

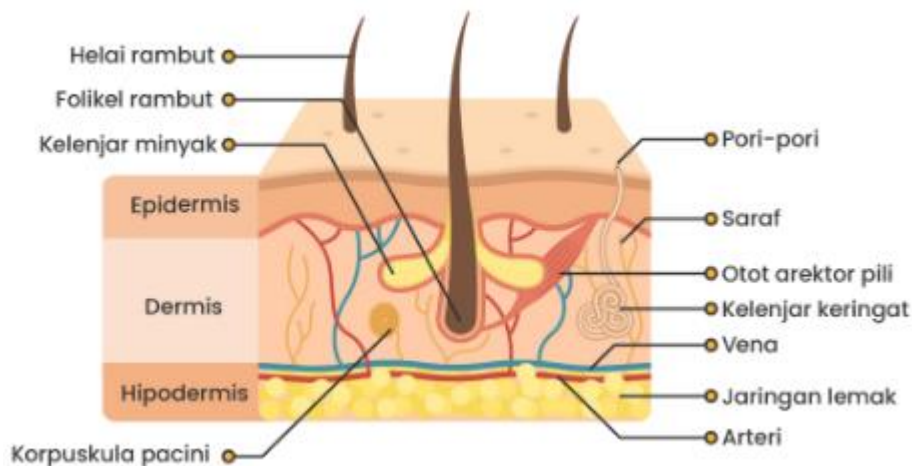
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar pada tubuh manusia yang memiliki peran penting dalam berbagai proses dinamis untuk menjaga keseimbangan tubuh (homeostasis). Kulit tersusun atas berbagai jenis sel dan berfungsi sebagai penghalang yang efektif terhadap gangguan lingkungan, seperti paparan sinar matahari, kontak langsung dengan bahan kimia, mikroorganisme, maupun trauma fisik. Selain itu, kulit juga berperan sebagai garis pertahanan pertama dalam sistem imun bawaan, meskipun mekanisme ini dapat terganggu pada kondisi seperti limfoma sel T kulit atau efek samping imunologis lainnya. Sel melanosit yang berada di lapisan basal epidermis memproduksi melanin, pigmen yang menyerap sinar ultraviolet (UV) dan membantu menurunkan risiko kanker kulit. Di banyak budaya, penampilan kulit dan rambut juga sangat erat kaitannya dengan persepsi kesehatan, kebugaran, serta identitas diri (Bai & Graham, 2020).

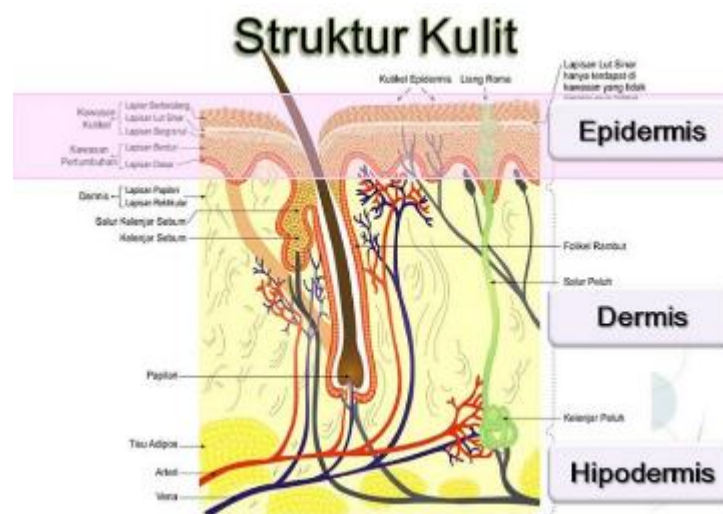
2.2 Struktur Kulit



Gambar 2.1 Anatomi Fisiologi Kulit (Wulandari Kai et al., 2020).

Kulit terdiri dari dua lapisan utama, yakni epidermis yang berada di bagian paling luar, dan dermis yang terletak di bawahnya (juga dikenal sebagai korium

atau kutis). Di bawah dermis terdapat jaringan lemak yang disebut subkutis. Sistem integumen mencakup kulit sebagai organ terbesar dalam tubuh manusia, yang berfungsi melindungi bagian dalam tubuh dari kerusakan, mencegah kehilangan cairan, menyimpan cadangan lemak, serta berperan dalam produksi vitamin dan hormon. Selain itu, kulit juga berkontribusi dalam menjaga suhu tubuh dan keseimbangan cairan (Wulandari Kai et al., 2020).



