

**PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica
charantia L.*) TERHADAP JUMLAH PIGMEN MELANIN
(Studi Eksperimental terhadap Marmut Jantan (*Cavia Porcellus*) yang
Dipapar Sinar UVB)**

Skripsi

untuk memenuhi sebagian persyaratan
mencapai gelar Sarjana Kedokteran



Oleh :

Rona Risty Dafina Putri

30102100184

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG**

SKRIPSI

PENGARUH PEMBERIAN KRIM EKSTRAK DAUN PARE (*Momordica charantia L.*) TERHADAP JUMLAH PIGMEN MELANIN
(Studi Eksperimental terhadap Marmut Jantan (*Cavia Porcellus*) yang Dipapar Sinar UVB)

Yang dipersiapkan dan disusun oleh

Rona Risty Dafina Putri

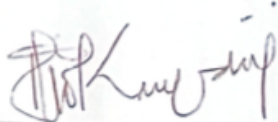
30102100184

Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji
pada tanggal 18 Desember 2024
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Susunan Tim Penguji

Pembimbing I

Anggota Tim Penguji

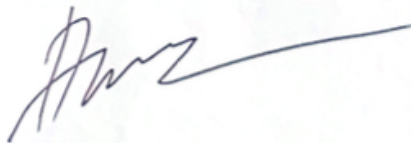


dr. Hesti Wahyuningsih K., Sp. KK



Dr. dr. Pasid Harlisa, Sp. KK., FINS DV, FAADV

Pembimbing II



dr. Qorry Amanda, M. Biomed



Azizah Hikma Safitri, S.Si., M.Si

Semarang, 18 Desember 2024

Fakultas Kedokteran

Universitas Islam Sultan Agung

Dekan,



Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rona Risty Dafina Putri

NIM : 30102100184

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang berjudul:

“Pengaruh Pemberian Krim Ekstrak Daun Pare (*Momordica Charantia L.*) Terhadap Jumlah Pigmen Melanin (Studi Eksperimental terhadap Marmut Jantan (*Cavia Porcellus*) yang Dipapar Sinar UVB)”

Adalah benar hasil karya saya dan dengan penuh kesadaran bahwa saya tidak melakukan plagiasi atau mengambil alih seluruh dan sebagian besar karya tulis orang lain tanpa menyebutkan sumbernya. Jika saya terbukti melakukan plagiasi, saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan aturan yang berlaku.

Semarang, 08 Desember 2024



Rona Risty Dafina Putri

PRAKATA

Assalamu 'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah, puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya, sholawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga, sahabat, serta para pengikutnya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Pengaruh Pemberian Krim Ekstrak Daun Pare (*Momordica Charantia L.*) Terhadap Jumlah Pigmen Melanin (Studi Eksperimental terhadap Marmut Jantan (*Cavia Porcellus*) yang Dipapar Sinar UVB)**” dengan baik. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan dalam Progam Sarjana Pendidikan Kedokteran di Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penyelesaian penyusunan Skripsi ini tidak terlepas dari doa, bantuan, dan dukungan dari banyak pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

1. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. KF., S.H., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. dr. Hesti Wahyuningsih Karyadini, Sp. KK selaku Dosen Pembimbing I dan dr. Qorry Amanda, M. Biomed selaku Dosen Pembimbing II, yang telah telah sabar dan ikhlas untuk meluangkan waktu, tenaga, serta pikiran dalam memberikan bimbingan, motivasi, dan saran sehingga penyusunan skripsi ini dapat selesai.

3. Dr. dr. Pasid Harlisa Sp. KK., FINS DV, FAADV, selaku Dosen Penguji I dan Ibu Azizah Hikma Safitri, S.Si, M.Si, selaku Dosen Penguji II, yang telah berkenan meluangkan waktunya untuk menguji dan memberikan saran serta masukan dalam perbaikan dan penyusunan skripsi ini kepada penulis.
4. Para staff Laboratorium Kimia, Hewan Coba, dan Patologi Anatomi FK UNISSULA, dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNS yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan penelitian ini.
5. Kedua orang tua saya, Papah Hari dan Mami Siti, yang telah menjadi orang tua hebat. Terima kasih untuk seluruh kasih sayang yang telah diberikan, doa yang tidak pernah putus, materi, motivasi, dukungan, dan seluruh pengorbanan kepada penulis sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini.
6. Kedua saudara saya, Fatulia Risqina dan Tiara Nuraini yang telah memberikan dukungan, motivasi, dan doa kepada penulis dalam proses penyusunan sampai penyelesaian skripsi ini.
7. Teman terdekat saya (Deva, Lala, Dela, Shela) dalam memberikan dukungan kepada penulis selama penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
8. Asisten Laboratorium Fisiologi yang senantiasa memberikan motivasi dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang bersedia membantu dan memberi dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dari para pembaca. Akhir kata, penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan di masa yang akan datang.

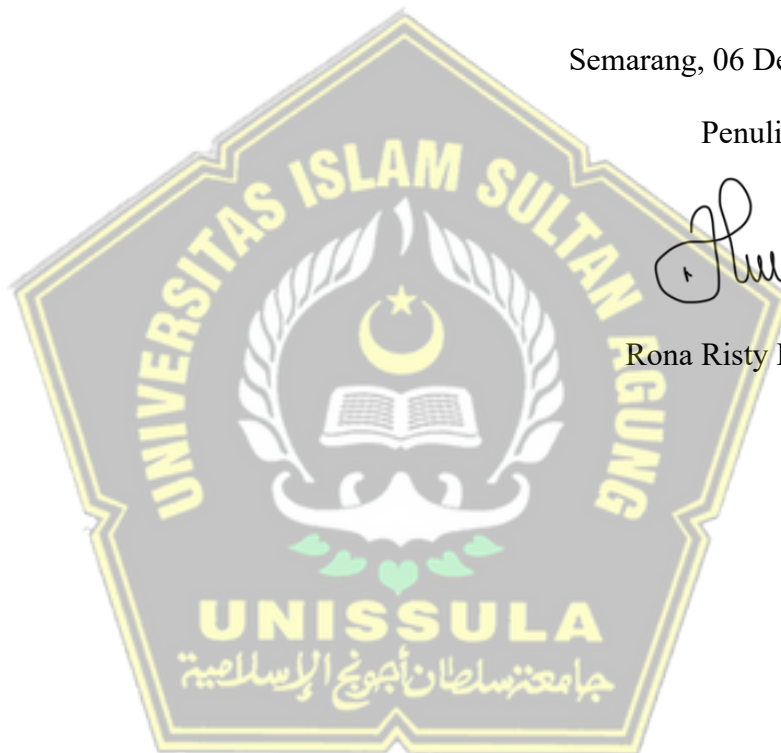
Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Semarang, 06 Desember 2024

Penulis



Rona Risty Dafina Putri



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN.....	iii
PRAKATA.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Melanin.....	5
2.1.1. Definisi Melanin.....	5
2.1.2. Jenis Melanin	5
2.1.3. Biosintesis Melanin.....	6
2.1.4. Proses Pembentukan Melanin	8
2.1.5. Peran Melanin	10
2.1.6. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Biosintesis Melanin	12
2.2. Pengaruh Sinar Ultraviolet (UV) terhadap Kulit.....	14
2.2.1. Definisi Sinar Ultraviolet (UV).....	14
2.2.2. Komponen Sinar Ultraviolet (UV).....	14

2.2.3. Sinar Ultraviolet-B	15
2.2.4. Gangguan Pigmentasi Kulit akibat Paparan Sinar UVB.....	16
2.2.5. Mekanisme Sinar UVB menyebabkan Hiperpigmentasi	17
2.3. Daun Pare (<i>Momordica Charantia Linn</i>)	17
2.3.1. Deskripsi Daun Pare (<i>Momordica Charantia Linn</i>).....	17
2.3.2. Taksonomi Daun Pare (<i>Momordica Charantia Linn</i>).....	18
2.3.3. Morfologi Daun Pare (<i>Momordica Charantia Linn</i>)	19
2.3.4. Senyawa Kandungan Daun Pare (<i>Momordica Charantia Linn</i>)	20
2.4. Hubungan Kandungan Senyawa Daun Pare Terhadap Jumlah Pigmen Melanin pada Marmut yang Dipapar Sinar UVB	24
2.5. Kerangka Teori	27
2.6. Kerangka Konsep.....	27
2.7. Hipotesis Penelitian	28
BAB III METODE PENELITIAN.....	29
3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	29
3.2. Variabel dan Definisi Operasional.....	29
3.2.1. Variabel Penelitian	29
3.2.2. Definisi Operasional.....	29
3.3. Populasi dan Sampel Penelitian.....	30
3.3.1. Sampel.....	30
3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian.....	32
3.4.1. Instrumen.....	32
3.4.2. Bahan.....	33
3.5. Cara Penelitian.....	34
3.5.1. Persiapan Hewan Coba	34
3.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia Linn</i>)...	34
3.5.3. Pembuatan Sediaan Basis Krim Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia Linn</i>).....	35
3.5.4. Pembuatan Krim Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia Linn</i>)	36
3.5.5. Pengolesan Basis Krim dan Krim Ekstrak Daun Pare	37

3.5.6. Pemaparan Sinar UVB pada Punggung Marmut	37
3.5.7. Uji Aktivitas Krim Ekstrak Daun Pare (<i>Momordica charantia</i> <i>Linn</i>)	38
3.5.8. Pemeriksaan Jumlah Pigmen Melanin pada Kulit Marmut.....	39
3.6. Alur Penelitian	44
3.7. Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
3.8. Analisis Data.....	45
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	46
4.1. Hasil Penelitian	46
4.2. Pembahasan	51
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1. Kesimpulan	55
5.2. Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	61



DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adrenokortikotropik hormone</i>
bFGF	: <i>Basic fibroblast growth factor</i>
DCT	: <i>DOPAchrome tautomerase</i>
DHI	: <i>5,6 dihydroxyindole</i>
DHICA	: <i>DHI-2-carboxylic acid</i>
DMSO	: <i>Dymethyl Sulfoxide</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
DQ	: <i>DOPAquinone</i>
EDN3	: <i>Endothelin 3</i>
ET-1	: <i>Endotelin-1</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte macrophage colony stimulating factor</i>
HGF	: <i>Hepatocyte growth factor</i>
HPLC	: <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
L-DOPA	: <i>L-3,4-dihydroxyphenylalanine</i>
LIF	: <i>Leukemia inhibitory factor</i>
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MCIR	: <i>Melanocortin-1 Receptor</i>
MSH	: <i>Melanocyte stimulating hormone</i>
NGF	: <i>Nerve growth hormone</i>
PAR-2	: <i>Protein activated receptor 2</i>
PGE-2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PIH	: <i>Post-inflammatory hyperpigmentation</i>

PKC	: <i>Protein kinase C</i>
POMC	: <i>Pro-opiomelanocortin</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCF	: <i>Stem cell factor</i>
SLA	: <i>Skin lightening agent</i>
SPF	: <i>Sun Protecting Factor</i>
TEA	: Trietanolamin
TYR	: <i>Tyrosinase</i>
TYRP1	: <i>Tyrosinase-related protein 1</i>
UV	: Ultraviolet
UV-A	: Ultraviolet A
UV-C	: Ultraviolet C
UVB	: Ultraviolet B
UVI	: Indeks Ultraviolet
UVR	: <i>Ultra Violet Rays</i>



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mekanisme biosintesis melanin	8
Gambar 2.2 Ilustrasi skema diferensiasi melanoblast menjadi melanosit.....	9
Gambar 2.3 Mikroskopis jumlah melanin pada kulit berbeda etnis.....	12
Gambar 2.4 Tanaman daun pare (<i>Momordica charantia</i> L.)	19
Gambar 2.5 Rumus Kimia Agen Standar Inhibitor Tirosinase Dan Kuersetin.....	22
Gambar 2.6 Rumus Kimia Luteolin	23
Gambar 2.7 Kerangka Konsep	27
Gambar 4.1 Hasil pengecatan dengan Masson-Fontana	47
Gambar 4.2 Jumlah rerata pigmen melanin pada masing-masing kelompok.	48



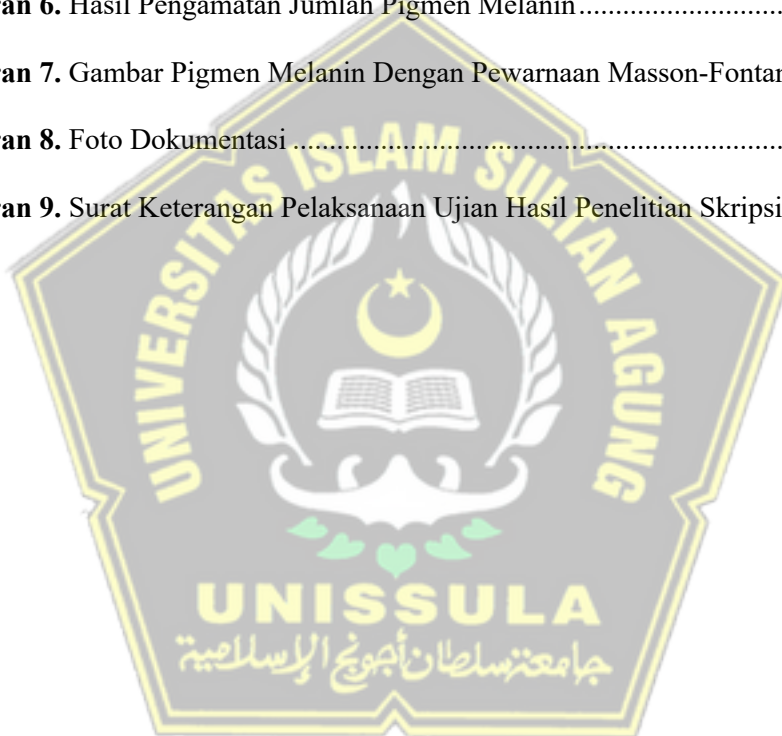
DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Formulasi Basis Krim Ekstrak Etanol Daun Pare.....	35
Tabel 3.2 Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Pare	36
Tabel 4.1 Hasil uji normalitas dan homogenitas.....	49
Tabel 4.2 Hasil perbandingan masing-masing kelompok dengan uji <i>pos Hoc Mann Whitney</i>	50



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil olah data penelitian dengan SPSS.....	61
Lampiran 2. <i>Ethical Clearance</i> Penelitian.....	67
Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian	68
Lampiran 4. Surat Keterangan Selesai Penelitian.....	70
Lampiran 5. Surat Keterangan Bebas Pinjam Laboratorium	72
Lampiran 6. Hasil Pengamatan Jumlah Pigmen Melanin.....	73
Lampiran 7. Gambar Pigmen Melanin Dengan Pewarnaan Masson-Fontana.....	74
Lampiran 8. Foto Dokumentasi	75
Lampiran 9. Surat Keterangan Pelaksanaan Ujian Hasil Penelitian Skripsi.....	76



INTISARI

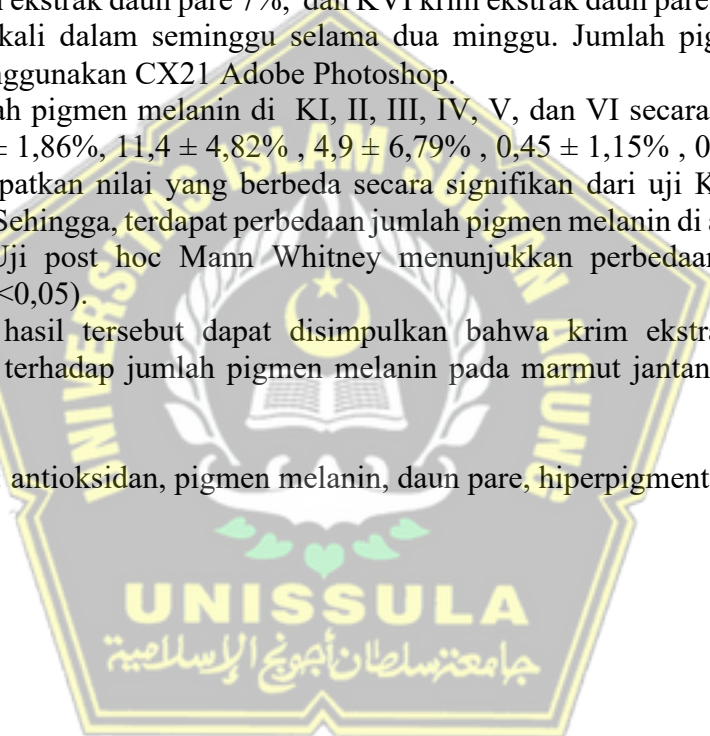
Stres oksidatif menjadi salah satu faktor yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi yang diakibatkan karena paparan sinar UVB secara terus-menerus. Daun pare memiliki fungsi antioksidan yang dapat menghambat melanogenesis melalui penurunan kadar ROS. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan yang dipapar sinar UVB.

