

PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus alba* L.) TERHADAP KADAR *ALPHA-MELANOCYTE STIMULATING HORMONE* DAN *STEM CELL FACTOR*

(Studi Eksperimental pada mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi Akibat Paparan UV-B)

Tesis

Untuk memenuhi sebagai persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Siti Handayani

MBK2423010471

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2025

TESIS

PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus alba* L.) TERHADAP KADAR *ALPHA-MELANOCYTE STIMULATING HORMONE* DAN *STEM CELL FACTOR* (Studi Eksperimental pada mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi Akibat Paparan UV-B)

disusun oleh:

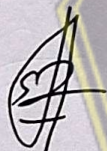
Siti Handayani

MBK2423010471

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
Pada tanggal 13 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui:

Pembimbing I



Dr. Suparmi S.Si, M.Si(ERT).
NIK. 210 109 126

Pembimbing II



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK 210 113 160

Mengetahui,

Ketua program studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung




Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK 210 113 160

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan Lembaga Pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan daftar pustaka.

Semarang, 03 Agustus 2025

dr. Siti Handayani, M.HKes



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Siti Handayani, M.HKes
Tempat, tanggal lahir : Sukoharjo, 24 November 1981
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN Pondok 2 : Lulus Tahun 1993
2. SMPN 02 Sukoharjo : Lulus Tahun 1996
3. SMAN 01 Sukoharjo : Lulus Tahun 1999
4. S1 Fakultas Kedokteran UNISSULA : Lulus Tahun 2004
5. Profesi Dokter : Lulus Tahun 2006
6. S2 Fakultas Hukum UNSOED : Lulus Tahun 2017

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr. Karmono Sutadi, Sp.A, M.HKes
2. Nama Anak :
 - a. Hydar Arkananta Irfansyauqi
 - b. Carrisaretha Rucira Astagina
 - c. Raisayehsa Azkia Mahya

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus alba* L.) TERHADAP KADAR *ALPHA-MELANOCYTE STIMULATING HORMONE* DAN *STEM CELL FACTOR* (Studi Eksperimental pada Mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi Akibat Paparan UV-B).**

Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Megister (S2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam dalamnya kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rector yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Megister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Dr. Suparmi S.Si, M.Si (ERT) selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
5. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
6. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. D.V.E., SUBSp.D.K.E selaku penguji I yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.

7. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF selaku penguji II yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
8. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji III yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
10. Suami dan anak tercinta, orang tua, keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doa selama penulis menjalani pendidikan.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Amiin yaa rabbal alamin.

Semarang, 03 Agustus 2025

Penulis,

dr. Siti Handayani, M.HKes

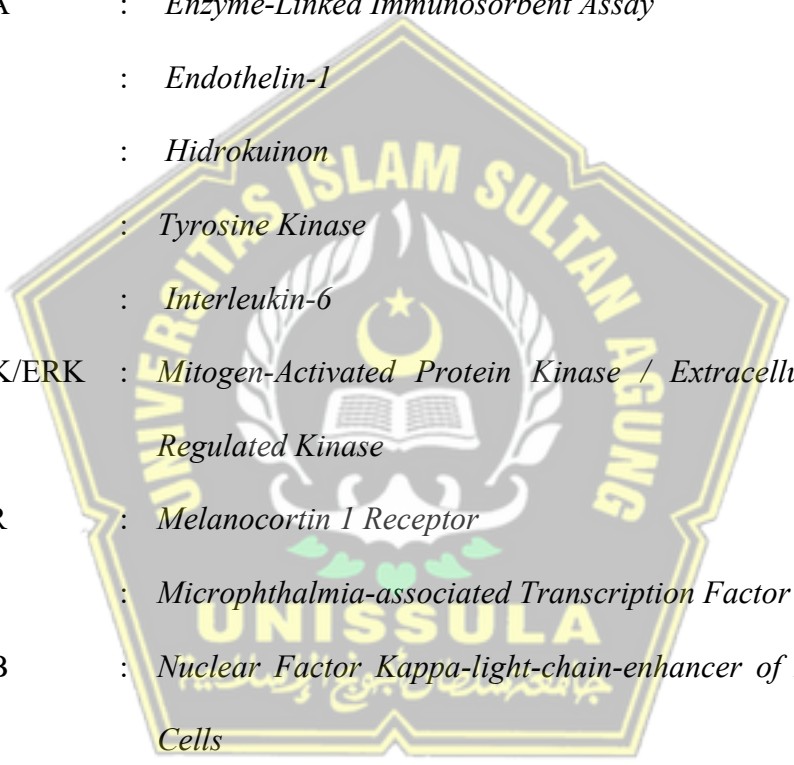
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
ABSTRAK.....	xiv
<i>ABSTRACT</i>	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 <i>Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone</i> (α -MSH).....	10
2.1.1 Definisi	10
2.1.2 Metode Pengukuran α -MSH.....	11
2.1.3 Dampak UV-B Terhadap α -MSH.....	12
2.1.4Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar α -MSH.....	13
2.2 <i>Stem Cell Factor</i> (SCF).....	15
2.2.1 Definisi	15
2.2.2 Metode Pengukuran SCF	17
2.2.3 Dampak UV-B Terhadap SCF	18
2.2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar SCF	19
2.3 Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	20