Gambar 2.2 Struktur Kulit (Wulandari Kai et al., 2020).

a. Epidermis

Epidermis merupakan lapisan paling luar dari struktur kulit. Ketebalan lapisan ini bervariasi pada setiap bagian tubuh, dengan ketebalan tertinggi mencapai sekitar 1 mm yang umumnya terdapat pada telapak tangan dan telapak kaki, sedangkan bagian paling tipis ditemukan pada kelopak mata, pipi, dahi, dan perut dengan ketebalan sekitar 0,1 mm. Sel penyusun utama epidermis dikenal sebagai keratinosit. Epidermis memiliki keterikatan fungsional yang erat dengan lapisan dermis, karena kebutuhan nutrisi dan cairan antar sel diperoleh melalui difusi plasma dari kapiler dermis ke epidermis. Secara histologis, epidermis terdiri atas beberapa jenis sel, yaitu keratinosit, melanosit, sel Langerhans, limfosit, dan sel Merkel (Wulandari Kai et al., 2020).

b. Dermis

Dermis merupakan lapisan kulit di bawah epidermis yang tersusun atas jaringan ikat tidak teratur, mengandung kolagen, glikosaminoglikan, glikoprotein, serta cairan interseluler. Lapisan ini menjaga elastisitas kulit dan mendukung struktur epidermis melalui dua bagian utama: lapisan papilari dan lapisan retikuler. Dermis juga mengandung folikel rambut, kelenjar minyak, dan kelenjar keringat yang berfungsi dalam pelumasan kulit serta pengaturan suhu tubuh. Selain itu, terdapat ujung saraf sensorik yang berperan dalam merespons rangsangan seperti nyeri, tekanan, dan suhu. Kolagen dalam dermis berfungsi sebagai jaringan penunjang untuk menjaga kelembapan, fleksibilitas, dan kekuatan kulit (Wulandari Kai et al., 2020).

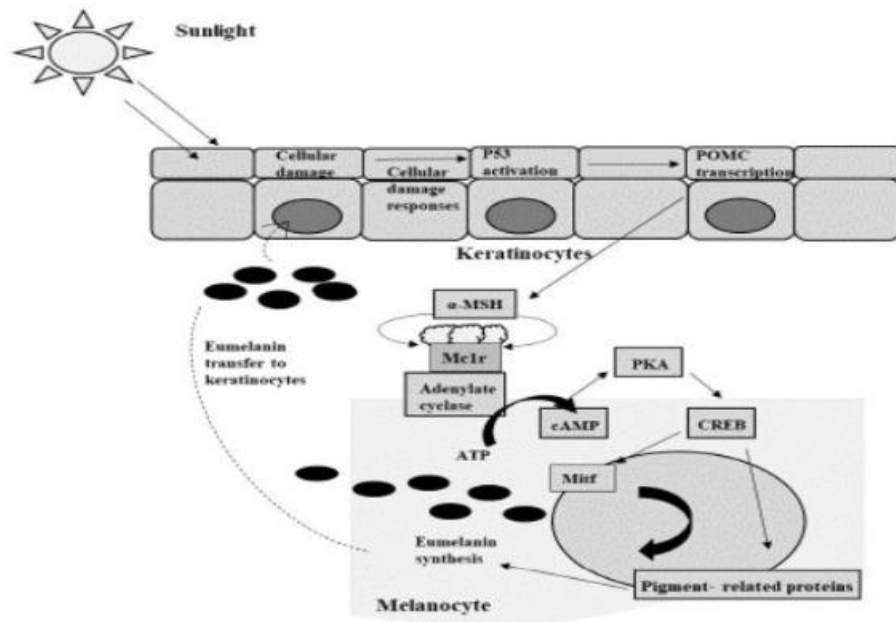
c. Hipodermis

Lapisan terdalam kulit disebut hipodermis atau subkutis, yang berfungsi sebagai penghubung antara dermis dengan jaringan di bawahnya, seperti otot. Lapisan ini tersusun atas jaringan adiposa yang terdiri dari kelompok sel-sel lemak berbentuk bulat dengan inti yang terdorong ke tepi. Struktur lemak yang dikenal sebagai panikulus adiposus ini berperan sebagai penyimpan energi dan cadangan nutrisi tubuh, serta membantu dalam isolasi panas dan perlindungan mekanik (Wulandari Kai et al., 2020).