Penelitian eksperimental berjenis *post test only control group design* menggunakan 24 ekor marmut dibagi menjadi secara acak menjadi 6 kelompok: KI kontrol normal, KII kontrol negatif, KIII basis krim, KIV krim ekstrak daun pare 5%, KV krim ekstrak daun pare 7%, dan KVI krim ekstrak daun pare 10%. Paparan diberikan 3 kali dalam seminggu selama dua minggu. Jumlah pigmen melanin dihitung menggunakan CX21 Adobe Photoshop.

Jumlah pigmen melanin di KI, II, III, IV, V, dan VI secara berturut-turut adalah $1,25 \pm 1,86\%$, $11,4 \pm 4,82\%$, $4,9 \pm 6,79\%$, $0,45 \pm 1,15\%$, 0% , dan $8,8 \pm 9,08\%$. Didapatkan nilai yang berbeda secara signifikan dari uji Kruskal Wallis yaitu $<0,05$. Sehingga, terdapat perbedaan jumlah pigmen melanin di antara keenam kelompok. Uji post hoc Mann Whitney menunjukkan perbedaan pada setiap kelompok ($p < 0,05$).

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa krim ekstrak daun pare berpengaruh terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan yang dipapar sinar UVB.

Kata Kunci: antioksidan, pigmen melanin, daun pare, hiperpigmentasi



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Hiperpigmentasi merupakan keadaan di mana terjadinya produksi pigmen melanin yang terlalu banyak menumpuk pada lapisan kulit dan keadaan ini menjadi masalah yang sering menimbulkan keluhan. Salah satu bentuk dari kelainan hiperpigmentasi adalah melasma yang mudah ditemui pada wanita dalam masa subur sekitar usia 20-45 tahun dan terutama yang tinggal di negara yang sepanjang tahun terpapar sinar matahari. Hiperpigmentasi pada kulit menimbulkan bercak-bercak dengan warna kecoklatan atau kehitaman, sehingga terlihat tampilan warna kulit yang tidak merata dan dapat menyebabkan ketidaknyamanan dalam segi kosmetika yang menurunkan penampilan dan kualitas hidup (Leslie *et al.*, 2009; Lestari, 2011; Mustika *et al.*, 2021). Selain itu, karena Indonesia memiliki iklim tropis, yang mana selalu mendapatkan paparan sinar matahari yang terus-menerus juga menyebabkan meningkatnya insiden hiperpigmentasi (Minerva, 2018).

Prevalensi hiperpigmentasi di Asia lebih tinggi, yaitu sebanyak 21% dibandingkan dengan benua lain (Afrika 9%, Amerika 8%, dan Eropa 4%) (Anjani dan Laksmiani, 2022). Di Indonesia, prevalensi hiperpigmentasi cukup tinggi dikarenakan jenis dari kulit orang Indonesia yang menurut klasifikasi Fitzpatrick merupakan jenis 4 dan 5, yang artinya jarang bisa terbakar dan cenderung menggelap. Sebuah penelitian di Departemen Dermatologi dan Venereologi Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) Jakarta menunjukkan bahwa pasien dengan kelainan hiperpigmentasi mencapai 33,6% dari total 4.559 kunjungan, dan

melasma mencapai 53,45% dari seluruh kelainan hiperpigmentasi (Elviana, *et al.*, 2017).

Kronik, terus-menerus, dapat kambuh, dan sukar untuk sembuh merupakan sifat melasma yang umumnya sering dialami pasien, sehingga kebutuhan akan produk yang memiliki fungsi sebagai *skin lightening agent* (SLA) termasuk kosmeseutikal herbal menjadi meningkat. Salah satu jenis SLA yang banyak dimanfaatkan adalah hidrokuinon (HQ) namun memiliki banyak kekurangan yaitu sangat tidak stabil dan mudah teroksidasi, selain itu juga dapat menambah masalah lain pada kulit seperti kemerahan, perih karena iritasi, dermatitis kontak, dan hilangnya pigmentasi kulit secara permanen. Dengan adanya kontroversi keamanan mengenai hidrokuinon dan SLA lainnya, keinginan untuk mencari bahan alternatif dari SLA yang lebih organik, aman, dan memiliki khasiat menjadi sangat penting sehingga timbulah kecenderungan untuk menggunakan ekstraksi bahan organik dari alam untuk mengobati keluhan hiperpigmentasi. Berbagai jenis ekstrak dari tanaman, terutama pada bagian daun sudah banyak dimanfaatkan untuk pengembangan kosmeseutikal. Fithria *et al.*, (2017), melakukan percobaan terhadap marmut yang diberikan paparan sinar UVB dan selanjutnya menilai keberhasilan ekstrak etanol daun pare yang diberikan secara topikal dengan berbagai konsentrasi, yaitu 0,02%, 0,04%, 0,06% dan krim farma, yaitu krim racikan yang mengandung HQ 4%, tretinoin 0,05%, fluosinolon asetonid 0,01%. Hasil dari percobaan ini menunjukkan bahwa ketiga konsentrasi dalam penelitian tersebut secara signifikan memiliki pengaruh untuk menurunkan jumlah melanin dibandingkan dengan kontrol negatif yang hanya diberikan DMSO (*Dymethyl Sulfoxide*) yang memiliki

arti bahwa ekstrak etanol daun pare mempunyai kandungan flavonoid yang bermanfaat sebagai agen untuk mencegah hiperpigmentasi pada marmut.

Selain dalam bentuk ekstrak etanol, sampai sekarang belum terdapat penelitian yang membahas mengenai sediaan topikal lain dari ekstrak daun pare yang diuji coba dalam hewan. Penggunaan ekstrak etanol daun pare dinilai kurang nyaman apabila diaplikasikan ke kulit, terutama wajah, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mencari sediaan topikal lain dari ekstrak daun pare, yaitu dengan sediaan krim. Hasil penelitian yang diperoleh Azzahra dan Prastiwi pada tahun 2019, dibandingkan dari formulasi salep, formulasi dalam bentuk krim ekstraksi etanol daun pare terbukti telah lolos syarat sifat fisik yang meliputi uji organoleptis, uji pH, daya lekat, homogenitas, dan daya sebar (Azzahra dan Prastiwi, 2019). Penelitian ini bermaksud membuktikan pengaruh pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin terhadap marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang diberikan paparan sinar UVB.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh dari pemberian krim ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*) terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang diberikan paparan sinar UVB?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB.

1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui jumlah pigmen melanin pada kelompok marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB tanpa pemberian krim ekstrak daun pare.

1.3.2.2 Mengetahui jumlah pigmen melanin pada kelompok marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB dengan pemberian krim ekstrak daun pare 5%, 7%, dan 10%.

1.3.2.3 Menganalisis perbedaan jumlah pigmen melanin pada kelompok kelompok marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB tanpa pemberian krim ekstrak daun pare dan dengan pemberian krim ekstrak daun pare 5%, 7%, dan 10%.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Dapat menjadi sumber pengetahuan dan informasi terkait dengan pengaruh pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin.

1.4.2. Manfaat Praktis

Untuk memberikan pengetahuan kepada masyarakat terkait kegunaan krim ekstrak daun pare sebagai bahan alternatif dalam mencegah hiperpigmentasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Melanin

2.1.1. Definisi Melanin

Melanin merupakan sekelompok molekul yang memiliki berbagai fungsi biologis, salah satunya adalah memberikan pigmen melalui proses yang disebut melanogenesis. Molekul ini juga berperan vital dalam proteksi kulit terhadap dampak sinar matahari yang berbahaya. Dalam lapisan epidermis kulit, terdapat jenis sel khusus yang disebut melanosit. Melanosit ini bertanggung jawab menghasilkan melanin, pigmen yang memberikan variasi warna kulit yang meliputi hitam, coklat, kuning, dan merah, dan kemudian mengirimkan pigmen tersebut ke sel-sel kulit di sekitarnya (Schlessinger *et al.*, 2023).

Semua orang memiliki jumlah melanosit yang kurang lebih sama, namun perbedaan warna kulit antar individu ditentukan oleh jumlah melanin yang dihasilkan oleh tiap melanosit. Proses produksi melanin ini memerlukan enzim tirosinase, yang lebih aktif berfungsi ketika ada lebih banyak tirosin yang tersedia, menyebabkan produksi melanin yang lebih banyak dan kulit yang lebih gelap (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

2.1.2. Jenis Melanin

Melanin dapat dikategorikan menjadi dua tipe utama berdasarkan komposisi kimianya, yaitu: (Slominski *et al.*, 2022)

1. Eumelanin

Ini adalah tipe melanin yang memberikan warna dari coklat terang hingga coklat gelap dan hitam. Eumelanin memiliki sifat yang tidak larut dalam berbagai jenis larutan dan terdiri dari molekul dengan berat molekul yang tinggi. Pigmen ini mengandung nitrogen dan terbentuk melalui proses oksidasi dan polimerisasi dari senyawa 5,6-dihidroksiindol dan 5,6-dihidroksiindol-2-asam karboksilat. Eumelanin memiliki peran penting dalam menyediakan pigmentasi yang lebih gelap pada kulit serta berfungsi sebagai pelindung DNA (*Deoxyribo Nucleic Acid*) dari kerusakan yang disebabkan oleh sinar ultraviolet (UV) (Zonunsanga, 2015).

2. Feomelanin

Pigmen ini memberikan warna yang lebih cerah, seperti kuning hingga coklat kemerahan. Berbeda dengan eumelanin, feomelanin larut terutama dalam alkali dan mengandung nitrogen serta sulfur. Feomelanin terbentuk melalui proses polimerisasi dari sistenil dopa. Pigmen ini umumnya ditemukan pada individu dengan warna kulit dan rambut yang lebih terang (Zonunsanga, 2015).

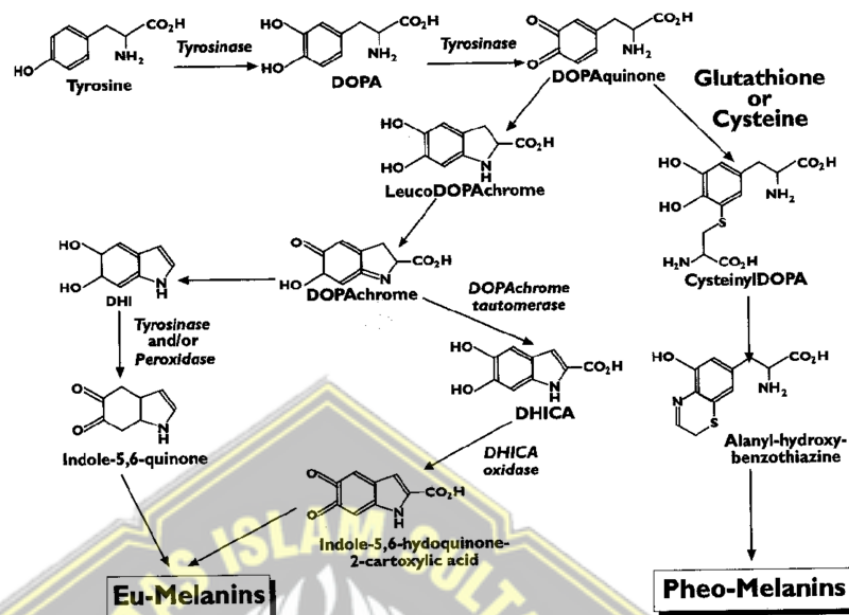
Kedua tipe melanin ini berkontribusi pada variasi warna kulit dan rambut pada manusia dan memiliki peran penting dalam melindungi kulit dari efek berbahaya paparan sinar matahari (Zonunsanga, 2015).

2.1.3. Biosintesis Melanin

Biosintesis melanin, seperti yang terlihat pada Gambar 2.1, melibatkan tiga senyawa utama, yaitu *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (L-

DOPA), *DOPAquinone*, dan *DOPAchrome*. Dalam pembentukan melanin, baik eumelanin maupun feomelanin, diperlukan enzim tirosinase sebagai prekursor utama yang memulai sintesis. Enzim ini bertindak pada tahap awal untuk mengubah tirosin menjadi L-DOPA, yang kemudian teroksidasi menjadi *DOPAquinone* (DQ). *Cysteine* yang merupakan enzim yang mendegradasi protein (Verma *et al.*, 2016) akan mengkonversi DQ menjadi *cysteinyl-dopa* dan seterusnya mengoksidasi menjadi *Dihydro 1,4 benzothiazin* yang kemudian mengalami polimerisasi menjadi bentuk feomelanin warnanya kuning menuju merah dan larut. Tanpa adanya *thiol* (seperti *cysteine*, *glutathione* atau *thioredoxin*), DQ akan berubah menjadi *DOPAchrome* yang warnanya cenderung coklat ke arah hitam. *DOPAchrome* spontan kehilangan gugus asam karboksilat dan menjadi *5,6 dihydroxyindole* (DHI) yang kemudian cepat mengalami oksidasi dan proses polimerisasi menjadi melanin berwarna coklat mengarah kehitaman. *DOPAchrome tautomerase* (TYRP2/DCT) mengubah *DOPAchrome* menjadi *DHI-2-carboxylic acid* (DHICA). Kemudian, tirosinase dan TYRP1 (*Tyrosinase-related protein 1*) bertindak untuk mengubahnya menjadi melanin yang memiliki warna coklat menuju terang. Melanin DHI dan melanin DHICA yang memiliki warna coklat ke arah hitam ini dikenal dengan sebutan eumelanin. Tampilan warna pada kulit manusia dipengaruhi oleh macam dan jumlah melanin yang dihasilkan, di mana individu yang kulitnya cenderung gelap memiliki konsentrasi melanin yang tinggi, dan individu yang kulitnya cenderung terang yang memiliki jumlah melanin yang rendah (Cao *et al.*,

2021).



Gambar 2.1 Mekanisme biosintesis melanin
(Cao *et al.*, 2021).