2.3.1 Klasifikasi dan Karakteristik Morfologi.....	20
2.3.2 Kandungan Senyawa Aktif Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	22
2.3.3 Efektivitas Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	25
2.3.4 Perbandingan Efektivitas Mulberry (<i>Morus alba</i> L.) dengan Terapi Konvensional.....	27
2.4 Sediaan Serum	28
2.4.1 Definisi dan Karakteristik.....	28
2.4.2 Keunggulan Serum Dibandingkan Sediaan Kosmetik Lainnya	29
2.4.3 Komposisi Sediaan Serum Ekstrak Mulberry (<i>Morus alba</i> L.).....	30
2.5 Hiperpigmentasi.....	31
2.5.1 Sinar Ultraviolet-B (UV-B)	31
2.5.2 Mekanisme Hiperpigmentasi.....	31
2.5.3 Faktor-faktor Penyebab Hiperpigmentasi.....	33
2.5.4 Dampak dan Terapi Hiperpigmentasi.....	35
2.6 Pengaruh Serum Ekstrak Mulberry terhadap Kadar α -MSH dan SCF.....	37
2.7 Model <i>In Vivo</i> Mencit C57BL/6.....	38
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	39
3.1 Kerangka Teori.....	39
3.2 Kerangka Konsep	42
3.3 Hipotesis.....	42
BAB IV METODE PENELITIAN	43
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	43
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	44
4.2.1. Variabel Penelitian	44
4.2.2. Definisi Operasional	45
4.3 Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	46
4.3.1. Subjek Penelitian	46
4.3.2. Sampel Penelitian	46
4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	47
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	49
4.4.1 Alat	49
4.4.2 Bahan	50
4.5 Prosedur Penelitian	50
4.5.1 <i>Ethical Clearance</i>	50

4.5.2 Persiapan Sampel.....	51
4.5.3 Pembuatan Ekstrak Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	51
4.5.4 Prosedur Pembuatan Serum Ekstrak Mulberry	52
4.5.5 Prosedur Paparan UV-B	53
4.5.6 Penetapan Konsentrasi Ekstrak	54
4.5.7 Pengambilan Sampel	54
4.5.8 Analisis Biomarker	55
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian.....	57
4.7 Analisis Data.....	58
4.8 Alur Penelitian	59
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	60
5.1 Hasil Penelitian.....	60
5.1.1 Validasi Model Hiperpigmentasi Gambaran Makroskopis Jaringan Kulit Mencit Menggunakan Dermoskop riester ri-scope ri-derma.....	61
5.1.2 Kadar α -MSH pada Jaringan Kulit	63
5.1.3 Kadar SCF pada Jaringan Kulit.....	66
5.2 Pembahasan	67
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	73
6.1 Kesimpulan.....	73
6.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN.....	89

DAFTAR SINGKATAN



α -MSH	: <i>Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone</i>
CREB	: <i>cAmp Response Element Binding Protein</i>
CRTC1	: <i>CREB-Regulated Transcription Coactivator 1</i>
c-KIT	: <i>Cell-Derived KIT</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ET-1	: <i>Endothelin-1</i>
HQ	: <i>Hidrokuinon</i>
KIT	: <i>Tyrosine Kinase</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
MAPK/ERK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase / Extracellular signal-Regulated Kinase</i>
MC1R	: <i>Melanocortin 1 Receptor</i>
MITF	: <i>Microphthalmia-associated Transcription Factor</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells</i>
NLC	: <i>Nanostructured Lipid Carrier</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PIH	: <i>Post-Inflammatory Hyperpigmentation</i>
POMC	: <i>Pro-opiomelanocortin</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCF	: <i>Stem Cell Factor</i>

SOX10 : *SRY-Related HMG-Box 10*

TYRP1 : *Tyrosinase Related Protein 1*

TYRP2 : *Tyrosinase Related Protein 2*

UV-B : *Ultraviolet B*



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 2.1 Kandungan dan Komposisi Senyawa Aktif Mulberry	23
Tabel 4.1 Formula Serum Ekstrak Mulberry	50
Tabel 5.1 Hasil Pembacaan sel Melanosit.....	63
Tabel 5.2 Kadar α -MSH pada Jaringan Kulit	64
Tabel 5.3 Uji Mann-Whitney kadar α -MSH Antar Kelompok Penelitian	65
Tabel 5.4 Kadar SCF pada Jaringan Kulit	66



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	21
Gambar 2.2 Mekanisme Terjadinya Hiperpigmentasi	31
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	39
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	40
Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian.....	41
Gambar 5.1 Gambaran jaringan kulit mencit menggunakan alat dermoskop riester ri-scope ri-derma	62
Gambar 5.2 Kadar α -MSH dari jaringan kulit mencit tiap kelompok perlakuan..	65
Gambar 5.3 Kadar SCF dari jaringan kulit mencit tiap kelompok perlakuan.....	67



ABSTRAK

Latar Belakang: Hiperpigmentasi akibat sinar UV-B berkaitan dengan peningkatan α -MSH dan SCF. Mulberry (*Morus alba* L.) mengandung senyawa aktif yang diduga mampu menekan proses tersebut. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek serum mulberry terhadap kadar α -MSH dan SCF pada mencit model hiperpigmentasi.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan 25 mencit C57BL/6 yang dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat, kontrol negatif, hidrokuinon 2%, serum mulberry 5%, dan 10%. Setelah paparan UV-B selama 2 minggu, dilakukan perlakuan topikal selama 5 hari. Pengukuran kadar α -MSH dan SCF dilakukan dengan ELISA.