2.3 Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi adalah masalah kulit yang sering ditemui dan disebabkan oleh produksi melanin yang berlebihan. Prevalensi hiperpigmentasi di Indonesia cukup tinggi, karena faktor kondisi iklim tropis serta intensitas paparan sinar matahari yang tinggi, yang secara signifikan berkontribusi pada meningkatnya insiden hiperpigmentasi. Melasma, yang merupakan salah satu bentuk hiperpigmentasi, umumnya terjadi pada wanita usia reproduktif (20 - 45 tahun) yang tinggal di negara tropis. Hiperpigmentasi ini tidak hanya menimbulkan masalah kosmetik, tetapi juga dapat memengaruhi rasa percaya diri serta kualitas

hidup penderitanya, terutama karena dampaknya pada penampilan (Leslie Baumanm, 2009).



Gambar 2.3 Mekanisme Hiperpigmentasi (A Ali et al., 2015).

Kerusakan seluler memicu proses transkripsi gen pro-opiomelanocortin (POMC), yang kemudian mendorong produksi serta pelepasan hormon α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH). Di lapisan basal epidermis, α -MSH berikatan dengan reseptor melanocortin 1 (MC1R) pada melanosit, sehingga memicu pembentukan cAMP melalui interaksi MC1R dengan *adenylyl cyclase*. Proses ini mengaktifkan elemen pengikat responsif cAMP (CREB), faktor transkripsi *microphthalmia-associated transcription factor* (Mitf), dan protein kinase A. Aktivasi CREB dan Mitf meningkatkan produksi melanin dengan cara menginduksi sintesis enzim tirosinase. Kenaikan tirosinase memacu pembentukan melanin, yang pada akhirnya menyebabkan kulit mengalami hiperpigmentasi (A Ali et al., 2015).

2.3.1 Melasma

Melasma adalah kondisi kulit yang umum, ditandai dengan hiperpigmentasi simetris yang biasanya muncul di wajah. Kondisi ini lebih sering dialami oleh

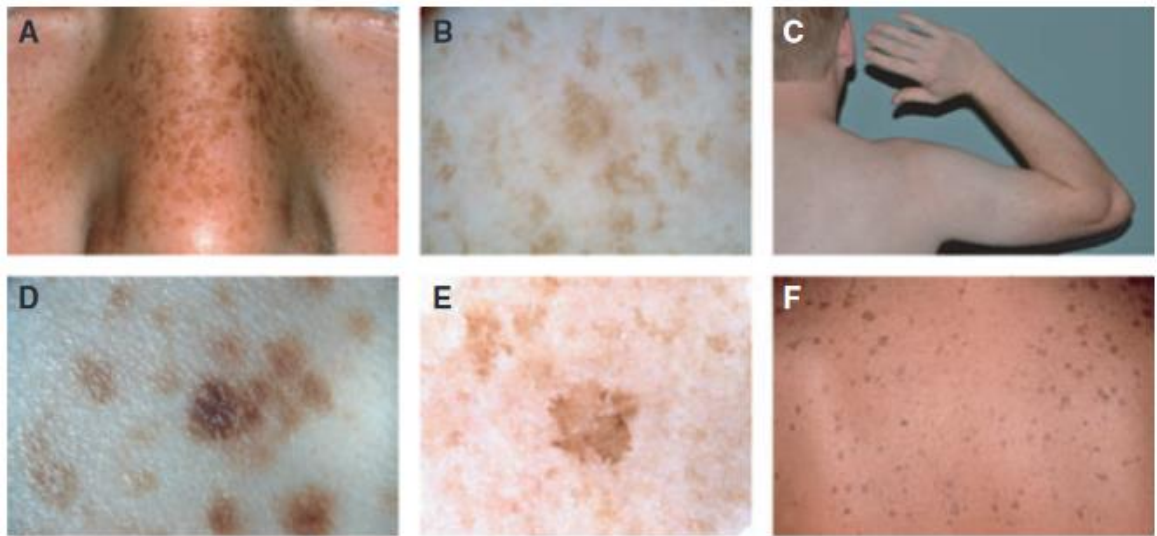
wanita dan mereka yang memiliki tipe kulit lebih gelap. Beberapa faktor penyebabnya antara lain paparan sinar matahari, perubahan hormon, dan riwayat keluarga. Prevalensi melasma bervariasi antara 1 – 50%, tergantung pada etnis dan lokasi geografis yang diteliti. Secara histologis, melasma menunjukkan peningkatan pigmentasi di lapisan epidermis dan/atau dermis, dengan melanocytes yang lebih besar, jumlah melanosom yang lebih banyak, serta tanda-tanda seperti solar elastosis, pembuluh darah di dermis, dan kadang infiltrasi limfosit serta histiosit di sekitar pembuluh darah (Ogbechie-Godec & Elbuluk, 2017).