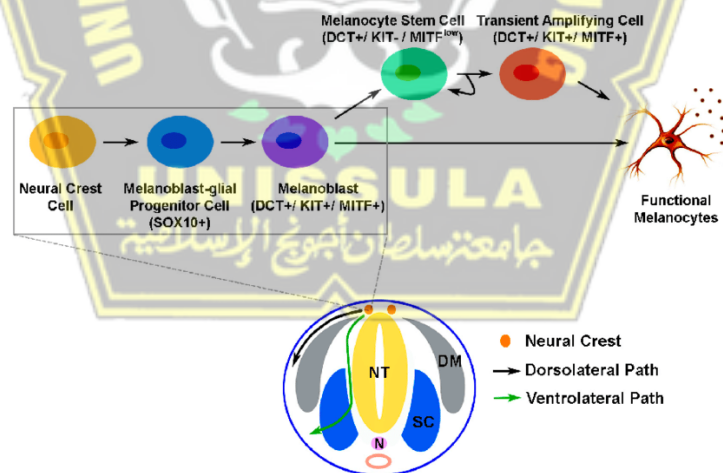
2.1.4. Proses Pembentukan Melanin

Dua lapisan utama pada kulit adalah epidermis dan dermis. Lapisan terluar yang terdiri dari epitel yang berlapis dan gepeng dengan lapisan tanduk merupakan epidermis, sedangkan lapisan di bawahnya yang terdiri dari jaringan ikat padat, kapiler darah, kelenjar sebacea dan keringat, ujung-ujung saraf, serta folikel rambut disebut sebagai dermis. Epidermis adalah lapisan yang bertanggung jawab atas proses pembentukan melanin (melanogenesis). Lapisan ini terdiri dari melanosit, sel penghasil melanin, yang dikelilingi oleh keratinosit (Anjani dan Laksmiani, 2022).

Melanosit berasal dari melanoblast, sel prekursor melanin, seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.2, yang bermigrasi ke berbagai tempat, termasuk lapisan basal epidermis dan folikel rambut. Proses migrasi,

proliferasi, dan diferensiasi sehingga melanosit dapat menghasilkan melanin bergantung pada mediator-mediator, seperti *endothelin 3* (EDN3) dan *stem cell factor* (SCF), yang mengikat reseptor c-Kit tirosin kinase ke melanosit dan melanoblas (Slominski *et al.*, 2022).

Sintesis melanin terjadi di melanosom, sebuah organel spesifik di lisosom yang memiliki protein-protein untuk proses sintesis melanin, seperti komponen matriks fibrilar yang berikatan dengan melanin (glikoprotein Pmel17) dan enzim melanogenik. Ketika sintesis melanin selesai, melanin dalam melanosom diangkut ke keratinosit yang berdekatan melalui dendrit dan terakumulasi dalam keratinosit dan melanosit di daerah perinuklear sebagai "topi" supranuklear yang diperkirakan dapat melindungi DNA dari sinar UV (Slominski *et al.*, 2022).



Gambar 2.2 Ilustrasi skema diferensiasi melanoblast menjadi melanosit (Brenner dan Hearing, 2018).

2.1.5. Peran Melanin

Melanin memiliki beberapa peran penting dalam tubuh diantaranya, yaitu: (Mull *et al.*, 2015)

- Memberikan pigmen atau warna kepada kulit.
- Berfungsi sebagai pelindung alami dari sinar matahari atau fotoprotektif yang bertindak seperti tabir surya yang melindungi dari efek berbahaya sinar UV.
- Berperan sebagai agen pengikat obat, membantu dalam distribusi dan interaksi obat di dalam tubuh.
- Berfungsi sebagai *energy transducer* yang efektif, melanin dapat mengkonversi berbagai bentuk energi menjadi panas yang kemudian dilepaskan, membantu dalam pengaturan suhu tubuh.

Melalui pemaparan peran-peran melanin di atas dapat diketahui bahwa melanin tidak hanya melindungi kulit dari kerusakan yang disebabkan oleh paparan sinar UV tetapi juga membantu dalam pengelolaan energi dan terapi medis (Wang *et al.*, 2017).

2.1.5.1 Peran Melanin sebagai Fotoprotektif

Berdasarkan penelitian yang ada sampai saat ini, pigmentasi kulit terbukti berperan sebagai faktor fotoprotektif karena melanin tidak hanya bertindak sebagai penyerap UV berspektrum luas, tetapi juga memiliki sifat antioksidan dan pembersihan radikal bebas. Data epidemiologi mendukung peran fotoprotektif melanin karena adanya korelasi terbalik antara pigmentasi kulit dan insiden kanker kulit yang diinduksi sinar matahari yang

membuktikan bahwa individu dengan kulit putih memiliki risiko sekitar 70 kali lebih besar untuk mengalami kanker kulit dibandingkan dengan individu dengan kulit hitam (Wang *et al.*, 2017).

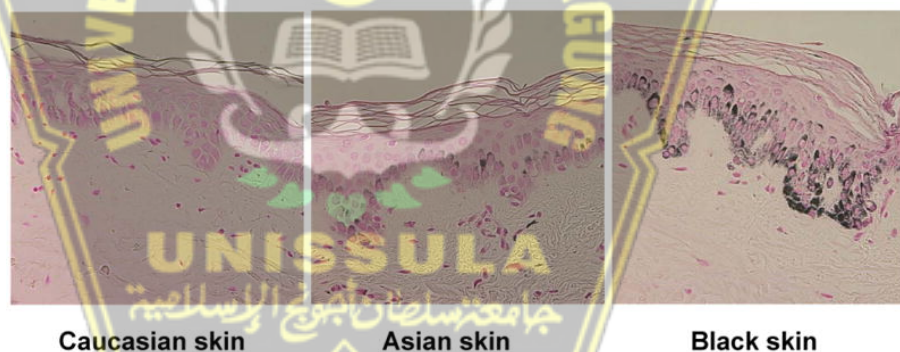
Efek fotoprotektif melanin terjadi karena adanya eumelanin melalui kemampuannya sebagai penghalang fisik yang menyebarkan radiasi sinar ultraviolet serta sebagai filter penyerap yang mengurangi penetrasi UV melalui epidermis. Efikasi melanin sebagai tabir surya diasumsikan sekitar 1,5 hingga 2 SPF yang berarti melanin menyerap 50% hingga 75% UVR (*Ultra Violet Rays*). SPF (*Sun Protecting Factor*) 2 berarti perlindungan kulit terhadap sinar matahari meningkat dua kali lipat (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

Kulit gelap mengandung lebih banyak eumelanin dibanding kulit terang, sehingga memiliki kemampuan lebih baik untuk mencegah kerusakan oleh sinar UV dan eumelanin dianggap lebih unggul dari pheomelanin dalam sifat fotoprotektifnya. Seperti yang dibahas oleh Gloster dan Neal, melanin pada kulit hitam dua kali lebih efektif dibandingkan dengan kulit putih dalam menghambat penetrasi radiasi UV-B (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

Melanosom pada individu dengan kulit gelap memiliki ketahanan yang lebih tinggi terhadap degradasi oleh enzim lisosom dibandingkan dengan mereka yang memiliki kulit terang. Pada kulit gelap, seperti yang terdapat pada Gambar 2.3, melanosom ini tetap utuh sepanjang lapisan epidermis dan membentuk "*supranuclear caps*" pada keratinosit dan melanosit, yang memiliki peran krusial dalam memberikan proteksi kulit terhadap kerusakan yang disebabkan oleh sinar UV sehingga dapat

memberikan perlindungan fotoprotektif yang signifikan. Di sisi lain, pada kulit terang, melanosom cenderung terdegradasi dengan cepat, meninggalkan apa yang sering disebut sebagai "*melanin dust*" di lapisan suprabasal dari epidermis. Penurunan jumlah melanosom di lapisan epidermis atas ini dianggap sebagai faktor kunci dalam pengembangan kanker kulit (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

Selain itu, eumelanin memiliki peranan penting lainnya, yaitu sebagai pembersih radikal bebas. Ini termasuk aktivitasnya yang mirip superoksida dismutase, yang efektif mengurangi ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang menjadikannya sangat vital dalam melawan stres oksidatif di dalam sel (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).



Gambar 2.3 Mikroskopis jumlah melanin pada kulit berbeda etnis

(Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

2.1.6. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Biosintesis Melanin

Terdapat berbagai macam faktor yang memengaruhi biosintesis melanin yang secara garis besar dibedakan menjadi faktor fisiologis dan patologis. Secara fisiologis, faktor genetik memainkan peran utama dalam menentukan jumlah dan jenis melanin yang diproduksi oleh tubuh, dengan

gen seperti MC1R, TYR, dan OCA2 yang mengontrol produksi dan distribusi melanin. Paparan sinar UV merangsang produksi melanin sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerusakan DNA, menyebabkan kulit menjadi lebih gelap. Hormon seperti melanocyte-stimulating hormone (MSH), estrogen, dan progesteron juga dapat menambah produksi melanin, serta perubahan hormon selama kehamilan atau penggunaan kontrasepsi hormonal dapat mempengaruhi pigmentasi kulit. Selain itu, seiring bertambahnya usia, produksi melanin dapat berubah, dengan beberapa orang mengalami penurunan produksi melanin dan yang lain mengalami peningkatan dalam bentuk bintik-bintik penuaan (Zonunsanga, 2015).

Infeksi dan peradangan kulit, baik dari cedera fisik, jerawat, atau kondisi kulit lainnya, dapat memicu peningkatan produksi melanin sebagai bagian dari respons penyembuhan. Kemudian peningkatan produksi melanin pada gangguan metabolik seperti penyakit Addison dan hemochromatosis juga dapat menyebabkan perubahan pigmentasi kulit. Beberapa obat dan bahan kimia dapat mempengaruhi produksi melanin, seperti penggunaan antibiotik tetrasiklin, obat antimalaria, atau kemoterapi yang dapat menyebabkan perubahan warna kulit. Defisiensi nutrisi seperti kobalamin dan B9 juga berpengaruh terhadap pembentukan melanin, dengan defisiensi kobalamin dapat menyebabkan hipopigmentasi. Selain itu, kanker kulit seperti melanoma yang berasal dari melanosit dapat menyebabkan perubahan warna kulit di area yang terkena (Zamudio Díaz *et al.*, 2024).

Paparan sinar UV yang terlalu sering tanpa perlindungan juga dapat

menyebabkan kondisi patologis. Contohnya kanker kulit nonmelanoma yaitu karsinoma yang berasal dari sel basal dan sel skuamosa, yang terjadi karena kerusakan DNA pada sel kulit. Selain itu, sinar UV memapar secara berlebihan dapat mempercepat penuaan kulit (photoaging), menyebabkan kerutan, bintik-bintik penuaan, dan kehilangan elastisitas kulit. Keratosis aktinik, suatu kondisi prakanker yang ditandai dengan bercak kasar dan bersisik pada kulit, juga merupakan hasil dari paparan UV yang berlebihan (Ebanks *et al.*, 2019).

2.2. Pengaruh Sinar Ultraviolet (UV) terhadap Kulit

2.2.1. Definisi Sinar Ultraviolet (UV)

Sinar ultraviolet (UV) merupakan salah satu macam pancaran elektromagnetik yang panjang dari gelombangnya lebih pendek dari cahaya tampak namun berlaku sebaliknya dari sinar-X. Sinar UV berasal dari matahari, namun juga dapat dihasilkan oleh sumber buatan seperti lampu *tanning bed* dan beberapa jenis lampu merkuri. Paparan sinar UV yang terlalu banyak dapat mengakibatkan berbagai masalah kesehatan, seperti kulit menjadi rusak, penuaan sebelum waktunya, kerusakan mata, dan kanker pada kulit (Mohania *et al.*, 2017).

2.2.2. Komponen Sinar Ultraviolet (UV)

Dalam spektrum elektromagnetik, UV terbagi menjadi tiga jenis berdasarkan panjang gelombangnya, sinar UV dapat dibagi menjadi tiga kategori utama: UV-A (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), dan UV-C (200-280 nm). UV-C tidak bisa menggapai permukaan bumi karena telah disaring

oleh lapisan ozon. UV-B bisa sampai permukaan bumi dalam jumlah yang lebih sedikit dibandingkan UV-A, karena melalui penyerapan terlebih dahulu oleh oksigen, ozon, dan molekul air saat di atmosfer. Tingkat UV-A lebih tinggi di daerah kutub, sedangkan UV-B lebih tinggi di dekat khatulistiwa, daerah kering dan gersang seperti Plato Tibet dan Altiplano. Distribusi UV-B sangat ditentukan oleh garis geografis karena proses distribusi dan penyerapannya di atmosfer (Mohania *et al.*, 2017).

UV-A mampu menembus kaca kendaraan, gedung, dan jendela serta dapat menembus ke dalam dermis, mempengaruhi 19-50% melanosit, sedangkan UV-B hanya mempengaruhi 9-14% melanosit. Walaupun UV-A lebih mudah mengenai bumi, UV-B lebih berpotensi untuk menyebabkan kemerahan atau terbakarnya kulit manusia karena penetrasinya ke dalam epidermis dan lapisan atas dermis. Kedua jenis UV ini meningkatkan produksi melanin, dengan efek melanogenik yang dipengaruhi oleh panjang gelombang dan waktu paparan (Mohania *et al.*, 2017).

2.2.3. Sinar Ultraviolet-B

Sinar UV-B adalah radiasi ultraviolet yang asalnya dari sinar matahari dengan panjang gelombang antara 280 hingga 320 nanometer. Meskipun UV-B berperan dalam sintesis kalsiferol yang esensial bagi kesehatan tulang dan imunitas tubuh, paparan berlebihan terhadap sinar ini dapat menyebabkan *sunburn* yang terjadi akibat kerusakan langsung pada DNA di sel kulit. Lebih lanjut, eksposur yang berulang dapat mempercepat proses penuaan kulit, seperti pembentukan keriput dan bintik-bintik pigmen, serta meningkatkan

risiko pengembangan berbagai jenis kanker kulit, termasuk melanoma yang sangat agresif. Oleh karena itu, penting untuk menggunakan tabir surya yang melindungi terhadap UV-B dan mempraktikkan metode perlindungan lain seperti memakai pakaian pelindung, topi, dan kacamata hitam selama berada di luar rumah di jam-jam ketika sinar matahari paling kuat (Mohania *et al.*, 2017).

2.2.4. Gangguan Pigmentasi Kulit akibat Paparan Sinar UVB

Berikut ini adalah beberapa kelainan kulit yang sering terjadi akibat paparan sinar UV-B yang berlebihan, yaitu *solar lentigines*, *mottled pigmentation*, *keratosis aktinik*, serta berbagai jenis kanker kulit termasuk nonmelanoma dan melanoma (Slominski *et al.*, 2022).

Selain itu, gangguan pigmentasi kulit juga sering terjadi, yang mengakibatkan hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi merupakan peningkatan produksi melanin pada lapisan epidermis dan dermis bagian atas kulit, yang sering kali dialami oleh individu dengan tipe kulit Fitzpatrick III sampai VI. Kondisi ini tidak hanya mempengaruhi estetika kulit tetapi juga dapat berdampak signifikan pada kualitas hidup seseorang. Hiperpigmentasi bisa muncul dalam berbagai bentuk seperti PIH, melasma, *freckles*, dan lentigo solaris, yang seringkali dipicu oleh paparan sinar UV (Slominski *et al.*, 2022). Hal ini terjadi karena sinar UV merangsang melanosit untuk meningkatkan produksinya sebagai respons adanya kerusakan pada kulit yang diakibatkan karena paparan UV (Ebanks *et al.*, 2019; Slominski *et al.*, 2022).

Secara patologis, vitiligo, melasma, dan *post-inflammatory*

hyperpigmentation (PIH) dipengaruhi oleh produksi dan distribusi melanin. Hilangnya melanin pada area kulit tertentu menyebabkan vitiligo, sementara peningkatan produksi melanin di area yang terkena menyebabkan melasma dan PIH (Bastonini *et al.*, 2016).

2.2.5. Mekanisme Sinar UVB menyebabkan Hiperpigmentasi

Saat terpapar sinar UV, kulit bereaksi dengan cara memberikan ketebalan pada lapisan stratum korneum serta memperluas peran efek melanin yang ada di lapisan terluar kulit. Protein seperti keratin yang terdapat di stratum korneum menyebar dan berfungsi menyerap sinar UV, sehingga mengurangi dampak langsungnya pada lapisan kulit yang lebih dalam. Sebagai respons terhadap paparan UV, keratinosit meningkatkan produksi *Endothelin-1* dan *Pro-opiomelanocortin* (POMC), yang keduanya berperan dalam memicu produksi melanin. Peningkatan ini akan meningkatkan kebutuhan akan melanosom. Melanosom yang terbentuk dalam proses ini kemudian melepaskan melanin dari melanosit ke keratinosit, memfasilitasi peningkatan pigmentasi sebagai mekanisme pertahanan untuk kerusakan yang diakibatkan oleh sinar UV (Yang *et al.*, 2023).