Hasil: Terdapat perbedaan signifikan pada kadar α -MSH ($p = 0,020$), tetapi tidak pada SCF ($p = 0,217$). Semua kelompok perlakuan menunjukkan penurunan kadar α -MSH dan SCF dibanding kontrol negatif, namun penurunan ini tidak signifikan.

Kesimpulan: Serum mulberry (*Morus alba* L.) 5% dan 10% serta hidrokuinon 2% dapat menurunkan kadar α -MSH dan SCF, namun efeknya tidak signifikan dibanding kontrol negatif. Peningkatan konsentrasi serum mulberry (*Morus alba* L.) tidak memberikan efek penurunan signifikan.

Kata Kunci: Mulberry (*Morus alba* L.), α -MSH, SCF, hiperpigmentasi, UV-B, mencit C57BL/6.

ABSTRACT

Background: Hyperpigmentation due to UV-B exposure is associated with increased levels of α -MSH and SCF. Mulberry (*Morus alba* L.) contains active compounds that are believed to suppress this process. This study aimed to evaluate the effect of mulberry serum on α -MSH and SCF levels in a mouse model of hyperpigmentation.

Methods: This experimental study used 25 C57BL/6 mice divided into five groups: healthy control, negative control, 2% hydroquinone, 5% mulberry serum, and 10% mulberry serum. After two weeks of UV-B exposure, topical treatments were administered for five days. Levels of α -MSH and SCF were measured using ELISA.

Results: There was a significant difference in α -MSH levels ($p = 0.020$), but not in SCF levels ($p = 0.217$). All treatment groups showed reduced α -MSH and SCF levels compared to the negative control, but these changes were not statistically significant..

Conclusion: Mulberry serum (5% and 10%) and 2% hydroquinone reduced α -MSH and SCF levels, but the effect was not statistically significant compared to the negative control. Increasing the concentration of mulberry serum did not yield a significant decrease.

Keywords: Mulberry (*Morus alba* L.), α -MSH, SCF, hyperpigmentation, UV-B, C57BL/6 mice



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperpigmentasi merupakan kondisi peningkatan produksi melanin yang menyebabkan warna kulit menjadi lebih gelap.¹ Bentuk-bentuk hiperpigmentasi diantaranya adalah melasma, lentigo, *Post-inflammatory Hyperpigmentation* (PIH), dan hiperpigmentasi akibat penggunaan obat-obatan atau bahan kimia tertentu seperti hidrokuinon dalam jangka panjang. Penyebab hiperpigmentasi yang paling banyak dilaporkan adalah paparan ultraviolet (UV), khususnya UV-B. Paparan UV-B mengaktifkan protein p53 dalam sel keratinosit, kemudian merangsang produksi *Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone* (α -MSH), *Stem Cell Factor* (SCF), *Endothelin-1* (ET-1), dan *Pro-opiomelanocortin* (POMC) dalam jumlah yang berlebih.² Kenaikan sejumlah zat tersebut dapat memicu peningkatan produksi melanin secara berlebihan sehingga memperparah kondisi hiperpigmentasi. Namun, hingga kini, kajian yang mendalam terkait keterkaitan antara hiperpigmentasi dengan kadar α -MSH dan SCF masih terbatas.

Hiperpigmentasi merupakan salah satu gangguan pigmentasi kulit yang prevalensinya tinggi di wilayah beriklim tropis, termasuk Indonesia. Hiperpigmentasi ini lebih sering terjadi pada wanita, dengan prevalensi mencapai sekitar 90%, khususnya pada individu dengan tipe kulit Fitzpatrick III hingga VI.³ Penelitian yang dilakukan di Poliklinik Dermatologi Kosmetik Rumah Sakit Universitas Sumatera Utara pada periode 2020–2022,

melaporkan bahwa terdapat 95 kasus hiperpigmentasi, yang setara dengan 5,3% dari total kunjungan, akibat paparan UV-B.⁴ Siebenga *et al.* (2019) melaporkan bahwa sebanyak 53,8% dari 142 responden mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B yang berkepanjangan, dan 30% di antaranya masih menunjukkan hiperpigmentasi persisten setelah enam bulan sejak paparan.⁵ Hiperpigmentasi tidak hanya berdampak pada perubahan penampilan kulit secara fisik, tetapi juga dapat menimbulkan gangguan psikososial, seperti menurunnya kepercayaan diri, kecemasan, serta penurunan kualitas hidup akibat ketidakpuasan terhadap penampilan.³ Sehingga, diperlukan terapi dalam mengatasi hiperpigmentasi tersebut, salah satu terapi yang saat ini masih dipilih adalah hidrokuinon (HQ) karena mampu menghambat aktivitas enzim tirosinase, yang berperan dalam produksi melanin. Penggunaan HQ jangka panjang menyebabkan efek samping berupa okronosis eksogen yang ditandai dengan perubahan warna kulit menjadi kebiruan atau kehitaman, iritasi kulit yang ditandai dengan munculnya kemerahan, rasa perih, dan sensasi terbakar.⁶ Oleh karena itu, dibutuhkan solusi terapi dari bahan alami yang aman dan efektif dalam mengobati hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