Gambar 2.4 Melasma pada Wanita (Sheth & Pandya, 2011).

2.3.2 Efelid (Frekel)

Freckles, atau yang lebih dikenal dengan istilah efelid, adalah bintik-bintik pigmen kecil yang biasanya muncul pada kulit dengan warna coklat muda hingga merah. Bintik ini sering ditemukan pada individu dengan kulit terang atau rambut merah, dan cenderung muncul di area yang sering terpapar sinar matahari, seperti wajah, lengan, dan dada. Secara ilmiah, *freckles* terbentuk karena peningkatan produksi melanin di kulit, yang dipengaruhi oleh faktor genetik serta paparan sinar ultraviolet (UV) dari matahari. Meskipun bintik ini tidak berbahaya, mereka tetap menjadi topik yang menarik dalam dunia dermatologi dan kosmetik, terutama terkait dengan faktor risiko paparan sinar matahari dan perubahan warna kulit yang terjadi seiring waktu (Praetorius et al., 2014).



Gambar 2.5 Contoh-contoh frekel.

(A) Ephelides pada seorang anak laki-laki. (B) Close-up frekel pada individu dewasa seperti yang ditunjukkan di C. (C) Frekel pada bahu dan lengan yang menunjukkan lebih banyak frekel di area yang terpapar sinar matahari. (D) Lentigines pada pasien dengan sindrom LEOPARD. (E) Lentigo pada wanita berusia 43 tahun. (F) Frekel akibat paparan sinar matahari setelah terbakar matahari (Praetorius et al., 2014).

2.3.3 Hiperpigmentasi Pasca Radang (PIH)

Hiperpigmentasi pasca radang (PIH) adalah hipermelanosis yang diperoleh setelah peradangan atau cedera kulit, yang dapat terjadi pada semua jenis kulit, tetapi lebih sering terjadi pada pasien dengan kulit berwarna, termasuk Afro-Amerika, Hispanik/Latino, Asia, Penduduk Asli Amerika, Penduduk Pulau Pasifik, dan mereka yang berasal dari Timur Tengah. PIH dapat memiliki dampak psikososial yang signifikan pada pasien dengan kulit berwarna (tipe kulit *Fitzpatrick* IV hingga VI), karena perubahan pigmen ini dapat terjadi lebih sering dan lebih parah pada populasi ini dan sering kali lebih terlihat pada kulit yang lebih gelap (Callender, 2010).



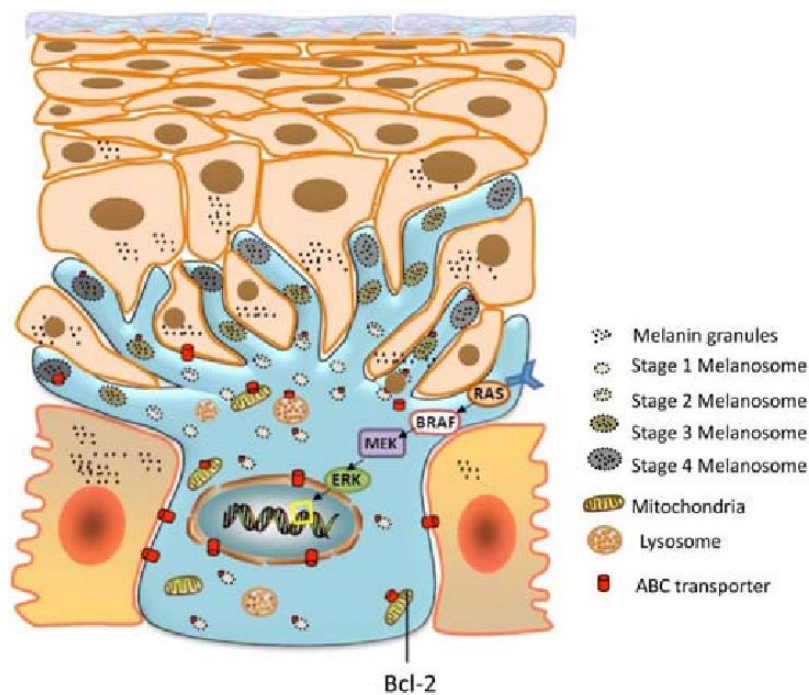
Gambar 2.6 Hiperpigmentasi Pasca Radang (Callender, 2010).