2.3. Daun Pare (*Momordica Charantia* Linn)

2.3.1. Deskripsi Daun Pare (*Momordica Charantia* Linn)

Tanaman pare atau *Momordica charantia* Linn adalah spesies yang adaptif dan tumbuh subur di wilayah tropis, baik secara liar di lahan kosong maupun di pekarangan rumah yang teduh. Karena kemampuannya tumbuh di area yang terlindung dari sinar matahari langsung, pare menjadi pilihan tepat

untuk ditanam di lingkungan dengan paparan sinar matahari yang minimal. Selain dari keunggulan pertumbuhannya yang efisien, pare juga dikenal sebagai tanaman herbal dengan beragam manfaat kesehatan (Yang *et al.*, 2023). Khususnya, ekstrak dari pare menunjukkan potensi sebagai pelindung kulit karena memiliki sifat antioksidan yang dapat melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan sinar UV-B. Ini membuatnya tidak hanya bermanfaat dalam konteks pertanian dan kuliner, tetapi juga sebagai komponen dalam produk perawatan kulit herbal yang bertujuan untuk mencegah kerusakan kulit dan penuaan dini yang diinduksi oleh UV-B (Ahmad *et al.*, 2016).

2.3.2. Taksonomi Daun Pare (*Momordica Charantia* Linn)

Tanaman pare atau *Momordica charantia* L., tergolong dalam famili Cucurbitaceae, yang dikenal akan rasa pahit yang khas pada hampir seluruh bagian tanamannya. Dalam sistem klasifikasi tumbuhan, pare ditempatkan dalam kategori sebagai berikut, yaitu: (Mangirang *et al.*, 2019)

Divisi : *Spermatophyta*
 Subdivisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Dicotyledoneae*
 Ordo : *Cucurbitales*
 Famili : *Cucurbitaceae*
 Genus : *Momordica*
 Spesies : *Momordica charantia* L.



Gambar 2.4 Tanaman daun pare (*Momordica charantia* L.)

(Fauziah *et al.*, 2019).

Klasifikasi ini menunjukkan bahwa pare merupakan bagian dari kelompok tumbuhan berbunga (*Angiospermae*) dengan biji yang terbagi dua (*Dicotyledoneae*), dan termasuk dalam ordo *Cucurbitales*, yang mencakup tanaman semacam labu dan mentimun (Mangirang *et al.*, 2019).

2.3.3. Morfologi Daun Pare (*Momordica Charantia* Linn)

Tanaman pare diketahui sama halnya dengan tanaman tahunan yang merambat atau memanjat dengan bantuan sulur berbentuk spiral seperti yang terlihat pada Gambar 2.4. Struktur ini memungkinkan tanaman untuk menyebar dan mendukung pertumbuhannya melalui struktur lain. Tanaman

ini mencapai panjang antara 2 hingga 5 meter dan memiliki batang yang berusuk lima dengan rambut yang lebat pada bagian yang muda, seringkali beraroma tidak sedap (Mangirang *et al.*, 2019).

Daun-daun pada tanaman ini tumbuh tunggal dengan tangkai yang panjangnya berkisar antara 1,5 hingga 5,3 cm. Daunnya berseling dan berbentuk lonjong, panjang 3,5-8,5 cm dan lebar 4 cm. Jari-jarinya terbagi menjadi 5 sampai 7 jari, pangkalnya berbentuk hati, dan warnanya hijau tua. Tepi daun memiliki gerigi kasar hingga takik menyirip. (Oyelere *et al.*, 2022).

Pare memiliki batang yang panjang dengan kelopak kuning yang mengesankan. Buah memanjang memiliki 8-10 tulang rusuk dan ditutupi bintil-bintil tidak beraturan. Buah ini tumbuh hingga panjang 8-30 cm dan memiliki rasa yang pahit. Saat matang, buah berubah warna dari hijau menjadi oranye, terbagi menjadi tiga katup, dan menampakkan biji pipih, keras, berwarna kuning kecokelatan (Oyelere *et al.*, 2022).

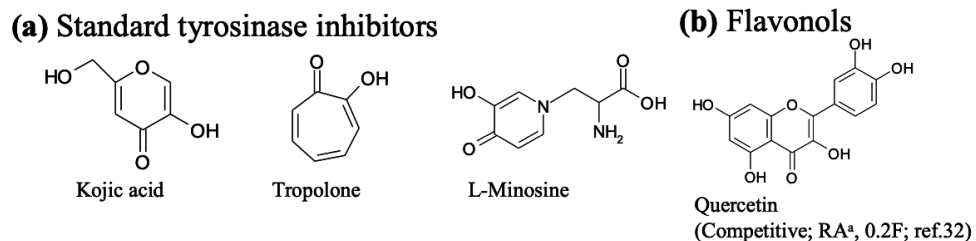
2.3.4. Senyawa Kandungan Daun Pare (*Momordica Charantia* Linn)

Daun pare merupakan sumber alami dari berbagai senyawa fitokimia yang memiliki manfaat signifikan bagi kesehatan, khususnya dalam melindungi kulit dari kerusakan oksidatif dan proses penuaan. Kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan fenolik dalam daun pare memainkan peran penting sebagai antioksidan kuat yang mengurangi pembentukan radikal bebas dan ROS yang diinduksi oleh paparan sinar UV-B (Oyelere *et al.*, 2022). Efek antioksidan ini diperkuat oleh vitamin A dan C yang juga ditemukan dalam daun pare, yang berkontribusi pada perlindungan sel

keratinosit dari kematian akibat stres oksidatif (Tsai *et al.*, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa fenolik aktif utama dalam daun pare. Beberapa penelitian menunjukkan manfaat flavonoid terhadap kesehatan, manfaatnya yang terkait dengan efek paparan sinar ultraviolet adalah sebagai antitirosinase dan antioksidan. Flavonoid utama pada daun pare adalah *quercetin* yang telah diketahui bersifat antitirosinase dan luteolin sebagai agen antioksidan kuat. Selain itu, senyawa seperti momordisin dan momordin dalam daun pare juga sama-sama memiliki properti anti-melanogenik, yang membantu mengurangi pembentukan melanin yang berlebih yang sering terjadi sebagai respons terhadap paparan UV dan dapat menyebabkan hiperpigmentasi (Tsai *et al.*, 2014).

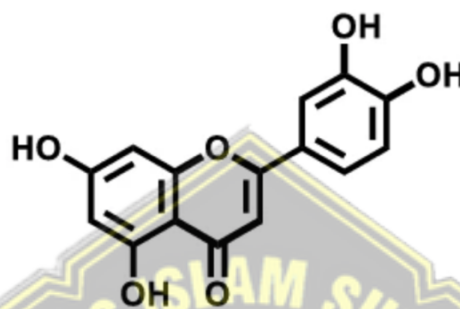
Kuersetin adalah agen antitirosinase kuat yang memiliki rumus kimia mirip *kojic acid* dan *tropolene*, agen standar inhibitor tirosinase (Chang, 2009). Kuersetin dapat berikatan dengan situs aktif enzim tirosinase, yang menghambat kemampuannya untuk mengubah tirosin menjadi DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin) dan selanjutnya menjadi dopakuinon (Xu *et al.*, 2019). Dengan menghalangi proses ini, kuersetin mencegah pembentukan melanin. Penelitian lain menunjukkan bahwa kuersetin dapat mempengaruhi jalur pensinyalan seluler yang terlibat dalam regulasi tirosinase (Qi *et al.*, 2022). Dengan memodulasi jalur-jalur ini, kuersetin dapat menurunkan ekspresi tirosinase dan aktivitasnya di dalam sel. Selain itu, kuersetin dapat bertindak sebagai inhibitor kompetitif terhadap substrat tirosin, sehingga mengurangi laju reaksi enzimatik yang diperlukan untuk sintesis melanin (Xu *et al.*, 2019).



Gambar 2.5 Rumus Kimia Agen Standar Inhibitor Tirosinase Dan Kuersetin (Chang, 2009).

Selain kuersetin, luteolin adalah jenis flavonoid lain pada daun pare yang terbukti memiliki kemampuan antioksidan kuat. Antioksidan memainkan peran penting untuk melindungi tubuh manusia terhadap stres oksidatif yang dihasilkan dalam jumlah yang banyak dari sel yang dalam penelitian ini adalah karena paparan sinar UV-B (Susanti *et al.*, 2012). Penelitian telah menunjukkan bahwa luteolin mencegah kerusakan radiasi akibat UV-B dengan cara menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas, yang membantu menetralkan reaktivitasnya (Alfaridz, 2018; Kunnaryo dan Wikandari, 2021). Proses ini mengurangi potensi kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh ROS dalam tubuh. Luteolin memiliki beberapa gugus hidroksil (OH) pada strukturnya, yang berperan penting dalam aktivitas antioksidan. Gugus-gugus ini memungkinkan luteolin untuk berinteraksi dengan radikal bebas dan sehingga menjadi bentuk yang kurang berbahaya (Agustina, 2020). Selain bertindak langsung sebagai antioksidan, luteolin juga dapat menghambat aktivitas enzim tertentu, seperti *xantin oksidase*, yang terlibat dalam pembentukan radikal bebas. Penelitian menunjukkan bahwa luteolin dapat menghambat enzim ini dengan nilai IC₅₀ yang rendah, menunjukkan efektivitasnya dalam mengurangi stres oksidatif (Jusri *et al.*,

2019; Gunarti dan Hidayah, 2022). Selain itu, luteolin dapat merangsang aktivitas enzim antioksidan endogen dalam tubuh, seperti superoksida dismutase, yang membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif (Khoirunnisa and Sumiwi, 2019).



Gambar 2.6 Rumus Kimia Luteolin
(Miyashita *et al.*, 2022).

Berdasarkan penelitian terdahulu, untuk lebih memahami dan mengidentifikasi komponen aktif dalam ekstrak daun pare digunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) (Xu *et al.*, 2019). Melalui HPLC, senyawa fenolik yang ditemukan dalam ekstrak daun pare adalah asam galat, asam salisilat, asam sinamat, mirisetin, kuersetin, dan luteolin yang menunjukkan efektivitas tinggi dalam melindungi kulit dari kerusakan, serta menawarkan perlindungan tambahan terhadap proses yang dapat mempercepat penuaan kulit (Tsai *et al.*, 2014). Oleh karena itu, ekstrak daun pare sangat berharga sebagai bahan aktif dalam produk perawatan kulit dan strategi nutrisi yang bertujuan untuk mengoptimalkan fotoproteksi dan kesehatan kulit secara keseluruhan, menggabungkan manfaat antioksidan dan efek anti-melanogenik (Tsai *et al.*, 2014).

2.4. Hubungan Kandungan Senyawa Daun Pare Terhadap Jumlah Pigmen Melanin pada Marmut yang Dipapar Sinar UVB

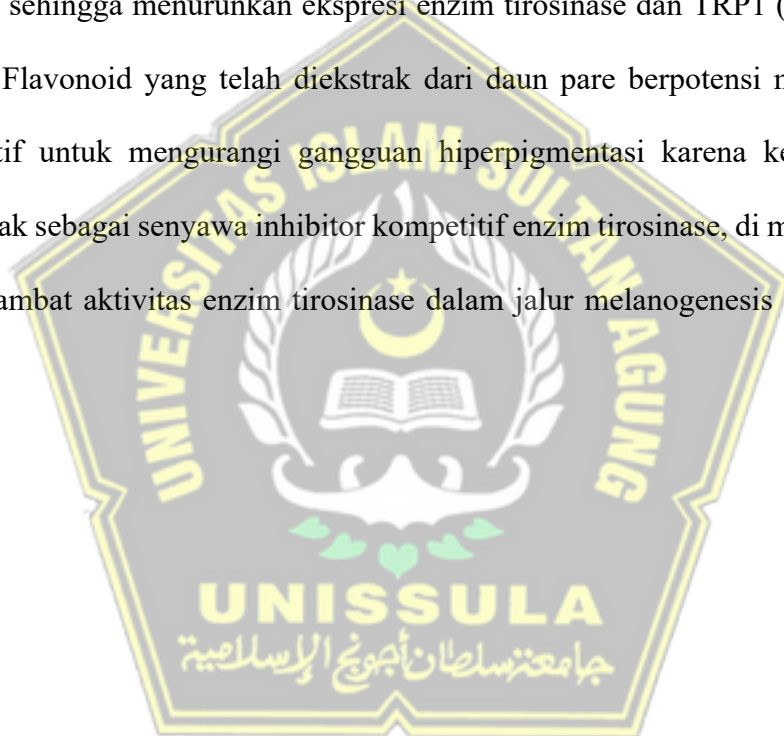
Berdasarkan Indeks UV Matahari Global (UVI), pengukuran sederhana tingkat radiasi UV di permukaan bumi, Indonesia memiliki tingkat UVI sebesar 10,5-14,5 yang tergolong ekstrim apabila dibandingkan dengan negara lain seperti India, Cina, dan Jepang yang memiliki rata-rata UVI sekitar 5-11, di mana semakin tinggi nilai Indeks, semakin besar potensi terjadinya kerusakan pada kulit dan mata, serta semakin sedikit waktu yang dibutuhkan hingga kerusakan tersebut dapat terjadi (Bera *et al.*, 2021; Fauziyyah *et al.*, 2023). Apabila kulit terpapar sinar UV terus-menerus maka produksi melanin terjadi secara berlebihan dan akan mengakibatkan adanya penumpukan pigmen melanin di kulit yang berlanjut menjadi Melasma, sebuah keadaan hiperpigmentasi kronis yang didapat, dan terlihat sebagai patch hiperpigmentasi di area yang umumnya terkena paparan sinar matahari seperti area wajah, leher, dan lengan (Suryani, 2020). Paparan sinar UV dapat menghasilkan hiperpigmentasi dengan cara menambah aktivitas dari enzim melanogenik, merusak DNA sehingga menimbulkan melanogenesis, memicu perpindahan melanosom menuju keratinosit serta memicu aktifitas melanosit dendritik (Kindred dan Halder, 2014).

