stabilitas obat. Jika tidak stabil maka dapat dilihat berdasarkan bentuk fisik obat, tekstur, bau, rasa, warna dari formulasi yang dibuat (Wistar dkk., 2020)

Formulasi Gel

Secara umum komponen gel terdiri atas zat aktif dan basis gel, adapun basis gel tersebut terdiri dari :

1. Bahan dasar gel

bahan dasar gel berasal dari bahan alam dan juga ada yang dibuat dengan cara sintesis. Bahan organik yang bersifat hidrofil atau makromolekul organik yang mempunyai sifat hidrokoloid.

2. Zat Tambahan

Digunakan dalam sediaan gel agar dapat membentuk gel yang baik yang terdiri dari:

a. Pelembab atau humektan

Dikarenakan kadar air pada formulasi gel mudah dipulihkan maka humektan dapat digunakan untuk mengikat air yang terkandung di dalam gel, zat atau bahan ini merupakan bahan atau zat yang dapat mengikat air yang diformulasikan untuk melembabkan dan agar kulit tidak mengering. Contoh bahan humektan yaitu etilen glikol, propilen glikol, gliserin dan sorbitol.

b. Pengemulsi atau suspender

Bahan ini digunakan pada formulasi gel dengan tujuan untuk menjaga stabilitas pada obat. Contoh dari bahan pengemulsi atau suspender yaitu CMC, NaCMC dan contoh bahan stabilisator adalah gliserol, dan propilen glikol.

c. Pengawet

Methylparaben, propylparaben, dan DMDM hydantoin merupakan contoh bahan pengawet yang digunakan dalam formulasi gel yang banyak mengandung air untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme.

d. Pewangi dan pewarna

Pewangi dan pewarna merupakan zat yang digunakan untuk meningkatkan manifestasi pada formulasi gel yang ditambahkan saat proses pembuatan gel. (Nurkaniawati, 2020).

Evaluasi Sediaan Gel

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis merupakan salah satu jenis uji yang menggunakan. Penginderaan didefinisikan sebagai proses fisio-psikologis menjadi sadar, atau mengorientasikan indera seseorang terhadap, karakteristik suatu objek dalam menanggapi rangsangan dari presentasi objek ke indra tersebut. Jika suatu rangsangan diterima oleh panca indera, maka dapat terjadi reaksi mental (sensasi) (stimulus). Tingkat kesan, pengetahuan, dan sikap semuanya dapat diukur melalui apa yang dikenal sebagai ukuran atau penilaian subjektif. Ketika orang yang melakukan evaluasi atau pengukuran memiliki kendali yang signifikan atas hasil, kita berbicara tentang evaluasi subjektif. (Garg dkk., 2002).

b. Viskositas

Prosedur ini mengukur viskositas preparasi, di mana viskositas didefinisikan sebagai resistensi cairan untuk mengalir. Ketika viskositas meningkat, begitu juga jumlah

gesekan yang dihadapi. Tujuan dari uji viskositas suatu zat adalah untuk menghitung nilainya. Semakin tinggi nilai viskositas maka semakin kental zat tersebut. (Garg dkk., 2002).

c. Pengukuran pH

pH gel harus diuji terhadap kisaran alami kulit 5-6,5 untuk melihat apakah itu cocok. (Garg dkk., 2002).

d. Uji daya Sebar

Daya sebar mengacu pada seberapa mudah gel dapat diterapkan pada kulit. Untuk mengetahuinya, sampel gel ditempatkan di tengah dua pelat kaca, dan kemudian bobot ditambahkan ke pelat atas selama jumlah waktu yang telah ditentukan. Ketika beban meningkat, permukaan menyebar adalah hasilnya. Distribusi yang sukses sangat penting untuk kemanjuran obat. Jarak optimal untuk dispersi gel adalah antara 5 sampai 7 cm. (Garg dkk., 2002)..

2.8 Isolasi

Isolasi enzim berkaitan dengan isolasi protein yaitu memisahkan protein dari semua protein lain yang tidak dibutuhkan. Proses isolasi dilakukan agar mendapatkan enzim yaitu melalui beberapa tahapan antara lain penghancuran yang dilakukan secara kimiawi maupun mekanik yang bertujuan untuk mendapatkan protein pada bahan yang digunakan, lalu proses peyaringan yang bertujuan untuk memisahkan residu yang tidak digunakan dan proses sentrifugasi yang bertujuan untuk memisahkan enzim dan protein lainnya yang lebih besar (Setyoko & Utami, 2016).

2.9 Purifikasi

Memurnikan enzim memiliki satu tujuan menyeluruh yaitu meningkatkan kualitas aktivitas enzim yang diekspresikan. Pemurnian enzim memerlukan dua tahap: pemurnian massal dan pemurnian batch. Pengendapan dengan garam amonium sulfat, juga dikenal sebagai salting out, dan proses dialisis adalah dua metode yang dapat digunakan.

A. Presipitasi Amonium Sulfat

Presipitasi amonium sulfat merupakan metode yang banyak digunakan pada proses purifikasi dengan menggunakan prinsip salting out yaitu dengan cara penambahan garam kedalam protein hingga diperoleh larutan yang jenuh pada larutan protein. Karena kekuatan ionik garam meningkat dengan meningkatnya konsentrasi garam, tujuan dari proses ini adalah menggunakan konsentrasi garam yang tinggi untuk menyebabkan pengendapan

protein dengan meningkatkan jumlah molekul air. Garam yang biasa digunakan yaitu amonium sulfat karena bersifat mudah larut, tidak mengubah pH enzim dengan signifikan yang dapat menyebabkan denaturasi pada enzim dan juga memiliki tingkat kemurnian yang tinggi,

Ketika konsentrasi garam rendah, proses yang dikenal sebagai "penggaraman" terjadi, melindungi molekul protein dengan ion garam dan mencegahnya saling menempel sehingga protein tetap larut. Ketika konsentrasi garam tinggi, ion terbentuk yang menaikkan muatan listrik di sekitar protein, menarik lapisan air koloid protein dan menurunkan kelarutan protein karena interaksi hidrofobik antar molekul.

B. Dialisis

Difusi melintasi membran semipermeabel mendorong proses dialisis, yang menghilangkan molekul terlarut dari campuran larutan. Dalam proses pemurnian, penggunaan dialisis dapat meningkatkan kemurnian. Molekul zat terlarut yang lebih kecil dapat melewati membran, sementara yang lebih besar disimpan di ruang terbatas membran.

Dialisis bergantung pada osmosis sebagai mekanisme yang mendasarinya, dengan tingkat osmosis menjadi fungsi dari sejumlah faktor. Karena molekul zat terlarut dapat berdifusi dengan cepat ketika mereka berada dalam jarak dekat, laju osmosis tergantung pada luas permukaan membran dialisis. Semakin besar rasio luas permukaan membran dengan volume pelarut, semakin cepat laju difusi.

2.10 SDS-PAGE

Prinsip SDS PAGE yaitu denaturasi awal komponen protein dengan surfaktan anionik. Ini juga mengikat protein dan memberikan seluruh protein bermuatan negatif sebanding dengan ukuran molekul protein. Langkah ini diikuti oleh elektroforesis melalui akrilamid matriks gel berpori yang memisahkan protein berdasarkan ukuran molekulnya. Sebuah pita akan terbentuk di dekat sumur gel karena molekul yang lebih kecil akan bergerak lebih cepat pada gel daripada yang lebih besar.