2.4 Melanosit dan Melanosom

Melanosit adalah sel yang terletak di stratum basal epidermis atau dermis, dengan cabang-cabang sel yang disebut dendrit yang menjulur di antara keratinosit. Sel ini berperan penting dalam sistem pigmentasi kulit karena dapat memproduksi melanin melalui sintesis tirosinase dalam melanosom. Selain itu, melanosit juga menghasilkan sitokin seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α , yang menghambat melanogenesis. Melanosit terlibat dalam komunikasi antara kulit dan sistem saraf pusat dengan menghasilkan neuropeptida dan neurotransmitter. Sebagai bagian dari sistem imun kulit, melanosit mengekspresikan molekul MHC kelas II dan ICAM-1, serta memiliki kemampuan fagositosis dan fungsi seperti lisosom melalui melanosom (E Mamoto et al., 2009).

Melanosom adalah organel intrasitoplasma khusus yang berfungsi sebagai tempat sintesis, penyimpanan, dan transportasi pigmen melanin. Organ ini sangat terkait dengan lisosom, di mana keduanya bekerja bersama untuk melindungi sel melanin di dalam sitoplasma. Lisosom melindungi proenzim seperti enzim protease, sementara melanosom melindungi prekursor melanin, seperti fenol dan kuinon, yang dapat mengoksidasi lipid membran. Melanosom diproduksi oleh melanosit dan sel pigmen retina, dan sel-sel ini tetap berada di sitoplasma. Proses pembentukan melanosom terus berlangsung, dengan transfer melanosom matang ke keratinosit epidermis dan matriks rambut secara berkelanjutan, yang merupakan bagian penting dari siklus melanogenesis (Cichorek et al., 2013).

Melanin diproduksi dari tirosin melalui rangkaian reaksi oksidasi yang melibatkan DOPAquinone. Enzim utama yang terlibat dalam proses ini adalah tirosinase, yang disintesis oleh sel dendritik yang berasal dari neural crest. Tirosinase adalah protein yang memiliki dua atom tembaga di daerah aktifnya, yang mengikat molekul oksigen dan berfungsi dalam organel intraseluler (melanosom), tempat di mana melanin terbentuk (Putri et al., 2018).



Gambar 2.7 Sintesis Melanin (Huang et al., 2014).

Pada Gambar 2.8 dijelaskan mengenai proses sintesis melanin yang terdiri dari empat fase yaitu :