Mulberry (*Morus alba* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang berpotensi sebagai alternatif HQ untuk terapi hiperpigmentasi. Ekstrak mulberry mengandung flavonoid, oxyresveratrol, dan mulberroside-A dilaporkan memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase yang sebanding dengan HQ dan asam kojat.⁷ Mulberroside-A dalam buah mulberry dilaporkan

mampu menghambat aktivitas tirosinase secara signifikan dengan tingkat inhibisi mencapai 51,6% pada konsentrasi 1 µg/mL. Nilai penghambatan (IC_{50}) sebesar 0,29 µg/mL, yang menandakan efektivitas tinggi dalam mengurangi hiperpigmentasi. Penelitian *in vitro* untuk menguji krim yang mengandung 5% ekstrak mulberry menunjukkan hasil yang stabil dalam mengurangi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.⁸ Ekstrak mulberry mengandung oxyresveratrol yang menekan aktivitas tirosinase, mengurangi transfer melanosom ke keratinosit, dan menekan α -MSH dan SCF melalui efek anti-melanogenesis dan antiinflamasi. Oxyresveratrol menekan ekspresi *Melanocortin 1 Receptor* (MC1R) sebesar 28,41% dan *Microphthalmia-associated Transcription Factor* (MITF) sebesar 67,34%, hal ini membuktikan bahwa oxyresveratrol dapat menurunkan aktivitas α -MSH. Senyawa flavonoid dalam ekstrak mulberry juga secara tidak langsung dapat menghambat produksi SCF dengan menurunkan kadar *Interleukin-6* (IL-6) sekitar 50-70%.^{8,9} Oleh karena itu, perlu dikembangkan sediaan kosmetik dari buah mulberry untuk terapi hiperpigmentasi.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh serum ekstrak mulberry terhadap kadar α -MSH dan kadar SCF pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B. Bentuk sediaan serum dipilih karena memiliki viskositas rendah dan kandungan air tinggi, sehingga mudah diabsorpsi, mudah menyebar, dan menjaga hidrasi kulit.¹⁰ Mencit C57BL/6 dipilih sebagai hewan coba karena memiliki karakteristik genetik yang stabil, serta kemampuannya dalam meniru respons melanin manusia terhadap faktor

eksternal seperti radiasi UV-B.¹¹ Kadar α -MSH dan kadar SCF diukur dari jaringan kulit dan darah mencit setelah dua minggu paparan UV-B dan 5 hari terapi serum ekstrak mulberry. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan inovasi dalam pemanfaatan mulberry sebagai terapi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar α -MSH dan kadar SCF pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar α -MSH dan kadar SCF pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan khusus antara lain:

- a. Mengetahui kadar α -MSH pada mencit C57BL/6 yang hiperpigmentasi akibat paparan UV-B yang diberi ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5%; 10%; hidrokuinon 2%; dan dibandingkan dengan mencit C57BL/6 yang sehat; serta mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

- b. Mengetahui kadar SCF pada mencit C57BL/6 yang hiperpigmentasi akibat paparan UV-B yang diberi ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5%; 10%; hidrokuinon 2%; dan dibandingkan dengan mencit C57BL/6 yang sehat; serta mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.
- c. Mengetahui konsentrasi serum ekstrak mulberry yang paling berpengaruh dalam terapi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi ilmiah untuk memperkaya literatur mengenai pengaruh ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B berdasarkan kadar α -MSH dan kadar SCF.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat mendorong pengembangan serum berbasis ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) sebagai alternatif pengganti hidrokuinon yang lebih aman untuk terapi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B, yang nantinya berguna bagi klinisi kecantikan.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 menjelaskan originalitas penelitian yang akan dilakukan, dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Penelitian ini berbeda

dengan penelitian Rodboon *et al.* (2020)¹², dalam hal desain penelitian *in vitro* pada sel melanoma B16 dan bentuk sediaan krim. Penelitian yang akan dilakukan menggunakan desain penelitian *in vivo* pada mencit C57BL/6 yang dipicu oleh paparan UV-B dan sediaan serum.

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil
Rodboon et al. (2020)¹²	<i>Oxyresveratrol inhibits cellular tyrosinase-related oxidative stress-induced melanogenesis in B16 melanoma cells</i>	<i>In Vitro</i>	Oxyresveratrol dari mulberry secara signifikan menekan melanogenesis pada sel melanoma B16 dan mengurangi produksi melanin hingga 51% dibandingkan kelompok kontrol.
Jin et al. (2021)¹³	<i>Oxyresveratrol-induced Activation of Nrf2/HO-1 Signaling Pathway Enhances Ability of Resveratrol to Inhibit UV-B-induced Melanin</i>	<i>In Vitro</i>	Oxyresveratrol dapat mengurangi produksi melanin secara signifikan ($p < 0,001$) dengan mengaktifkan jalur Nrf2/HO-1, yang berperan dalam menghilangkan radikal bebas (ROS) penyebab hiperpigmentasi.

Zakeri et al. (2022)⁹	<i>Formulation and Physicochemical Evaluation of a 5% Cream Using Crude 70% Ethanolic Extract of Morus alba L. Leaves for Skin Hyperpigmentation</i>	<i>In Vitro</i>	Oxyresveratrol pada krim yang mengandung ekstrak mulberry sebesar 5% menunjukkan hasil yang stabil dalam mengurangi pigmentasi akibat paparan UV dan hiperpigmentasi.
Faizatun & Murti (2023)¹⁴	<i>Formulation of Nanostructured Lipid Carrier Gel From Mulberry Extract (Morus alba L.) as Whitening Agent using Zebrafish Modelling</i>	<i>In Vivo</i>	Ekstrak mulberry menunjukkan penurunan kadar melanin secara signifikan, terutama dalam formulasi <i>Nanostructured Lipid Carrier</i> (NLC).
Wang et al. (2024)⁸	<i>Oxyresveratrol from mulberry (Morus alba L.) ameliorates post-inflammatory</i>	<i>In Vitro</i>	Oxyresveratrol dalam ekstrak mulberry 5% secara signifikan menghambat enzim tirosinase dengan menurunkan ekspresi protein transfer melanosome, serta