Sinar UV dibaca sangat cepat oleh melanosit dan keratinosit, baik melalui jalur parakrin maupun autokrin. Adanya paparan oleh sinar UV akan menstimulasi pengaktifan *proopiomelanocortin* (POMC) yaitu bahan untuk memproduksi *melanocyte stimulating hormone* (MSH), beserta reseptor MSH yaitu *Melanocortin-1 Receptor* (MC1R), TYR, TYRP-1, *protein kinase C* (PKC), *endotelin-1* (ET-1), hormon adrenokortikotropik (ACTH), *basic fibroblast growth*

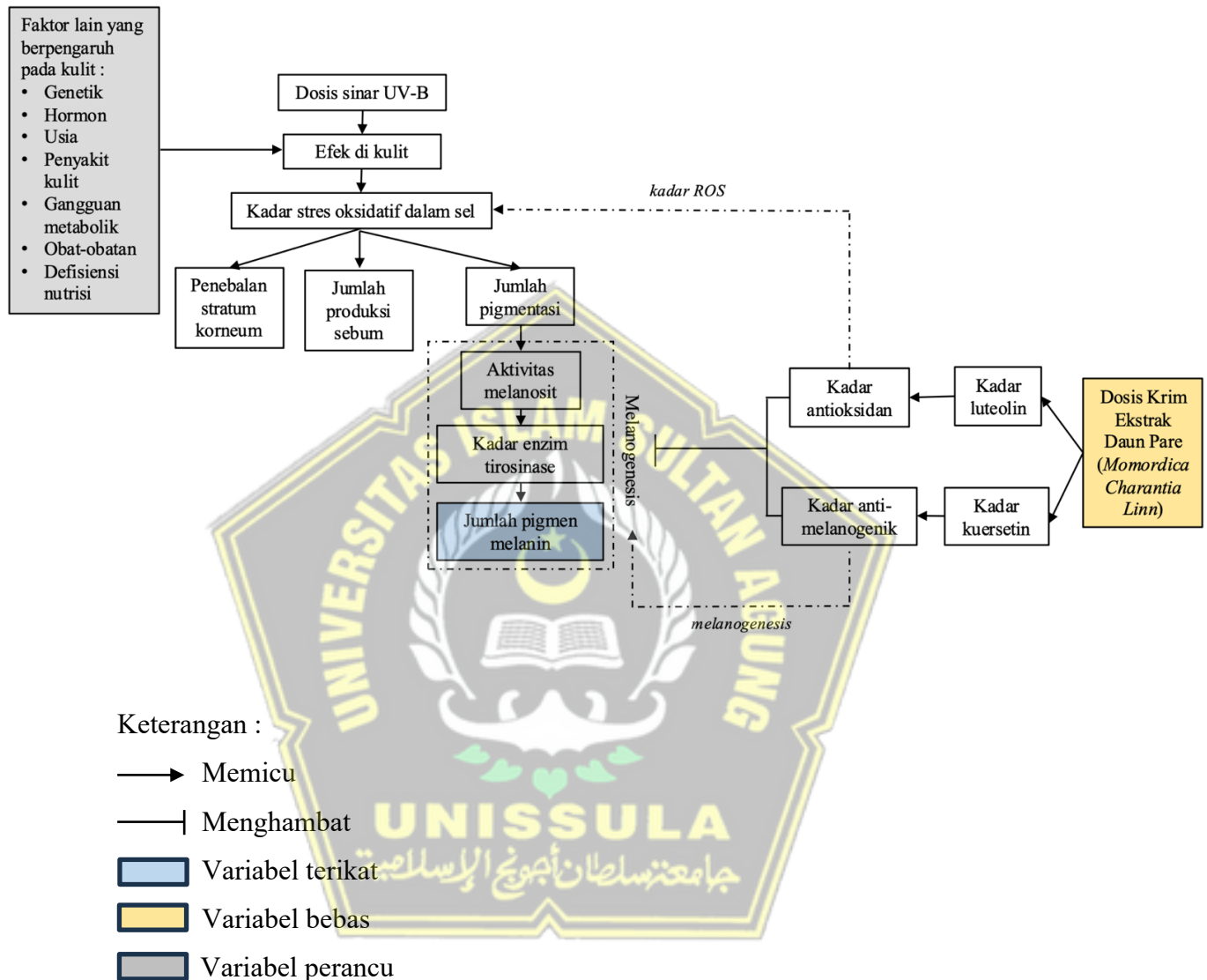
factor (bFGF), *nerve growth hormone* (NGF), *granulocyte macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF), *leukemia inhibitory factor* (LIF), *hepatocyte growth factor* (HGF) dan prostaglandin E2 (PGE-2). Sitokin, hormon dan *growth factors* tersebut diproduksi oleh keratinosit yang selanjutnya berfungsi menjadi sinyal parakrin untuk menstimulasi melanosit sehingga dapat memproduksi dan meningkatkan penyebaran melanin (Videira *et al.*, 2014). Adanya reseptor di sel keratin yaitu *protein activated receptor 2* (PAR-2) dapat mempercepat dari penyebaran melanin dengan cara setelah reseptor tersebut dirangsang maka keratinosit akan menangkap melanosom yang sudah diproduksi oleh melanosit (Yuan dan Jin, 2018).

Antioksidan merupakan sebuah komponen yang terbukti dapat mencegah atau menurunkan kerusakan yang disebabkan karena proses oksidasi yang terjadi karena perannya sebagai atom elektron pada radikal bebas sehingga mampu menurunkan efek berbahaya dari radikal bebas tersebut (Xu *et al.*, 2019). Flavonoid merupakan senyawa fenolik aktif utama dalam daun pare. Di antara banyaknya jenis flavonoid, luteolin merupakan salah satu flavonoid pada daun pare yang memiliki fungsi sebagai antioksidan paling utama yang bekerja dengan berbagai cara, seperti mendonasikan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga mengubah radikal bebas yang memiliki elektron tidak berpasangan menjadi molekul stabil yang tidak reaktif, dan mencegah kerusakan lebih lanjut pada sel-sel tubuh (Agustina, 2020). Dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti superoksida dismutase dan glutathion peroksidase, luteolin membantu menjaga keseimbangan redoks dalam sel (Alfaridz, 2018).

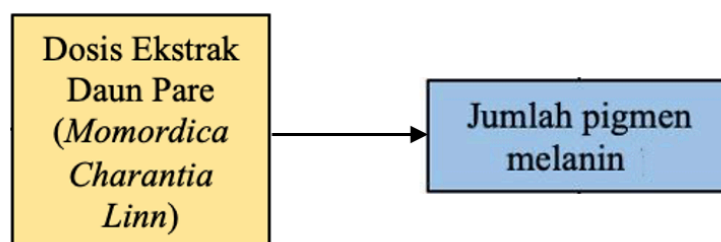
Flavonoid lain yang ditemukan dalam daun pare adalah kuersetin yang berperan sebagai agen antitirosinase. Senyawa tersebut dapat menghambat proses produksi melanin dengan mencegah jalur MAPK sehingga menurunkan ekspresi enzim tirosinase dan TRP1 (Tuerxuntayi *et al.*, 2014). Selain itu, juga terbukti menginduksi aktivasi jalur PI3K/Akt yang akhirnya menghambat aktivasi tirosinase pada sel melanoma (Yang *et al.*, 2017). Di sisi lain, juga dapat menghambat jalur MAPK sehingga menurunkan ekspresi enzim tirosinase dan TRP1 (Ballotti *et al.*, 2020). Flavonoid yang telah diekstrak dari daun pare berpotensi menjadi bahan alternatif untuk mengurangi gangguan hiperpigmentasi karena kemampuannya bertindak sebagai senyawa inhibitor kompetitif enzim tirosinase, di mana flavonoid menghambat aktivitas enzim tirosinase dalam jalur melanogenesis (Fithria *et al.*, 2017).



2.5. Kerangka Teori



2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Kerangka Konsep

2.7. Hipotesis Penelitian

Terdapat pengaruh pada pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental berjenis *post test only control group design*.

3.2. Variabel dan Definisi Operasional

3.2.1. Variabel Penelitian

3.2.1.1 Variabel Bebas

Dosis krim ekstrak daun pare (*Momordica charantia L.*).

3.2.1.2 Variabel Terikat

Jumlah pigmen melanin marmut jantan (*Cavia porcellus*).

3.2.2. Definisi Operasional

3.2.2.1 Dosis Krim ekstrak daun pare

Dosis krim ekstrak daun pare adalah sediaan topikal berbentuk krim yang diberikan kepada marmut dengan mengandung ekstrak daun pare sebanyak 5%, 7%, dan 10% dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol. Daun pare didapatkan dari daerah Surakarta, Jawa Tengah.

Skala data : Nominal

3.2.2.2 Jumlah pigmen melanin

Jumlah pigmen melanin adalah jumlah fraksi area yang terdapat pigmen melanin pada jaringan kulit dari sampel penelitian menggunakan pewarnaan Masson-Fontana. Perhitungan jumlah pigmen melanin secara kuantitas dihitung dengan jumlah sel melanosit yang terlihat sebagai bentuk granulo-granul memiliki warna hitam pada preparat yang terbuat dari jaringan kulit

kemudian dibandingkan dengan jumlah melanin di epidermis yang tampak pada sediaan preparat dengan perbesaran 400 kali (Hastiningsih *et al.*, 2015). Pembacaan dan perhitungan jumlah pigmen melanin dilakukan oleh dokter spesialis patologi anatomi di RSI Sultan Agung Semarang.

Skala data: Rasio

Satuan: Persen fraksi area (%)

3.3. Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1. Sampel

Sampel penelitian ini adalah marmut jantan (*Cavia porcellus*) karena karakteristiknya yang mirip kulit manusia dalam hal ketebalan, keberadaan melanosit, dan melanosom di epidermis, serta respons terhadap radiasi UV (Fitria, 2024). Marmut tersebut harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

Kriteria Inklusi, yaitu:

1. Marmut (*Cavia porcellus*) strain lokal
2. Marmut berjenis kelamin jantan (karena menghindari efek hormonal).
3. Berat badan 300-350 gram
4. Marmut berumur 3 bulan
5. Marmut dalam keadaan sehat (responsif, bergerak aktif, tidak ada luka, tidak ada cacat dan feses tidak cair)

Kriteria Eksklusi, yaitu:

1. Marmut yang memiliki kelainan pigmentasi/ albino

Kriteria Drop Out, yaitu:

1. Marmut yang mati selama atau saat diberi perlakuan

3.3.1.1 Besar Sampel Penelitian

Sampel penelitian terdiri dari marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang telah lolos dari kriteria inklusi dan eksklusi yang ditetapkan. Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus *Federer* untuk penelitian eksperimental dengan perhitungan sebagai berikut:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

n : Jumlah hewan percobaan

t : Jumlah kelompok percobaan

Penelitian ini membagi sampel menjadi 6 kelompok sehingga sampel dihitung menjadi:

$$(n - 1)(t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(6 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1)(5) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas maka dapat ditentukan bahwa penelitian ini melibatkan 6 kelompok, dengan masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari minimal 4 ekor marmut jantan (*Cavia porcellus*). Sehingga total sampel sebanyak 24 ekor marmut

jantan (*Cavia porcellus*) yang kemudian dipisah menjadi 6 kelompok yang setiap kelompok terdiri dari 4 ekor marmut.

3.3.1.2 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Marmut dipilih dengan *simple random sampling* dengan cara tiap marmut yang sesuai dengan kriteria inklusi diberi nomor urut, lalu diundi. Marmut dibagi menggunakan metode ini supaya tiap marmut mendapatkan kesempatan yang adil untuk menjadi sampel dalam penelitian (Notoatmojo, 2005).

3.4. Instrumen dan Bahan Penelitian

3.4.1. Instrumen

Berikut adalah daftar peralatan yang digunakan dalam penelitian:

1. Kandang marmut dengan tempat pakan dan minumannya
2. Pisau
3. Pisau bedah
4. UV B Lamp
5. Object glass
6. Deck glass
7. Kamera Optilab Pro
8. Mikroskop Olympus CX21
9. Mikrotom

3.4.2. Bahan

Berikut adalah daftar bahan yang digunakan dalam penelitian:

1. Marmut jantan (*Cavia porcellus*)
2. Ekstrak daun pare
3. Adeps Lanae
4. Asam Stearat
5. Parafin cair
6. TEA
7. Nipagin
8. Nipasol
9. Essens
10. Aquadest
11. Formalin 10%
12. Xylene
13. Ethanol (100%, 95%, 70%)
14. dH₂O (*deionized water*)
15. Reagen Silver Nitrate Masson-Fontana
16. Gold Chloride 1%
17. Sodium Thiosulfate 5%
18. Nuclear Fast Red

3.5. Cara Penelitian

3.5.1. Persiapan Hewan Coba

Hewan percobaan terdiri dari 24 ekor marmut jantan, dibagi secara acak menjadi 6 kelompok masing-masing berisi 4 ekor. Setelah itu, untuk beradaptasi dengan lingkungan baru, marmut diberi makan dua kali sehari, yaitu pada pukul 09.00 WIB dan 15.00 WIB, dan ditempatkan dalam kandang yang terpisah.

3.5.2. Pembuatan Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* Linn)

Ekstrak daun pare yang digunakan sebanyak 5%, 7%, dan 10%, di mana dasar dari penentuan dosis mengacu pada penelitian yang menunjukkan bahwa pada sediaan krim ekstrak daun pare 7% telah memenuhi persyaratan sifat fisik sediaan krim, meliputi organoleptis, homogenitas, pH, daya lekat dan daya sebar (Azzahra dan Prastiwi, 2019). Selain itu, pada penelitian lain yang menggunakan ekstrak daun sebagai zat aktifnya memiliki dosis tertinggi di 10%. Pada pembuatannya, ekstrak daun pare pertama kali dibuat dengan mencuci daun, mengirisnya tipis-tipis, dan mengeringkannya dalam oven pada suhu 65°C. Setelah dikeringkan, daun pare diekstraksi menggunakan teknik maserasi basah dengan pelarut etanol 96% dan HCl 1% yang memiliki perbandingan volume 9:1 sebanyak 1000 mL. Tahap maserasi berjalan selama 24 jam, setelah itu hasil filtrat ditampung dengan cara disaring terlebih dahulu. Filtrat kemudian diuapkan dengan mesin rotary vacuum evaporator hingga diperoleh ekstrak etanol yang teksturnya kental dan kemudian ditimbang. Rendemen dihitung dari berat ekstrak kental dibagi berat simplisia

awal, dikalikan 100%. Proses ekstraksi daun pare ini dilakukan di laboratorium Kimia FK UNISSULA Semarang.

3.5.3. Pembuatan Sediaan Basis Krim Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* Linn)

Proses pembuatan basis krim dibuat dengan komposisi yang berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, yaitu dengan formulasi sebagai berikut:

Tabel 3.1 Formulasi Basis Krim Ekstrak Etanol Daun Pare
(Azzahra dan Prastiwi, 2019)

Komponen	Kegunaan	Jumlah (gr)
Adeps Lanae	Basis Krim	1,5
Asam Stearat	Basis Krim	14,5
Parafin cair	Pelembut	5,0
TEA	Pelarut	1,5
Nipagin	Pengawet	0,1
Nipasol	Pengawet	0,05
Essens	Pewangi	1
Aquadest	Pelarut	76,35
Krim ad		100

Berikut ini adalah tahapan cara pembuatannya:

1. Bahan yang diperlukan ditimbang terlebih dahulu dan memisahkan bahan formulasi ke dalam dua kelompok yaitu fase minyak dan fase air.
2. Fase minyak, terdiri dari asam stearat, parafin cair, dan adeps lanae, dituang ke cawan porselen dan diletakkan di atas piring panas untuk dipanaskan dengan suhu 70°C hingga bentuknya menjadi meleleh.
3. Fase air, terdiri dari Trietanolamin (TEA) dan akuades, dan diletakkan di atas piring panas untuk dipanaskan dengan suhu 70°C sampai bentuknya menjadi meleleh.

4. Fase air dicampurkan sedikit demi sedikit dengan fase minyak, selanjutnya dituang nipasol dan nipagin dengan cara mengaduk hingga stabil sampai didapatkan massa krim yang sudah tercampur rata.

3.5.4. Pembuatan Krim Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* Linn)

Pembuatan krim ekstrak daun pare dilakukan dengan menambahkan ekstrak etanol daun pare sebanyak 5 gram, 7 gram, dan 10 gram ke dalam cawan porselen yang berisi basis krim dengan jumlah pelarut dan essens yang sudah disesuaikan sesuai ekstrak daun pare yang akan ditambahkan sehingga total berat dari krim sebanyak 100 gram. Ekstrak daun pare ini kemudian digerus perlahan-lahan sampai homogen. Proses ini memastikan bahwa ekstrak daun pare tercampur merata dalam krim, menghasilkan sediaan topikal yang siap digunakan.