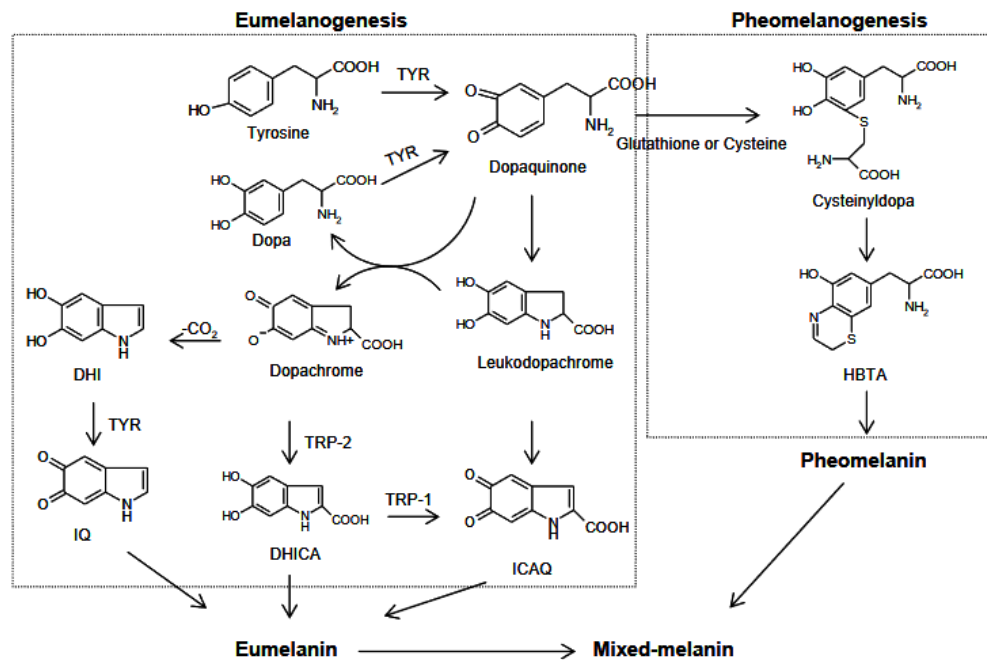
1. Fase I (Premelanosom): Pada tahap awal biogenesis melanosom (tahap I dan II), melanosom belum menghasilkan melanin. Pada fase ini, premelanosom memiliki kemampuan untuk menjebak dan mengekspor obat sitotoksik seperti cisplatin.
2. Fase II (Sintesis Melanin Aktif): Melanosom berada pada tahap III biogenesis, dengan sintesis melanin yang aktif. Melanosom pada fase ini

memiliki kapasitas maksimal untuk menjebak obat sitotoksik dalam melanin yang baru terbentuk, berkontribusi pada resistensi obat.

3. Fase III (Produk Sitotoksik Endogen): Melanosom menghasilkan produk sitotoksik endogen yang menyebabkan program autofagi pada melanosom yang rusak (tahap IV), meningkatkan kerentanannya terhadap obat sitotoksik.
4. Fase IV (Melanosom Matang): Setelah proses melanogenesis selesai, melanosom yang telah matang dipindahkan dari dendrit melanosit ke keratinosit di sekitar epidermis.

2.5 Biosintesis Melanin

Proses biosintesis melanin dimulai dengan langkah pertama oksidasi tirosin menjadi dopaquinone yang dikatalisis oleh tirosinase. Langkah pertama ini merupakan tahap penghambat laju dalam sintesis melanin karena sisa urutan reaksi dapat berlangsung secara spontan pada nilai pH fisiologis. Dopaquinone yang terbentuk selanjutnya diubah menjadi dopa dan dopachrome melalui auto-oksidasi. Dopa juga merupakan substrat tirosinase dan dioksidasi kembali menjadi dopaquinone oleh enzim ini. Akhirnya, eumelanin terbentuk melalui serangkaian reaksi oksidasi dari dihidroksiindol (DHI) dan dihidroksiindol-2-karboksilat (DHICA), yang merupakan produk reaksi dari dopachrome. Di hadapan sistein atau glutathione, dopaquinone diubah menjadi sisteinyldopa atau glutathionyldopa. Selanjutnya, pheomelanin terbentuk. Selain eumelanin dan pheomelanin, "melanin" lainnya yang bergantung pada monomer fenolik selain tirosin disebut allomelanin. Fenomena penggelapan pada buah dan jamur juga biasanya terkait dengan polimerisasi oksidatif, yang secara konseptual mirip dengan melanogenesis. Perbedaan utamanya terletak pada fakta bahwa allomelanin tidak mengandung motif turunan dopaquinone sebagai monomer utama dalam strukturnya dan, sebaliknya, didasarkan pada blok pembangun quinoid lainnya. Melanin memainkan peran penting dalam melindungi kulit manusia dari efek berbahaya radiasi UV (T. S. Chang, 2009).



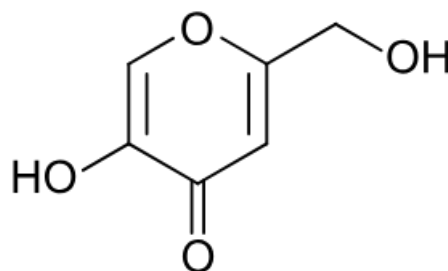
Gambar 2. 1 Biosintesis Melanin (T. S. Chang, 2009).