<i>hyperpigmentation</i>	mengurangi kadar α -MSH sekitar
<i>in vitro by anti-</i>	28,41- 67,34% dan mengurangi
<i>melanogenesis,</i>	kadar SCF sekitar 50-70%.
<i>inhibiting</i>	
<i>melanosome</i>	
<i>transfer, and</i>	
<i>providing</i>	
<i>photoprotection</i>	

Jin *et al.* (2021)¹³ telah meneliti efek anti-melanogenesis dari oxyresveratrol dalam batang mulberry dan mekanisme kerjanya melalui aktivasi jalur sinyal Nrf2/HO-1 secara *in vitro*. Penelitian yang akan dilakukan lebih spesifik dalam uji formulasi serum dari ekstrak buah mulberry secara *in vivo* pada mencit C57BL/6 hiperpigmetasi akibat paparan UV-B dengan berdasarkan biomarker α -MSH dan SCF.

Zakeri *et al.* (2022)⁹ telah meneliti pengembangan formulasi krim topikal berbasis ekstrak mulberry sampai pada pengujian stabilitas saja. Penelitian ini berbeda dengan penelitian Zakeri *et al.* (2022)⁹ yaitu mengevaluasi ekstrak mulberry dalam betuk sediaan serum sebagai alternatif dari hidrokuinon untuk menangani hiperpigmentasi dengan menggunakan pendekatan ilmiah yang mencakup analisis biomarker spesifik α -MSH dan SCF.

Faizatun & Murti (2023)¹⁴ telah meneliti formulasi gel berbasis *Nanostructured Lipid Carrier* (NLC) dari ekstrak mulberry sebagai agen pencerah kulit menggunakan model zebrafish. Penelitian ini berbeda dengan penelitian Faizatun & Murti (2023)¹⁴ yaitu menggunakan sediaan serum yang mengandung ekstrak mulberry pada model mencit C57BL/6 untuk mengevaluasi secara langsung efek terhadap hiperpigmentasi dengan melihat kadar α -MSH dan SCF.

Wang *et al.* (2024)⁸ telah meneliti potensi oxyresveratrol yang diisolasi langsung dari ekstrak mulberry untuk memperbaiki hiperpigmentasi melalui mekanisme anti-melanogenesis, inhibisi transfer melanosom, dan efek fotoprotektif secara *in vitro*. Penelitian ini berbeda dengan penelitian Wang *et al.* (2024)⁸ yaitu menggunakan sediaan serum yang mengandung ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) pada model mencit C57BL/6 untuk mengevaluasi secara langsung efek terhadap hiperpigmentasi dengan melihat kadar α -MSH dan SCF secara *in vivo*.

Secara keseluruhan, penelitian yang dilakukan memiliki perbedaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, terutama dalam pendekatannya yang terfokus pada penggunaan ekstrak mulberry sebagai alternatif dari penggunaan hidrokuinon, serta validasi biologis menggunakan model *in vivo*. Penelitian ini secara spesifik mengamati biomarker α -MSH dan SCF dalam penghambatan terjadinya hiperpigmentasi pada kulit.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone* (α -MSH)

2.1.1 Definisi

Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone (α -MSH) merupakan hormon peptida yang secara biologis aktif dan berperan penting dalam regulasi pigmentasi kulit melalui mekanisme melanogenesis. Hormon ini dihasilkan dari pemrosesan protein prekursor *ro-opiomelanocortin* (POMC) di dalam keratinosit dan melanosit, terutama setelah terjadi paparan ultraviolet (UV) atau stres oksidatif.¹⁵

α -MSH merupakan peptida pendek yang terdiri dari 13 asam amino dengan urutan Ac-Ser¹-Tyr²-Ser³-Met⁴-Glu⁵-His⁶-Phe⁷-Arg⁸-Trp⁹-Gly¹⁰-Lys¹¹-Pro¹²-Val¹³-NH₂. Peptida ini mengalami modifikasi pascatranslasi berupa asetilasi pada ujung N-terminal dan amidasi pada C-terminal, yang berfungsi untuk meningkatkan stabilitas dan resistensinya terhadap degradasi enzimatik. Salah satu ciri struktural penting α -MSH adalah keberadaan motif inti His-Phe-Arg-Trp (HFRW) yang berperan krusial dalam pengikatan dan aktivasi reseptor melanocortin, terutama MC1R.¹⁶ Secara struktural, α -MSH membentuk konfigurasi α -heliks dalam lingkungan biologis aktif, yang memudahkan interaksinya dengan reseptor target. Selain itu,

muatan positif yang dimilikinya mendukung afinitas α -MSH terhadap membran sel, memungkinkan hormon ini untuk mengaktifkan jalur pensinyalan yang terlibat dalam proses pigmentasi kulit dan pengaturan sistem imun.¹⁷

α -MSH bekerja dengan cara berikatan dengan reseptor *melanocortin 1* (MC1R) yang terdapat di permukaan melanosit. Ikatan ini mengaktifkan jalur sinyal cAMP–PKA–CREB, yang selanjutnya menginduksi ekspresi MITF, sebuah regulator utama yang mengatur enzim penting dalam produksi melanin seperti tyrosinase, TRP-1, dan TRP-2.¹⁵ Melalui jalur ini, α -MSH meningkatkan produksi melanin, terutama eumelanin, jenis pigmen yang lebih gelap dan lebih protektif terhadap paparan UV. Selain peran utamanya dalam pigmentasi, α -MSH juga memiliki fungsi antiinflamasi, antioksidan, dan imunomodulator, serta terlibat dalam perbaikan DNA pada sel kulit yang mengalami kerusakan akibat radiasi UV.¹⁶