Tabel 3.2 Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Pare
(Azzahra dan Prastiwi, 2019)

Komponen	Kegunaan	Jumlah (gr)
Ekstrak daun pare	Bahan aktif	5/7/10
Adeps Lanae	Basis Krim	1,5
Asam Stearat	Basis Krim	14,5
Parafin cair	Pelembut	5,0
TEA	Pelarut	1,5
Nipagin	Pengawet	0,1
Nipasol	Pengawet	0,05
Essens	Pewangi	q.s
Aquadest	Pelarut	q.s
Krim ad		100

3.5.5. Pengolesan Basis Krim dan Krim Ekstrak Daun Pare

Marmut yang sudah dikelompokkan masing-masing dicukur bulunya seluas $5 \times 5 \text{ cm}^2$ pada bagian punggung, kemudian tepat di tengah daerah pencukuran diberi tanda untuk area pengelosan krim seluas $3 \times 3 \text{ cm}^2$ (Azzahra dan Prastiwi, 2019). Pengolesan krim berjumlah 0,2 mg setiap cm^2 luas permukaan dari kulit marmut (Hastiningsih *et al.*, 2015). Pengolesan krim ekstrak daun pare dilakukan setiap hari pada pukul 9.40 (20 menit sebelum penyinaran) dan 14.00 (4 jam setelah penyinaran) selama 14 hari (Hastiningsih *et al.*, 2015). Pengolesan pada pukul 9.40 bertujuan untuk memberi waktu krim penetrasi ke dalam kulit sebelum dilakukan penyinaran, sedangkan pengolesan pukul 14.00 karena ROS diperkirakan mulai terbentuk 4 jam setelah penyinaran UV-B (Puspitasari *et al.*, 2017; Soejanto, 2017).

3.5.6. Pemaparan Sinar UVB pada Punggung Marmut

Pemaparan membutuhkan dua buah lampu Exoterra UV-B 250 25 watt (Soejanto, 2017). Pemaparan diberikan sebanyak 3 kali dalam waktu satu minggu yaitu pada hari Senin, Rabu, dan Jumat dengan dosis 65 mJ/cm^2 selama 15 menit setiap perlakuan paparan, sehingga jumlah keseluruhan dosis sinar yang didapat pada kelompok II, III, IV, V, dan VI adalah 390 mJ/cm^2 (Wibisono, 2020). Pemaparan dilakukan 20 menit setelah pemberian krim pukul 9.40 dengan tujuan untuk menunggu penyerapan krim dan pukul 14.00 yaitu 4 jam pasca pemaparan saat ROS mulai diproduksi. Penyinaran UV-B menggunakan kolom blok agar homogen pada kulit punggung marmut (Puspitasari *et al.*, 2017; Amalia, 2023). Pada hari yang tidak dilakukan

pemaparan sinar UVB, pengolesan krim tetap diberikan kepada marmut.

3.5.7. Uji Aktivitas Krim Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* Linn)

1. Marmut dipisah dengan metode acak menjadi 6 kelompok, yang setiap kelompok terdiri dari 5 ekor marmut. Marmut ditempatkan dalam kandang sesuai dengan kelompoknya. Perlakuan yang diberikan, yaitu:
 - Kelompok I (kontrol normal): kelompok marmut dengan perlakuan standar dan tidak dipapar sinar UVB
 - Kelompok II: hanya diberikan paparan sinar UVB dengan jumlah dosis keseluruhan sebanyak 390 mJ/cm^2 selama 2 minggu
 - Kelompok III: diberikan olesan basis krim dan dipapar sinar UVB dengan jumlah dosis keseluruhan sebanyak 390 mJ/cm^2 selama 2 minggu
 - Kelompok IV: diberikan olesan krim ekstrak daun pare 5% dan dipapar sinar UVB dengan jumlah dosis keseluruhan sebanyak 390 mJ/cm^2 selama 2 minggu
 - Kelompok V: diberikan olesan krim ekstrak daun pare 7% dan dipapar sinar UVB dengan jumlah dosis keseluruhan sebanyak 390 mJ/cm^2 selama 2 minggu
 - Kelompok VI: diberikan olesan krim ekstrak daun pare 10% dan dipapar sinar UVB dengan jumlah dosis keseluruhan sebanyak 390 mJ/cm^2 selama 2 minggu
2. Marmut di kelompok II, III, IV, V, dan VI dicukur bulu punggungnya $5 \times 5 \text{ cm}^2$ kemudian diberikan olesan basis krim pada kelompok III, krim

- ekstrak daun pare 5% pada kelompok IV, 7% pada kelompok V, dan 10% pada kelompok VI. Pemberian basis krim dan krim ekstrak daun pare berjumlah 0,2 mg setiap cm^2 luas permukaan dari kulit marmut.
3. Paparan UVB dilakukan pada kelompok II, III, IV, V, dan VI dengan dosis 65 mJ/cm^2 selama 15 menit pada masing-masing marmut dengan jumlah 3 kali dalam satu minggu yaitu pada hari Senin, Rabu, dan Jumat, sehingga jumlah keseluruhan dosis paparan UVB tiap marmut adalah 390 mJ/cm^2 dalam 2 minggu.
 4. Basis krim dan krim berisi ekstrak daun pare 5%, 7%, dan 10% yang dioleskan tiap hari sebanyak dua kali, yaitu 20 menit sebelum pemberian paparan dengan tujuan untuk menunggu penyerapan krim dan 4 jam pasca paparan saat ROS mulai diproduksi.
 5. Empat puluh delapan jam setelah paparan sinar UVB terakhir, untuk menghilangkan efek paparan akut, semua marmut di keenam kelompok diistirahatkan kemudian dieuthanasia dan diambil jaringan kulit punggungnya. Jaringan kulit dimasukkan dalam larutan buffer formalin 10%, dan dibuat sediaan histologis.

3.5.8. Pemeriksaan Jumlah Pigmen Melanin pada Kulit Marmut

1. Pengambilan jaringan epidermis kulit punggung marmut

Jaringan epidermis pada kulit punggung marmut diambil berdasarkan kelompok yang telah dibagi. Proses pengambilan jaringan dilakukan dengan cara sebagai berikut:

- Marmut dinarkose dalam *beaker glass* yang berisi kapas dan

kloroform selama 5 menit hingga mati.

- Setelah marmut mati, marmut difiksasi di stereoform.
- Bagian kulit punggung marmut diambil menggunakan scalpel dan pisau bedah.

Dengan prosedur ini, jaringan epidermis pada kulit punggung marmut dapat diambil dengan tepat untuk keperluan penelitian.

2. Pembuatan sediaan histologi epidermis kulit punggung marmut

• Tahap Fiksasi

Jaringan yang berasal dari punggung kulit marmut dimasukkan ke dalam rendaman buffer formalin fosfat dengan konsentrasi 10% dengan durasi 24 jam, selanjutnya dipotong sesuai bagian yang dibutuhkan.

• Tahap Dehidrasi

Jaringan tersebut kemudian dilakukan perendaman dengan serangkaian larutan alkohol dengan konsentrasi bertahap, dimulai dari 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, hingga 96%, dengan masing-masing konsentrasi dilakukan tiga kali perendaman dengan durasi 25 menit.

• Tahap Pembersihan

Jaringan dipindah ke rendaman agen pembersih (campuran alkohol dan *xylene* dengan rasio 1:1) selama 30 menit, lalu direndam ke *xylene* murni hingga jaringan menjadi tembus pandang.

• Tahap *Embedding*

Setelah proses infiltrasi dengan parafin murni yang diulang sejumlah empat kali, jaringan dimasukkan dalam parafin bentuk cair dan ditunggu hingga membentuk blok selama sekitar satu hari agar mudah dalam pemotongan menggunakan mikrotom.

- **Tahap Pemotongan**

Pemotongan jaringan menggunakan mikrotom Leica 8210 dengan ketebalan 5 μ . Irisan yang digunakan adalah irisan ke-5, ke-10, dan ke-15 kemudian ditempelkan pada *object glass* yang telah diolesi perekat, kemudian dilakukan pewarnaan Masson-Fontana.

- **Tahap Pewarnaan**

Proses pewarnaan jaringan dengan metode Masson-Fontana dilakukan sebagai berikut, yaitu:

- a. **Deparafinisasi**

Jaringan yang mengandung parafin dimasukkan ke rendaman *xylene* dua kali, setiap perendaman durasinya 5 menit, agar parafin hilang.

- b. **Rehidrasi**

Secara berurutan, slide didiamkan dalam etanol 100%, 95%, 70%, dan dH₂O, setiap perendaman durasinya 2 menit, untuk mengembalikan kelembaban jaringan.

- c. **Pewarnaan *Silver Nitrate Masson-Fontana***

Slide direndam dalam larutan *Silver Nitrate Masson Fontana* selama 2 jam dan diinkubasi pada suhu 56°C di dalam oven.

d. Pembilasan Pertama

Slide dibilas menggunakan dH₂O selama tiga kali, lalu diberikan tetesan larutan *Gold Chloride* 1% dan ditunggu dalam 5 menit.

e. Pembilasan Kedua

Slide dibilas kembali menggunakan dH₂O, dan diberikan tetesan larutan *Sodium Thiosulfate* 5% dan ditunggu sekitar 1 menit.

f. Pewarnaan *Nuclear Fast Red*

Slide dibilas menggunakan dH₂O dan dilakukan pewarnaan dengan *Nuclear Fast Red* dalam 5 menit.

g. Pembilasan dan Dehidrasi

Slide dibilas menggunakan dH₂O dan diulang dua kali pembilasan, kemudian diberikan dehidrasi bertahap dengan etanol 70%, 95%, dan 100%, selama 20 detik untuk setiap konsentrasi etanol.

h. *Clearing* dan *Mounting*

Slide dimasukkan ke dalam *xylene* sebanyak dua kali, tiap rendaman memiliki durasi 2 menit, kemudian dimounting pada medium yang berbasis *xylene*.

i. Hasil Pewarnaan

Granula melanin akan tampak sebagai warna hitam yang memiliki warna merah muda pada inti dari selnya, dan sitoplasma terlihat sebagai warna merah yang pucat (*pink-pale*).

3. Pengamatan jumlah melanin pada epidermis kulit punggung marmut

Perhitungan jumlah pigmen melanin dilakukan dengan cara analisis

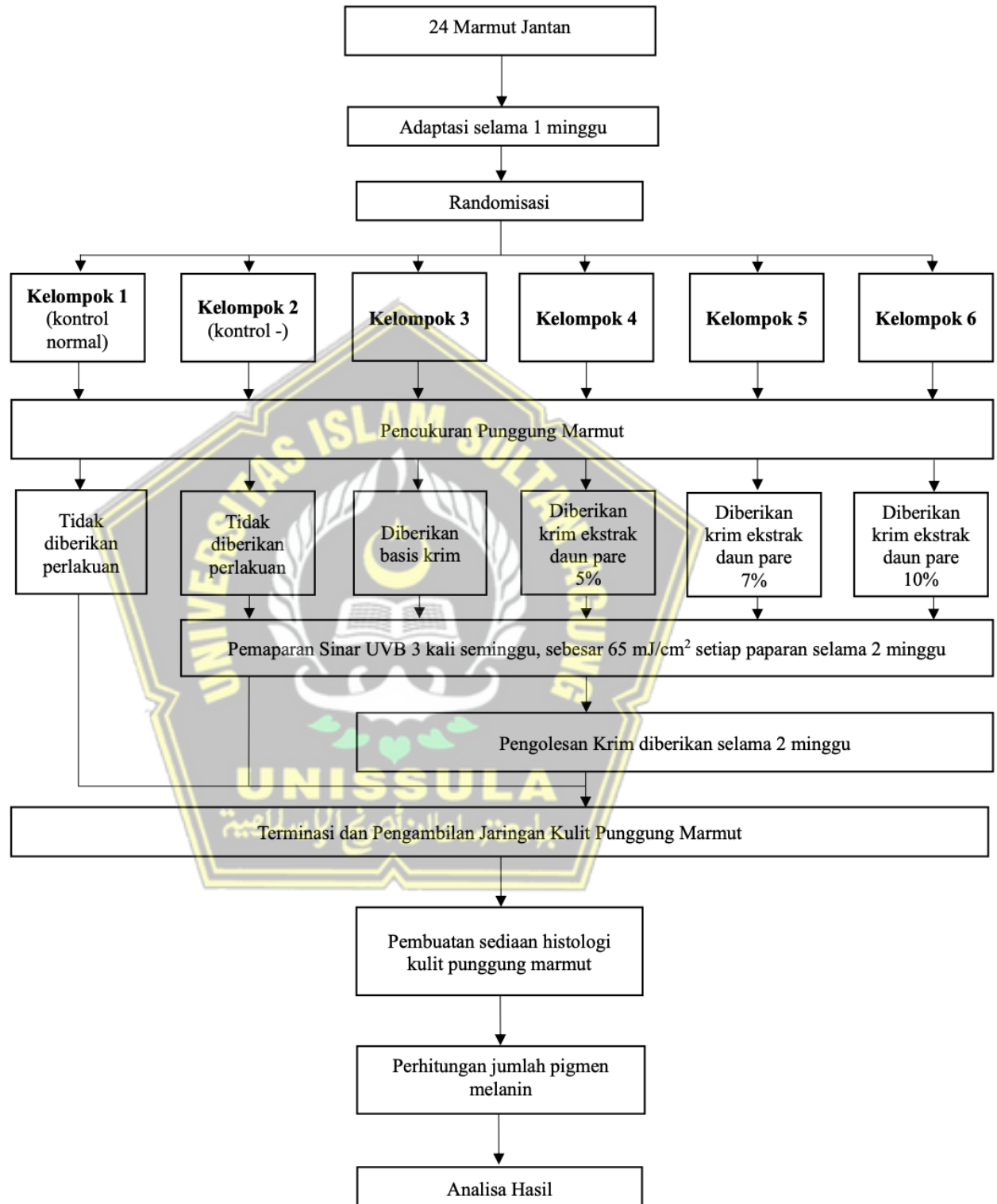
digital, di mana masing-masing preparat diabadikan dengan kamera Optilab Pro (Micronos, Indonesia) dan mikroskop Olympus CX21 (Olympus, Jepang) dalam pembesaran 400 kali. Setiap preparat diambil fotonya sebanyak lima kali dan disimpan menggunakan format JPEG. Preparat yang sudah difoto kemudian diedit dengan perangkat lunak Adobe Photoshop (Adobe Inc., San Jose, AS) dengan alat Polygonal Lasso Tool yang mengelilingi bagian tengah, kanan, dan kiri setiap preparat agar dapat mengetahui tanda jaringan epidermis. Pengambilan dari lapang pandang adalah dengan cara melihat area yang memiliki pigmen melanin terbanyak, yaitu daerah yang ditandai berwarna hitam (Fithria *et al.*, 2017).

4. Prosedur perhitungan jumlah pigmen melanin

Prosedur untuk menghitung dari jumlah pigmen melanin dengan cara menggunakan piranti lunak Image Roaster dan channel red pada RGB stack lalu mengatur thresholdnya hingga mencapai batas maksimal dan satuan yang dipakai adalah pixel (%). Agar jumlah melanin dapat dinormalisasi, maka diperlukan luas epidermis (Hastiningsih *et al.*, 2015). Jumlah melanin ternormalisasi dapat dihitung menggunakan rumus di bawah untuk setiap lapangan pandang:

$$\text{Jumlah melanin} = \frac{\text{pixel melanin} \times 100\%}{\text{pixel epidermis}}$$

3.6. Alur Penelitian



3.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Peracikan krim beserta pembuatan ekstrak daun pare dilaksanakan di Laboratorium Kimia IBL FK UNISSULA. Perlakuan marmut dilakukan di Laboratorium Hewan Coba IBL FK UNISSULA. Pengecatan preparat dilakukan di Laboratorium PA FK UNS. Penelitian berlangsung dari bulan Agustus hingga Oktober 2024.