2.6 Inhibitor Tirosinase

Meskipun melanin berfungsi sebagai pelindung alami terhadap sinar ultraviolet, kelebihan produksi atau distribusi melanin yang tidak normal dapat menyebabkan hiperpigmentasi kulit. Kondisi ini dapat dipicu oleh penggunaan obat-obatan, paparan sinar UV dalam jangka panjang, atau gangguan seperti melasma. Selain itu, penelitian terkini menunjukkan bahwa gangguan neurodegeneratif seperti Alzheimer dan Parkinson juga dapat memengaruhi proses melanogenesis. Sejumlah senyawa kimia, seperti hidrokuinon, asam kojat, dan arbutin telah diketahui mampu menghambat proses pembentukan melanin (Y. Q. Chang et al., 2012).

Terdapat berbagai pendekatan untuk menghambat proses melanogenesis. Salah satu metode yang paling umum digunakan adalah dengan mengintervensi aktivitas enzim tirosinase secara langsung. Senyawa flavonoid dipercaya memiliki kemampuan sebagai penghambat tirosinase secara langsung. Selain itu, mempercepat degradasi enzim tirosinase juga dapat menjadi strategi tambahan dalam menekan pembentukan melanin. (Y. Q. Chang et al., 2012).

2.6.1 Asam Kojat



Gambar 2.8 Rumus Struktur Asam Kojat

Asam kojat adalah asam organik alami yang dihasilkan oleh jamur seperti *Acetobacter*, *Aspergillus*, dan *Penicillium*. Asam kojat menghambat pembentukan tirosinase, memiliki efek antioksidan, antimikroba, dan anti-penuaan, serta dapat mengurangi produksi melanin dengan mengikat ion tembaga pada enzim tirosinase. Selain itu, asam kojat dianggap sebagai alternatif yang lebih aman dibandingkan hidrokuinon karena minim efek samping (Searle et al., 2020).

Karena sifatnya yang aman dan efektif, asam kojat telah banyak digunakan dalam berbagai sediaan kosmetik, seperti krim pemutih, sabun, dan losion. Di bidang farmasi, asam kojat menunjukkan potensi sebagai agen antikanker, antidiabetik, dan penguat efektivitas obat antijamur. Sifatnya yang mampu membentuk kelat logam dan menembus lapisan kulit juga menjadikannya kandidat kuat dalam pengembangan sistem penghantaran obat topikal berbasis nanoteknologi. Karena berbagai aktivitas biologisnya tersebut, penggunaan asam kojat dan turunannya terus berkembang luas dalam industri kosmetik dan farmasi (Saeedi et al., 2019).

2.7 Tinjauan Botani Tanaman Pacing

2.7.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut Sohrab et al., (2021), klasifikasi botani tanaman pacing adalah sebagai berikut :

| | |
|--------------|---------------------------|
| Kerajaan | : Plantae |
| Subkerajaan | : Tracheobionta |
| Super Divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Liliopsida |
| Subkelas | : Zingiberidae |
| Ordo | : Zingiberales |
| Famili | : Zingiberaceae/Costaceae |
| Genus | : Costus |
| Spesies | : Speciosus |



Gambar 2.9 Tanaman Pacing (*Costus speciosus*) (Socfindo Conservation, 2024)

2.7.2 Morfologi Tanaman

Costus speciosus dari keluarga *Zingiberaceae* adalah tanaman asli Asia Tenggara, banyak ditemukan di India, Sri Lanka, Indonesia, dan Malaysia. Tanaman ini adalah herba tegak yang tumbuh setiap tahun dengan rimpang berlapis dan dapat mencapai tinggi 2,7 meter. Rimpangnya terdiri dari ruas-ruas dengan lapisan di bagian bawah yang berubah menjadi daun di bagian atas. Batang tanaman ini tumbuh dari rimpang yang menjalar, dengan bagian pangkal yang sedikit berkayu. Daunnya lebar, tebal, dan berbentuk elips atau lonjong, tersusun melingkar di batang, dengan permukaan atas halus dan bagian bawah berbulu (Sohrab et al., 2021).