2.1.2 Metode Pengukuran α -MSH

Pengukuran biomarker α -MSH merupakan langkah krusial dalam berbagai penelitian biomedis, yang dapat dilakukan melalui beberapa teknik analitik utama. Metode yang paling umum digunakan adalah *Enzyme Immunoassay* (EIA) atau *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).¹⁸ Penggunaan ELISA memungkinkan deteksi perubahan kadar α -MSH secara sensitif pada *Human Keratinocyte spontaneously transformed* (HaCaT) yang

diinduksi dengan radiasi UV, suatu kondisi yang sering digunakan untuk meniru mekanisme biologis pada kulit yang terpapar sinar matahari. Metode ini terbukti dapat memberikan hasil yang akurat bahkan pada konsentrasi biomarker yang sangat rendah, yang umumnya sulit diukur dengan teknik lain.¹⁹

Selain itu, validitas dan keakuratan metode ELISA telah diperkuat dengan hasil uji pemulihan (*recovery test*), yang menunjukkan bahwa nilai α -MSH yang terukur berada dalam kisaran 80–120% dari nilai yang diharapkan. Hal ini mengindikasikan bahwa ELISA tidak hanya memberikan hasil yang tepat dan presisi, tetapi juga dapat diandalkan untuk menghasilkan data yang sesuai dengan standar ilmiah yang berlaku dalam penelitian biomarker. Kriteria-kriteria validasi yang ketat, membuktikan bahwa ELISA valid sebagai metode yang sangat efektif dan terpercaya dalam pengukuran α -MSH, sehingga dapat diterapkan secara luas dalam penelitian biomedis dan klinis yang melibatkan biomarker tersebut.^{15,16}

2.1.3 Dampak UV-B Terhadap α -MSH

α -MSH berperan penting dalam regulasi pigmentasi kulit melalui mekanisme multifaset yang melibatkan aktivasi berbagai jalur molekuler dan efek imunomodulator. α -MSH dilepaskan dari keratinosit setelah paparan ultraviolet (UV) dan berikatan dengan *melanocortin 1 receptor* (MC1R), sebuah *G-protein coupled receptor* (GPCR) yang sangat diekspresikan pada membran sel melanosit.

Ikatan ini memicu aktivasi *adenylyl cyclase* (AC) yang meningkatkan produksi *second messenger cyclic adenosine monophosphate* (cAMP), mengaktifkan *protein kinase-A* (PKA), yang kemudian memfosforilasi faktor transkripsi *cAMP Response Element Binding Protein* (CREB).²⁰

CREB meningkatkan ekspresi MITF, regulator utama dalam mengaktifasi proses transkripsi gen-gen yang terkait dengan pigmentasi, seperti TYR, TYRP1, DCT, dan *pre-melanosomal protein* (PMEL), yang kemudian akan dipindahkan ke membran melanosom.^{15,20} Melanosom yang telah menghasilkan pigmen melanin selanjutnya ditransfer dari melanosit ke keratinosit untuk memberikan perlindungan terhadap paparan ultraviolet (UV). Apabila berlangsung dalam jangka waktu lama dan terjadi secara berulang, kulit dapat mengalami pigmentasi epidermal, yang berujung pada kondisi seperti melasma.^{18,20}

2.1.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar α -MSH

Kadar α -MSH dalam proses hiperpigmentasi dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal. Faktor-faktor tersebut antara lain sebagai berikut:

a. Paparan Radiasi UV

Salah satu faktor utama adalah paparan radiasi ultraviolet (UV), baik UV-B maupun UV-A. Paparan UV mengaktifasi protein p53 di keratinosit, yang kemudian meningkatkan ekspresi

gen POMC dan menghasilkan α -MSH. Proses ini berkontribusi secara langsung terhadap peningkatan produksi melanin di kulit.²¹

b. Stres Oksidatif

Stres oksidatif yang diinduksi oleh radiasi UV juga berperan dalam meningkatkan kadar α -MSH. Produksi *reactive oxygen species* (ROS) akibat paparan UV-A dan UV-B memperkuat sinyal aktivasi p53, sehingga mempercepat produksi POMC dan α -MSH. Namun, aktivasi jalur antioksidan seperti jalur Nrf2 terbukti dapat menekan produksi α -MSH dengan menurunkan stres oksidatif di sel-sel kulit.²²

c. Aktivasi Jalur cAMP/PKA/CREB

Kadar α -MSH juga dipengaruhi oleh aktivasi jalur sinyal cAMP/PKA/CREB. Setelah α -MSH berikatan dengan reseptor melanokortin-1 (MC1R) pada melanosit, terjadi peningkatan kadar cAMP yang mengaktifasi protein kinase A (PKA). PKA kemudian memfosforilasi CREB, suatu faktor transkripsi yang meningkatkan ekspresi *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), sehingga memperkuat ekspresi enzim melanogenesis seperti tirosinase dan meningkatkan produksi melanin.^{19,23}

d. Faktor-faktor dari Lingkungan Seluler

Selain faktor-faktor biologis tersebut, faktor lingkungan seluler, seperti mediator inflamasi dan metabolit asam arakidonat,