3.8. Analisis Data

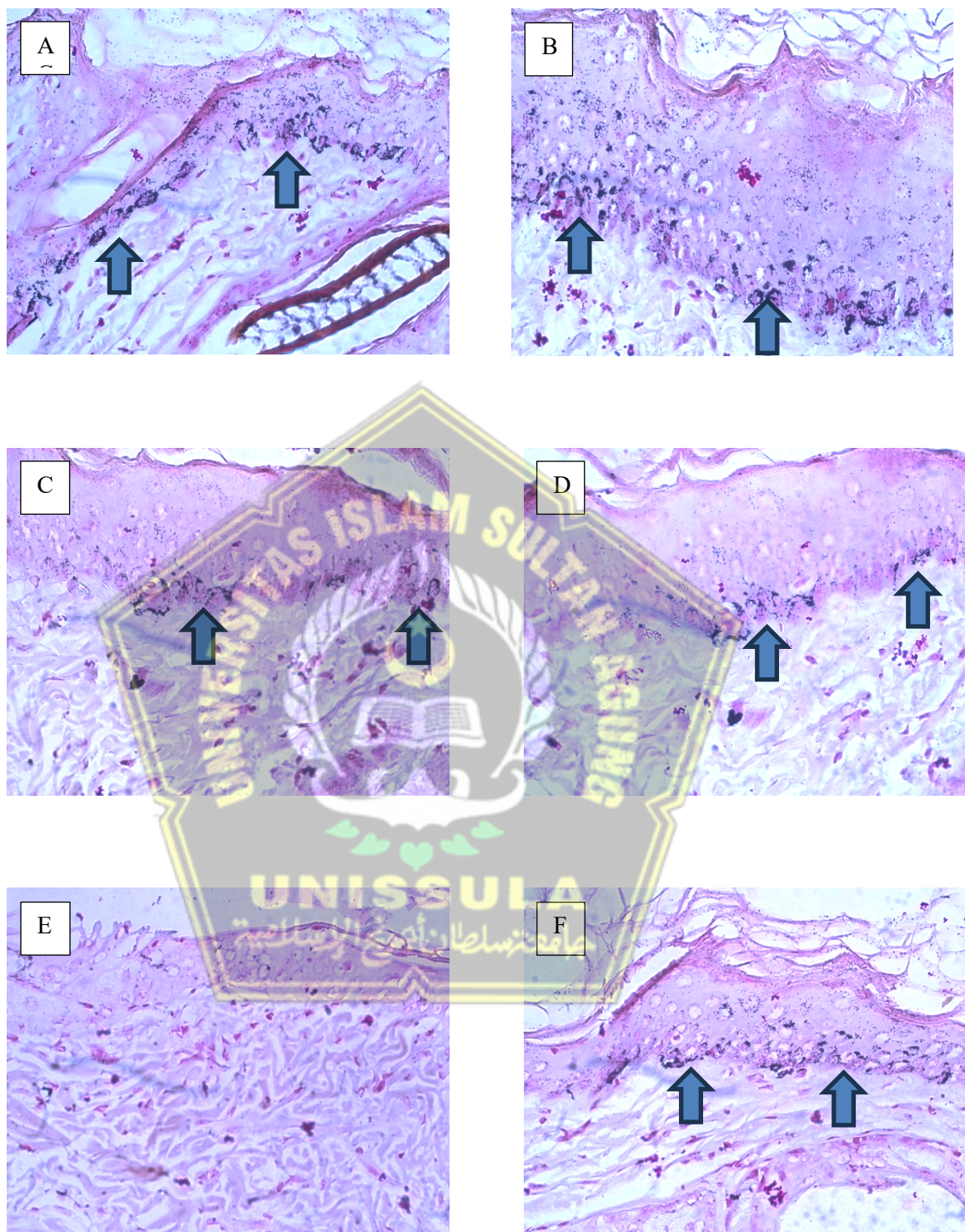
Data jumlah pigmen melanin diolah dengan SPSS. Untuk menganalisis dari normalitas digunakan uji *Shapiro-Wilk* dan hasil menunjukkan $p < 0,05$ yang artinya data tidak terdistribusi normal. Kemudian selanjutnya menganalisis homogenitas dengan uji *Lavene* dan didapatkan $p < 0,05$, yang memiliki interpretasi bahwa data tidak homogen. Dilakukan upaya untuk mengubah menjadi akar pangkat dua namun hasil menyatakan bahwa distribusi tetap tidak normal, kemudian untuk menganalisis komparasi menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan didapatkan $p < 0,05$. Lalu agar dapat menentukan adanya perbedaan antara masing-masing kelompok maka dilakukan uji *Pos Hoc Mann Whitney*.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Penelitian

Telah dilaksanakan penelitian di Laboratorium Hewan Coba IBL FK Unissula selama 14 hari pada bulan Agustus 2024. Penelitian menggunakan marmut jantan sejumlah 24 ekor yang dipisahkan ke dalam 6 kelompok dengan tiap kelompok terdapat 4 marmut. Kelompok I merupakan kelompok kontrol normal yang tidak mendapat perlakuan, kelompok II merupakan kelompok kontrol negatif yang hanya dipapar sinar UVB, kelompok III, IV, V, dan VI diberikan paparan sinar UVB dan basis krim, ekstrak krim daun pare 5%, 7%, dan 10%. Kemudian sebanyak 24 sediaan histologis dari jaringan kulit yang berasal dari punggung marmut yang sudah dibagi menjadi 6 kelompok disertakan dalam penelitian ini. Hasil akhir dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh dari pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan yang telah dipapar sinar UVB. Pengamatan pigmen melanin menggunakan Optilab Pro (Micronos, Indonesia) dan pembesaran 400 kali pada mikroskop Olympus CX21 (Olympus, Japan) dalam 5 lapang pandang. Hasil pengamatan pigmen melanin terlihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil pengecatan dengan Masson-Fontana

Keterangan:

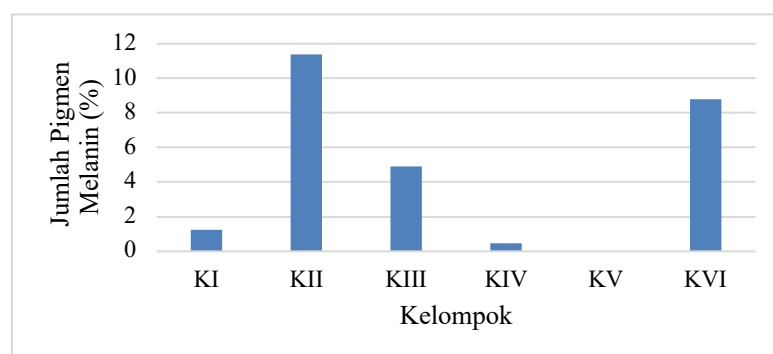
( = pigmen melanin)

- A. Kelompok I, epidermis tipis pigmen melanin tersusun di basal
- B. Kelompok II, pigmen melanin tersusun di basal
- C. Kelompok III, pigmen melanin di basal tidak merata terbelah-belah
- D. Kelompok IV, butiran-butiran pigmen melanin di basal
- E. Kelompok V, tidak tampak pigmen melanin
- F. Kelompok VI, butiran di basal ada yang hingga lapisan atas

Selanjutnya jumlah pigmen melanin dihitung menggunakan sebuah piranti lunak berjenis Image Roaster dan didapatkan jumlah dan rerata pigmen melanin pada Gambar 4.2. Terlihat pada gambar tersebut, dapat diambil kesimpulan bahwa KV yang diberikan krim ekstrak daun pare 7% menunjukkan hasil jumlah rerata pigmen melanin yang lebih sedikit dibandingkan KIV dan KVI yang diberikan krim ekstrak daun pare 5% dan 10%. Sedangkan kelompok yang memiliki jumlah rerata pigmen melanin tertinggi yaitu KII yang hanya diberikan paparan sinar UVB.

Gambar 4.2 Jumlah rerata pigmen melanin pada masing-masing kelompok.

K.I ($1,25 \pm 1,86$), K.II ($11,4 \pm 4,82$), K.III ($4,9 \pm 6,79$), K.IV ($0,45 \pm 1,15$), K.V (0), K.VI ($8,8 \pm 9,08$).



Kemudian jumlah pigmen melanin dianalisis menggunakan SPSS, untuk menentukan normalitasnya dengan *Shapiro Wilk test* dan homogenitasnya dengan *Levene's test*. Setelah dilakukan uji normalitas, hasil terlihat pada Tabel 4.1. yang menunjukkan kelompok data KI, KIII, KIV, KV, dan KVI memiliki $p < 0,05$ yang artinya kelompok data tersebut tidak terdistribusi normal dan kelompok data KII memiliki nilai signifikansi sebesar $0,127 > 0,05$ yang artinya data terdistribusi normal.

Tabel 4.1 Hasil uji normalitas dan homogenitas

Variabel	Signifikansi	Keterangan
K.I	0,000	Tidak Normal
K.II	0,127	Normal
K.III	0,000	Tidak Normal
K.IV	0,000	Tidak Normal
K.V	.	Tidak Normal
K.VI	0,008	Tidak Normal
Homogenitas	0,000	Data tidak homogen

Hasil uji homogenitas terlihat pada Tabel 4.1. dan berdasarkan tabel tersebut, didapatkan nilai p sebesar $0,000 < 0,05$, yang artinya bahwa ada perbedaan yang signifikan dalam varians antar kelompok. Oleh karena itu, kita dapat disimpulkan bahwa varians antar kelompok tidak homogen. Telah dilakukan upaya transformasi data dengan menggunakan akar pangkat dua (*square root*), namun hasil menyatakan bahwa data tetap terdistribusi tidak normal.

Langkah berikutnya setelah mengetahui bahwa hasil data didapatkan tidak berdistribusi normal dan tidak homogen maka dapat disimpulkan data tidak memenuhi syarat uji parametrik, sehingga untuk membedakan masing-masing kelompok menggunakan uji non parametrik lebih dari dua kelompok, yaitu uji

Kruskal Wallis dan didapatkan nilai p adalah sebesar $0,000 < 0,05$ yang artinya tolak hipotesis nol (H_0) dan dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan dalam keenam kelompok yang memiliki arti bahwa terdapat pengaruh pemberian krim ekstrak daun pare terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan yang dipapar sinar UVB.

Berikutnya agar dapat menentukan perbedaan pada setiap kelompok, maka dilanjutkan dengan *Mann Whitney test* yang merupakan lanjutan dari *Kruskal Wallis test* dan ditemukan hasil pada Tabel 4.2 berikut

Tabel 4.2 Hasil perbandingan masing-masing kelompok dengan uji *pos Hoc Mann Whitney*

Perbandingan Kelompok	Probabilitas	Keterangan
K.I dan K.II	0,000	Ada perbedaan
K.I dan K.III	0,114	Tidak ada perbedaan
K.I dan K.IV	0,253	Tidak ada perbedaan
K.I dan K.V	0,060	Tidak ada perbedaan
K.I dan K.VI	0,001	Ada perbedaan
K.II dan K.III	0,001	Ada perbedaan
K.II dan K.IV	0,001	Ada perbedaan
K.II dan K.V	0,001	Ada perbedaan
K.II dan K.VI	0,072	Tidak ada perbedaan
K.III dan K.IV	0,009	Ada perbedaan
K.III dan K.V	0,001	Ada perbedaan
K.III dan K.VI	0,121	Tidak ada perbedaan
K.IV dan K.V	0,429	Tidak ada perbedaan
K.IV dan K.VI	0,001	Ada perbedaan
K.V dan K.VI	0,001	Ada perbedaan

Berdasarkan hasil uji tabel diatas, diketahui bahwa 9 perbandingan antar kelompok yang memiliki $p < 0,05$ yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok. Sedangkan 7 perbandingan antar kelompok lainnya yang memiliki

$p > 0,05$ sehingga dapat diketahui bahwa tidak ditemukan perbedaan yang signifikan antara kelompok.

4.2. Pembahasan

Dalam penelitian ini, efektivitas ekstrak daun pare sebagai agen antimelanogenesis diuji melalui berbagai konsentrasi dalam bentuk krim. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan krim ekstrak etanol daun pare secara signifikan mampu mengurangi jumlah melanin dibandingkan kelompok yang hanya terpapar UVB tanpa perlindungan krim. Daun pare memiliki kandungan flavonoid sebagai antioksidan dan inhibitor enzim tirosinase sehingga jumlah melanin menurun (Merysia dan Pangkahila, 2018). Efektivitas pengurangan melanin bervariasi tergantung pada konsentrasi krim ekstrak daun pare yang diberikan.

Temuan pertama menunjukkan bahwa rerata jumlah pigmen melanin Kelompok I (kontrol normal) yaitu $1,25 \pm 1,86\%$, memiliki perbedaan dengan Kelompok II (kontrol negatif) yang sebanyak $11,4 \pm 4,82\%$, di mana mengindikasikan bahwa paparan sinar UVB pada Kelompok II dapat meningkatkan produksi melanin (Merysia dan Pangkahila, 2018). Hasil ini sejalan dengan teori yang menyatakan bahwa radiasi UVB dapat merusak gugus sulfhidril, yaitu penghambat alami enzim tirosinase. Kerusakan ini mengakibatkan peningkatan aktivitas tirosinase, yang memicu proses melanogenesis dan meningkatkan aktivitas melanosit, sehingga kulit memproduksi lebih banyak melanin sebagai respons perlindungan terhadap paparan sinar UVB (Bae *et al.*, 2016).

Pada kelompok II (kontrol negatif) dengan kelompok III ditemukan perbedaan jumlah pigmen melanin yang signifikan dengan kelompok III lebih

rendah, hal ini mengindikasikan bahwa basis krim dapat mencegah pembentukan pigmen melanin. Pemilihan dari basis krim memengaruhi hasil tersebut, salah satunya asam stearat yang selain berfungsi sebagai emulgator dan pengental, juga dapat berfungsi sebagai *skin barrier* dengan cara merekatkan sel-sel lapisan pelindung kulit, menjaga kelembapan kulit, dan mengatasi iritasi sehingga efek buruk terhadap paparan sinar UVB dapat ditangkal (Pereira-Leite *et al.*, 2023).

Selanjutnya, jumlah rerata pigmen melanin pada kelompok IV diberikan krim ekstrak daun pare 5% memiliki nilai sebanyak $0,45 \pm 1,15\%$, hal ini menunjukkan bahwa dengan dosis 5% menunjukkan efektivitas tinggi tetapi tidak sepenuhnya menghilangkan produksi melanin, sehingga masih memungkinkan melanin untuk terbentuk. Pada kelompok V didapatkan jumlah rerata pigmen melanin sebanyak 0%, di mana tidak ditemukan melanin sama sekali. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi ini mampu mencegah pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) secara optimal, sehingga melanosit tidak terangsang untuk memproduksi pigmen melanin. Kemudian, pada Kelompok VI memiliki jumlah rerata pigmen melanin sebanyak $8,8 \pm 9,08\%$ yang menandakan bahwa konsentrasi 10% dapat menurunkan produksi pigmen melanin namun kurang efektif dalam memberikan perlindungan yang serupa pada kelompok IV dan V.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa antara Kelompok II dengan Kelompok III, IV, dan V ditemukan perbedaan jumlah pigmen melanin yang signifikan, sehingga menegaskan bahwa basis krim dan krim ekstrak daun pare dengan dosis 5% dan 7% efektif mengurangi produksi melanin yang disebabkan oleh paparan UVB. Sebaliknya, tidak ada perbedaan signifikan antara Kelompok II

dan VI yang menunjukkan bahwa dosis 10% kurang optimal dalam mencegah produksi melanin. Penelitian sebelumnya oleh Tsai *et al.*, 2014 turut mendukung temuan ini, di mana konsentrasi ekstrak etanol daun pare 200 µg/mL atau setara dengan 0,02% berhasil menghambat pembentukan melanin hingga 41,2%. Selain itu, sediaan krim ekstrak etanol daun pare 7% terbukti memenuhi syarat sifat fisik yang meliputi uji organoleptis, uji pH, daya lekat, homogenitas, dan daya sebar (Azzahra dan Prastiwi, 2019).