Perbungaan tanaman ini berada di ujung, berbentuk elipsoid atau ovoid, dengan braktea dan brakteola berwarna merah terang serta brakteola merah muda. Brakteanya berbentuk oval dengan ujung runcing, bertekstur seperti kulit dan berbulu halus. Bunganya besar dan berwarna putih, tersusun dalam bentuk terminal mirip kerucut yang tebal. Kelopaknya berwarna hitam kemerahan, tiga cuping, kaku, berbentuk deltoid-oval dengan ujung berambut lembut. Corolla berbentuk tabung (sekitar 1 cm) dengan cuping lonjong-elips (sekitar 5 cm) berwarna putih atau merah di ujungnya. Labellum berbentuk terompet berwarna putih (6,5–9 cm) dengan ujung berombak dan bergigi serta tepian saling bertumpuk. Benang sari (sekitar $4,5 \times 1,3$ cm) menyerupai kelopak, berwarna putih dengan dasar oranye-kuning, berbentuk seperti cangkir, dan ditutupi dengan rambut lembut pendek. Buahnya berbentuk kapsul (sekitar 1,5 – 2 cm), berwarna merah, globose trigonus, dan sedikit berkayu, menghasilkan biji hitam dan mengilap (5 buah) dengan aril berwarna putih dan berdaging (Mazumder & Hussain, 2021).

2.7.3 Kandungan Zat Dalam Rimpang *Costus* spp



Gambar 2.10 Rimpang Pacing (*Costus speciosus*) (Socfindo Conservation, 2024)

Tanaman pacing (*Costus speciosus*) merupakan sumber alami yang kaya akan senyawa bioaktif, seperti asam fenolat, flavonoid, tanin, β -karoten, asam askorbat (vitamin C), α -tokoferol (vitamin E), dan glutathione. Kombinasi senyawa ini berperan sebagai antioksidan kuat, yang efektif melawan radikal bebas dan melindungi sel dari kerusakan oksidatif. Stres oksidatif diketahui menjadi salah satu penyebab utama gangguan kulit, termasuk hiperpigmentasi. Senyawa flavonoid dan asam fenolat dalam tanaman pacing memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas tirosinase, sehingga membantu menekan pembentukan melanin yang berlebihan. Selain itu, vitamin C dan E berperan sebagai agen pencerah kulit dengan mengurangi oksidasi melanin, sedangkan glutathione berkontribusi pada proses depigmentasi melalui pengaturan aktivitas enzim melanogenesis (Sohrab et al., 2021).

2.8 Metode ELISA untuk Menentukan Aktivitas Anti Tirosinase

2.8.1 Definisi Metode ELISA

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah metode biokimia yang awalnya dikembangkan di laboratorium dan kini telah diterapkan secara luas dalam berbagai bidang, seperti industri, pertanian, serta penelitian pada spesimen manusia, tumbuhan, dan material biologis lainnya. Teknik ini juga berfungsi

sebagai sarana diagnosis yang efektif, baik dalam konteks medis maupun non-medis (Santosa, 2020).

Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) memanfaatkan konjugat enzim dan substrat spesifik untuk memicu perubahan warna sebagai indikator kuantitatif dari reaksi antara antigen dan antibodi. Teknik ini memungkinkan identifikasi serta analisis kandungan suatu molekul dalam cairan biologis. Untuk mendeteksi molekul tertentu, diperlukan kit ELISA yang memiliki spesifisitas terhadap antigen target (Ipandi et al., 2019).

2.8.2 Prinsip Kerja Metode ELISA

Metode ELISA bekerja dengan prinsip dasar reaksi antara antigen dan antibodi yang telah dikaitkan dengan enzim, kemudian bereaksi dengan substrat sehingga menghasilkan endapan berwarna yang dapat diukur menggunakan alat pembaca ELISA. Pada tahap akhir prosedur, larutan penghenti (stop solution) selalu ditambahkan untuk menghentikan reaksi, yang umumnya berupa larutan asam kuat (Santosa, 2020).

Penentuan aktivitas anti-tirosinase dilakukan dengan mengukur nilai IC_{50} menggunakan ELISA reader, yang merepresentasikan tingkat efektivitas suatu senyawa dalam menghambat enzim tirosinase. Semakin rendah nilai IC_{50} yang diperoleh, maka semakin tinggi potensi penghambatan enzim tersebut. Senyawa dikategorikan memiliki aktivitas penghambatan tirosinase apabila nilai IC_{50} -nya berada di bawah 1.000 ppm (Y. Q. Chang et al., 2012).