juga berkontribusi terhadap peningkatan kadar α -MSH. Paparan UVB diketahui dapat meningkatkan produksi asam arakidonat, yang pada gilirannya memperkuat sekresi α -MSH. Oleh karena itu, intervensi yang menargetkan jalur asam arakidonat dapat berpotensi menurunkan kadar α -MSH dan menghambat hiperpigmentasi.²¹

e. Bahan Aktif Inhibitor Melanogenesis

Beberapa bahan aktif yang dikembangkan sebagai agen pencerah kulit juga diketahui mampu menurunkan kadar α -MSH. Misalnya, anhydrous alum menekan ekspresi MITF dan menghambat fosforilasi CREB, sehingga mengurangi produksi α -MSH. Selain itu, *3-O-ethyl ascorbic acid* (EAA) juga menunjukkan kemampuan untuk menghambat jalur p53/POMC/ α -MSH di keratinosit, serta menurunkan pengiriman sinyal α -MSH ke melanosit. Formulasi kombinasi bahan seperti tranexamic acid, arbutin, dan niacinamide juga terbukti efektif dalam menurunkan kadar α -MSH.^{22,24}

2.2 Stem Cell Factor (SCF)

2.2.1 Definisi

Stem Cell Factor (SCF) merupakan aktor pertumbuhan yang berperan penting dalam proses diferensiasi, proliferasi, migrasi, dan kelangsungan hidup melanosit melalui ikatannya dengan reseptor tirosin kinase *Cell-Derived KIT* (c-Kit). Dalam konteks

hiperpigmentasi, SCF berkontribusi secara signifikan dengan cara meningkatkan aktivitas melanosit, terutama setelah paparan UV-B atau proses inflamasi kulit. SCF disekresikan oleh fibroblas dan keratinosit, kemudian merangsang aktivasi jalur pensinyalan seperti *Mitogen-Activated Protein Kinase / Extracellular signal-Regulated Kinase* (MAPK/ERK) yang meningkatkan ekspresi MITF, yaitu faktor utama dalam regulasi gen-gen melanogenesis seperti tirosinase, *Tyrosinase Related Protein 1* (TRP-1), dan *Tyrosinase Related Protein 2* (TRP-2).²⁵

Peningkatan ekspresi SCF telah terbukti secara imunohistokimia pada berbagai lesi hiperpigmentasi seperti melasma, lentigo, dan *freckles*, menunjukkan peran langsungnya dalam patogenesis gangguan pigmentasi. Dengan demikian, SCF berfungsi sebagai penghubung antara sinyal inflamasi atau kerusakan kulit dan produksi melanin yang berlebihan. SCF menjadi target potensial dalam pengembangan terapi depigmentasi, di mana penghambatan aktivitas SCF/c-Kit terbukti mampu menurunkan ekspresi MITF dan mengurangi pigmentasi kulit.²⁶ SCF tidak hanya mempercepat aktivitas MITF-M melalui fosforilasi, tetapi juga meningkatkan transkripsi gen MITF-M, yang akhirnya memperbanyak produksi melanin. SCF melalui KIT memicu perubahan dalam ekspresi gen yang menyebabkan peningkatan pigmentasi kulit. Jalur sinyal utama yang terlibat mencakup molekul-molekul seperti *cAmp Response*

Element Binding Protein (CREB), *CREB-Regulated Transcription Coactivator 1* (CRTC1), dan *SRY-Related HMG-Box 10* (SOX10) akan berikatan pada promotor gen MITF-M untuk menginisiasi transkripsinya.²⁷⁻²⁹

2.2.2 Metode Pengukuran SCF

Metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) digunakan untuk mengukur kadar SCF dalam sampel biologis seperti serum atau jaringan. Pada prinsipnya, metode ini melibatkan penggunaan antibodi spesifik yang mampu mengenali dan mengikat SCF.^{26,30} Untuk ELISA SCF, nilai valid adalah ≥ 5 pg/mL dan idealnya 30–2000 pg/mL tergantung kit spesifik yang digunakan. ELISA mampu mengukur kadar SCF secara akurat melalui penggunaan antibodi spesifik yang dirancang untuk mengenali epitop unik dari SCF. Teknik ini memungkinkan deteksi konsentrasi SCF bahkan dalam jumlah yang sangat kecil, sehingga menjadi metode yang andal dalam penelitian mengenai ekspresi faktor pertumbuhan pada jaringan kulit maupun darah.^{25,31}

SCF/c-Kit berperan penting dalam proses biologis seperti pigmentasi kulit, dan kuantifikasi SCF menggunakan ELISA memberikan hasil yang konsisten serta dapat direproduksi. Validitas metode ini diperkuat melalui penerapan kontrol positif dan negatif, serta pembuatan kurva standar berbasis konsentrasi SCF murni. Dengan demikian, ELISA tidak hanya sensitif, tetapi juga spesifik

dalam mengidentifikasi perubahan kadar SCF, yang sangat penting untuk memahami mekanisme patologis seperti pada melasma.^{26,30}