Efektivitas yang menurun pada konsentrasi tinggi, seperti pada dosis 10% disebabkan oleh fenomena kurva efek “U” pada dosis optimal, sebagaimana dikemukakan oleh Davis dan Svendsgaard, 1990 yang menjelaskan bahwa pada konsentrasi tertentu, suatu bahan atau senyawa memberikan efek optimal, namun jika konsentrasi tersebut meningkat terlalu tinggi, efek tersebut malah menurun. Hal ini disebabkan oleh perubahan metabolisme tubuh atau munculnya efek samping yang dapat mengurangi efektivitas senyawa tersebut (Milton *et al.*, 2017). Dalam konteks ekstrak daun pare, ketika konsentrasi meningkat terlalu tinggi, efek antimelanogenesis yang diharapkan justru bisa berkurang. Peningkatan konsentrasi bisa menyebabkan tubuh tidak lagi dapat memproses senyawa dengan efisien, atau bahkan memicu respons biologis yang tidak diinginkan.

Selain itu, konsentrasi tinggi dapat mengubah sifat senyawa aktif dalam ekstrak, yang dapat memengaruhi stabilitasnya. Menurut Lecci *et al.*, 2021 beberapa senyawa dalam ekstrak tumbuhan dapat terdegradasi atau saling berinteraksi secara antagonis pada konsentrasi tinggi, yang mengurangi efektivitasnya. Penelitian ini juga mengemukakan bahwa pada konsentrasi tinggi,

antioksidan yang seharusnya melindungi sel dapat berbalik menjadi pro-oksidan, meningkatkan stres oksidatif yang dapat mendorong produksi melanin lebih banyak, bukannya mengurangnya.

Faktor lain yang mempengaruhi efektivitas pada konsentrasi tinggi adalah viskositas krim. Seperti yang dijelaskan oleh Mishra dan Bonde, 2020 pada konsentrasi yang lebih tinggi, krim dapat menjadi lebih kental, yang menghambat penetrasi bahan aktif ke dalam lapisan kulit, mengurangi kemampuan ekstrak daun pare untuk bekerja secara optimal. Serre et al., 2018 menambahkan bahwa dosis tinggi dari inhibitor tirosinase dapat memicu efek *rebound* dalam sintesis melanin, yang berpotensi menyebabkan apoptosis pada sel melanosit yang berlebihan dan akhirnya merusak proses pengendalian produksi melanin. Semua faktor ini menunjukkan bahwa pemilihan konsentrasi yang tepat sangat penting untuk memastikan efektivitas dan menghindari potensi efek samping.

Penelitian yang dilakukan memiliki beberapa keterbatasan, yaitu perlu dikaji ulang mengenai pemilihan bahan pada basis krim yang tidak memiliki fungsi protektif sehingga tidak menjadi faktor perancu dalam penelitian. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek samping dan keamanan dari pemberian krim ekstrak daun pare dengan dosis 5% dan 7% jika diterapkan pada kulit manusia.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

5.1.1 Pemberian krim ekstrak daun pare berpengaruh terhadap jumlah pigmen melanin pada marmut jantan (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB.

5.1.2 Jumlah pigmen melanin pada kelompok marmut yang hanya diberikan paparan sinar UVB tanpa pemberian krim ekstrak daun pare lebih tinggi sebanyak 11,14% dibandingkan dengan yang diberikan krim ekstrak daun pare.

5.1.3 Jumlah pigmen melanin pada kelompok marmut yang diberikan paparan sinar UVB dan krim ekstrak daun pare 5%, 7%, dan 10% secara berturut-turut adalah sebanyak 0,45%, 0%, dan 8,8% lebih rendah dibandingkan dengan yang hanya diberikan paparan sinar UVB.

5.1.4 Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah pigmen melanin antara marmut yang dipapar sinar UVB tanpa pemberian krim ekstrak daun pare dengan yang diberikan krim ekstrak daun pare 5% dan 7%, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan pemberian krim ekstrak daun pare 10%.

5.2. Saran

5.2.1 Meneliti lebih lanjut mengenai pemilihan komposisi dari basis krim yang tidak memberikan efek proteksi terhadap sinar UVB sehingga tidak menjadi faktor perancu dalam penelitian.

5.2.2 Meneliti lebih lanjut mengenai efek samping dan keamanan dari pemakaian krim ekstrak daun pare 5% dan 7%.



DAFTAR PUSTAKA

Agustina, A. (2020) 'Penentuan Potensi Antidiabetes Senyawa Katekin dan Luteolin pada Ekstrak Air Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-Glukosidase secara In Silico'. Universitas Brawijaya.

Ahmad, N. *et al.* (2016) 'Momordica charantia: for traditional uses and pharmacological actions', *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 6(2), pp. 40–44.

Alfaridz, F. (2018) 'Review jurnal: klasifikasi dan aktivitas farmakologi dari senyawa aktif flavonoid', *Farmaka*, 16(3).

Amalia, M.R. (2023) 'Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Kulit Petai Terhadap Ekspresi Gen MTF dan Jumlah Melanin (Studi Eksperimental in Vivo Pada Tikus Wistar Model Hiperpigmentasi yang Terpapar UVB)'. Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Anjani, N.L.A.K. and Laksmiani, N.P.L. (2022) 'Potensi Isokuersitrin Sebagai Agen Antihiperpigmentasi Secara In Silico Dengan Metode Molecular Docking', in *Prosiding Workshop dan Seminar Nasional Farmasi*, pp. 171–181.

Azzahra, F. and Prastiwi, H. (2019) 'Formulasi Dan Uji Sifat Fisik Sediaan Krim Dan Salep Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia* L.)', *Jurnal Kefarmasian Akfarindo*, pp. 1–7.

Bae, S.H. *et al.* (2016) 'The comparison of the melanin content and UV exposure affecting aging process: seven countries in Asia', *Journal of Cosmetic Dermatology*, 15(4), pp. 335–342.

Ballotti, R., Cheli, Y. and Bertolotto, C. (2020) 'The complex relationship between MITF and the immune system: a Melanoma ImmunoTherapy (response) Factor?', *Molecular cancer*, 19, pp. 1–12.

Bastonini, E., Kovacs, D. and Picardo, M. (2016) 'Skin pigmentation and pigmentary disorders: focus on epidermal/dermal cross-talk', *Annals of dermatology*, 28(3), p. 279.

Bera, B. *et al.* (2021) *Co-variance nexus between ultraviolet index and tropospheric ozone during COVID-19 lockdown over megacities of India*. Available at: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-297076/v1>.

Brenner, M. and Hearing, V.J. (2018) 'The protective role of melanin against UV damage in human skin', *Photochemistry and photobiology*, 84(3), pp. 539–549.

Cao, W. *et al.* (2021) 'Unraveling the structure and function of melanin through synthesis', *Journal of the American Chemical Society*, 143(7), pp. 2622–2637.

Chang, T.-S. (2009) 'An updated review of tyrosinase inhibitors.', *International journal of molecular sciences*, 10(6), pp. 2440–2475. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>.

Ebanks, J.P., Wickett, R.R. and Boissy, R.E. (2019) 'Mechanisms regulating skin

pigmentation: the rise and fall of complexion coloration', *International journal of molecular sciences*, 10(9), pp. 4066–4087.

Elviana, M., Pramuningtyas, R. and KK, S. (2017) 'Hubungan Antara Penggunaan Kontrasepsi Oral Kombinasi Dengan Kejadian Melasma di Kecamatan Grogol Sukoharjo'. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Fauziah, F. *et al.* (2019) 'Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Sediaan Salep Dari Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica Charantia* L) Sebagai Obat Luka', *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 2(1), pp. 45–51.

Fauziyyah, R.N.P., Komariah, M. and Herliani, Y.K. (2023) 'Sunlight Exposure and Protection Behavior as Prevention of Skin Cancer in Nursing Students', *Indonesian Journal of Cancer*, 17(1), pp. 1–8.

Fithria, R.F., Anas, Y. and Putri, F.A.W. (2017) 'The antihyperpigmentation effect pare leaves (*Momordica charantia* L.) ethanol extract on guinea pig (*Cavia porcellus*) Skin', *CENDEKIA EKSAKTA*, 2(1).

Fithria, R.F., Anas, Y. and Safitri, E.I. (2019) 'Antihyperpigmentation Combination Of Ethanol Extract Of Turmeric (*Curcuma domestica* Val.) And Bitter Melon Leaves (*Momordica charantia* L.) On Guinea Pig (*Cavia porcellus*) Skin'.

Fitria, L. (2024) 'Analisis Kulit Marmut sebagai Model Hewan dalam Penelitian Dermatologi dan Kedokteran Estetika', *Berkala Ilmiah Biologi*, 15(2), pp. 64–74.

Gloster Jr, H.M. and Neal, K. (2016) 'Skin cancer in skin of color', *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(5), pp. 741–760.

Gunarti, N.S. and Hidayah, H. (2022) 'Flavonoid compounds of tapak liman plant (*Elephantopus scaber*) as antihyperuricemia', *Jurnal Ilmiah Farmasi*, pp. 31–36.

Hastiningsih, I., Pangkahila, W. and Wiraguna, A. (2015) 'Krim ekstrak etanol kulit batang pohon nangka (*Arthocarpus heterophilus*) sama efektifnya dengan krim hidrokuinon dalam mencegah peningkatan jumlah melanin pada kulit marmut (*Cavia porcelus*) yang dipapar sinar UVB [thesis]', *Denpasar: Universitas Udayana* [Preprint].

Jusri, R. *et al.* (2019) 'Comparison of antioxidant and anti-hyaluronidase potentials of pineapple core extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) and luteolin', *Majalah Kedokteran Bandung*, 51(2), pp. 63–69.

Khoirunnisa, I. and Sumiwi, S.A. (2019) 'Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi. Farmaka, 17 (2), 131–142'.

Kindred, C. and Halder, R.M. (2014) 'Pigmentation and skin of color', *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, pp. 27–37.

Kunnaryo, H.J.B. and Wikandari, P.R. (2021) 'Antosianin dalam produksi fermentasi dan perannya sebagai antioksidan', *Unesa Journal of Chemistry*, 10(1), pp. 24–36.

Leslie, B., Saghari, S. and Weisberg, E. (2009) 'Cosmetic Dermatology: Principles and

Practice'. New York: McGraw-Hill Professional Publishing.

Lestari, S. (2011) 'Cosmeceutical Untuk Hiperpigmentasi', in *Journal of Cosmetic Dermatology Update Symposium Proceedings*.

Mangirang, F. *et al.* (2019) 'Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pare *Momordica charantia* Linn Terhadap Larva *Artemia salina* Leach Dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test', *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*, 2(1), pp. 22–27.

Merysia, M. and Pangkahila, W. (2018) 'Cream of leaf pare extract (*Momordica charantia* L) 4% takes the improvement of effective melanin numbers with 4% hydroquinone cream on marmot skin (*Cavia porcellus*) heart which uses UVB ultraviolet light', *IJAAM (Indonesian Journal of Anti-Aging Medicine)*, 2, pp. 24–27.

Minerva, P. (2018) 'Hiperpigmentasi'.

Miyashita, A. *et al.* (2022) 'Improving water dispersibility and bioavailability of luteolin using microemulsion system', *Scientific Reports*, 12(1), p. 11949. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16220-4>.

Mohania, D. *et al.* (2017) 'Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism', *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment*, pp. 71–87.

Mull, A., Zolekar, A. and Wang, Y.-C. (2015) 'Understanding Melanocyte Stem Cells for Disease Modeling and Regenerative Medicine Applications', *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp. 30458–30469. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms161226207>.

Mustika, B.R., Harlisa, P. and Riza, M. (2021) 'Pengaruh Krim Ekstrak Jinten Hitam (*Nigella Sativa*) Terhadap Kecerahan Kulit', *Prosiding Konstelasi Ilmiah Mahasiswa Unissula (KIMU) Klaster Kesehatan*, 1(1).

Oyelere, S.F. *et al.* (2022) 'A detailed review on the phytochemical profiles and anti-diabetic mechanisms of *Momordica charantia*', *Heliyon*, 8(4).

Pereira-Leite, C. *et al.* (2023) 'Exploring Stearic-Acid-Based Nanoparticles for Skin Applications—Focusing on Stability and Cosmetic Benefits', *Cosmetics*, 10(4), pp. 1–15. Available at: <https://doi.org/10.3390/cosmetics10040099>.

Puspitasari, P., Wiraguna, A.A.G. and Pangkahila, W. (2017) 'Krim ekstrak teh hijau 20% (*Camellia sinensis*) mencegah peningkatan jumlah melanin sama efektif dengan krim hidrokinon 4% pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang dipajan sinar ultraviolet B', *Jurnal Biomedik: JBM*, 9(2).

Qi, Weidong *et al.* (2022) 'Quercetin: Its Antioxidant Mechanism, Antibacterial Properties and Potential Application in Prevention and Control of Toxipathy', *Molecules*, 27(19). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27196545>.

Schlessinger, D.I., Anoruo, M. and Schlessinger, J. (2023) 'Biochemistry, melanin', in *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

Slominski, R.M. *et al.* (2022) 'Melanoma, Melanin, and Melanogenesis: The Yin and Yang Relationship', *Frontiers in Oncology*, 12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.842496>.

Soejanto, A.S. (2017) 'Pemberian Krim Ekstrak Metanolik Buah Delima Merah (*Punica granatum*) Menghambat Penurunan Jumlah Kolagen Dermis Kulit Mencit (*Mus gusculus*) Yang Dipapar Sinar Ultraviolet B', *E-Jurnal Indonesian Journal of Anti Aging Medicine*, 1(1), pp. 1–9.

Suryani, A. (2020) 'Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pigmentasi Manusia', *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(9), pp. 682–685.

Tsai, T.-H. *et al.* (2014) 'Antioxidant, cell-protective, and anti-melanogenic activities of leaf extracts from wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) cultivars', *Botanical studies*, 55, pp. 1–11.

Tuerxuntayi, A. *et al.* (2014) 'Kaliziri extract upregulates tyrosinase, TRP-1, TRP-2 and MITF expression in murine B16 melanoma cells', *BMC complementary and Alternative Medicine*, 14, pp. 1–9.

Videira, I.F. dos S., Moura, D.F.L. and Magina, S. (2014) 'Mechanisms regulating melanogenesis.', *Anais brasileiros de dermatologia*, 88(1), pp. 76–83. Available at: <https://doi.org/10.1590/s0365-05962013000100009>.

Wang, Y. *et al.* (2017) 'Precise role of dermal fibroblasts on melanocyte pigmentation', *Journal of dermatological science*, 88(2), pp. 159–166.

Wibisono, E.W. (2020) 'Krim Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal (*Allium sativum*) Menghambat Penebalan Epidermis Tikus Wistar Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Sinar Ultraviolet-B', *Jurnal Kesehatan Andalas*, 9(1), pp. 1–6.

Xu, D. *et al.* (2019) 'Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application.', *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules24061123>.

Yang, J.-W. *et al.* (2023) 'The role and safety of UVA and UVB in UV-induced skin erythema', *Frontiers in Medicine*, 10, p. 1163697.

Yang, S.H. *et al.* (2017) 'Soyasaponin Ag inhibits α -MSH-induced melanogenesis in B16F10 melanoma cells via the downregulation of TRP-2', *International journal of molecular medicine*, 40(3), pp. 631–636.

Yuan, X.H. and Jin, Z.H. (2018) 'Paracrine regulation of melanogenesis', *British Journal of Dermatology*, 178(3), pp. 632–639. Available at: <https://doi.org/10.1111/bjd.15651>.

Zamudio Díaz, D.F. *et al.* (2024) 'Significance of melanin distribution in the epidermis for the protective effect against UV light', *Scientific Reports*, 14(1), p. 3488.