2.2.3 Dampak UV-B Terhadap SCF

SCF merupakan sitokin penting yang berperan dalam regulasi pigmentasi kulit dan memiliki kaitan erat dengan terjadinya hiperpigmentasi. SCF bekerja dengan berikatan pada reseptornya, yaitu c-KIT, sebuah reseptor tirosin kinase yang terdapat pada membran sel melanosit.²⁹ Paparan UV-B diketahui meningkatkan produksi *stem cell factor* (SCF) di kulit, yang berperan penting dalam regulasi pigmentasi. SCF merupakan sitokin yang berikatan dengan reseptor tirosin kinase c-KIT pada membran sel melanosit, sehingga mengaktifkan jalur pensinyalan yang memicu peningkatan melanogenesis. Aktivasi jalur SCF/c-KIT akibat UV-B tidak hanya meningkatkan produksi melanin, tetapi juga menyebabkan akumulasi melanin berlebih yang berkontribusi terhadap terjadinya hiperpigmentasi.^{29,32}

Aktivasi SCF akibat paparan UV-B berkaitan dengan peningkatan pembentukan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS), yang memperburuk stres oksidatif dalam melanosit dan semakin merangsang produksi melanin.^{28,33,34} Aktivasi jalur SCF/c-KIT melibatkan peta pensinyalan seperti MAPK p38 yang meningkatkan ekspresi MITF, sedangkan aktivasi ERK menurunkan stabilitas MITF melalui proses fosforilasi.³⁴ Oleh karena itu, SCF

yang diinduksi oleh UV-B memainkan peran ganda dalam memperkuat jalur pigmentasi dan memperburuk hiperpigmentasi melalui mekanisme stres oksidatif.

2.2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar SCF

Kadar SCF dalam proses hiperpigmentasi dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal. Faktor-faktor tersebut antara lain sebagai berikut:

a. Paparan UV-B

Paparan UV-B secara langsung meningkatkan kadar SCF di kulit. UV-B menstimulasi aktivasi jalur pensinyalan seperti p53 dan jalur SCF/c-KIT, yang mendorong ekspresi SCF di epidermis dan dermis. Peningkatan SCF ini berperan dalam aktivasi melanogenesis melalui aktivasi reseptor c-KIT pada melanosit, sehingga meningkatkan produksi melanin dan memperburuk hiperpigmentasi.³⁰

b. Fibroblas Senesens

Fibroblas yang mengalami penuaan dini akibat paparan kronis UV berkontribusi terhadap peningkatan sekresi SCF. Fibroblas ini melepaskan berbagai faktor, termasuk SCF, yang merangsang aktivitas melanosit dan mendukung produksi melanin. Studi menunjukkan bahwa kulit lesi melasma memiliki lebih banyak fibroblas senesens yang memproduksi SCF dibandingkan kulit normal.³⁰

c. Stres Oksidatif

Aktivasi SCF akibat paparan UV-B berkaitan dengan peningkatan pembentukan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species* atau ROS), yang memperburuk stres oksidatif dalam melanosit dan semakin merangsang produksi melanin.^{28,33,34} Aktivasi jalur SCF/c-KIT melibatkan peta pensinyalan seperti MAPK p38 yang meningkatkan ekspresi MITF dan memperparah aktivasi jalur melanogenesis.^{31,34}

d. Faktor Inflamatori dan SASP (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*)

Selain SCF, fibroblas senesens juga mengeluarkan berbagai faktor sekresi seperti interleukin-6 (IL-6), chemokine ligand (CCL) 5 dan 7, serta CXCL12, yang bersama-sama menciptakan lingkungan pro-melanogenik dan memperkuat ekspresi SCF.³¹

2.3 Mulberry (*Morus alba* L.)

2.3.1 Klasifikasi dan Karakteristik Morfologi

Mulberry (*Morus alba* L.) merupakan salah satu spesies dari genus *Morus* dalam famili Moraceae yang tersebar luas di berbagai wilayah tropis dan subtropis, termasuk Indonesia.³⁵ Tanaman ini umumnya tumbuh sebagai pohon kecil dengan percabangan rapat, memiliki batang berkayu dengan permukaan kasar.³⁶

Daunnya bertipe tunggal, berbentuk ovatus hingga menjari, dengan tepi bergerigi halus. Permukaan atas daun umumnya licin,

sementara bagian bawah ditumbuhi rambut halus, terutama pada tulang daun.³⁷ Daun ini memiliki tangkai yang relatif panjang dan urat daun yang menonjol, yang berperan penting dalam fotosintesis dan menjadi makanan utama bagi ulat sutera.³⁸

Bunga mulberry berbentuk kecil dan tidak mencolok, tersusun dalam bentuk tandan atau bulir. Tanaman ini bersifat monoecious, yaitu bunga jantan dan betina tumbuh pada tanaman yang sama.³⁷ Warna buah mulberry bervariasi, mulai dari putih, merah muda, hingga ungu pucat, dengan ukuran sekitar 1,5–2,5 cm dan sering dikonsumsi sebagai buah segar atau olahan (Gambar 2.3).^{35,39}



Gambar 2.1 Mulberry (*Morus alba* L.)³⁹

Berikut merupakan klasifikasi dari tanaman mulberry secara taksonomi:⁴⁰

Kingdom : Plantae
 Subkingdom : Viridiplantae
 Infrakingdom : Streptophyta
 Superdivisio : Embryophyta

Divisio	: Tracheophyta
Subdivisio	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superordo	: Rosanae
Ordo	: Rosales
Famili	: Moraceae
Genus	: <i>Morus</i> L.
Spesies	: <i>Morus alba</i> L.

2.3.2 Kandungan Senyawa Aktif Mulberry (*Morus alba* L.)

Mulberry dikenal sebagai salah satu bahan alami yang bermanfaat dalam dunia kosmetik, khususnya untuk perawatan kulit. Kandungan utama dalam mulberry, seperti arbutin, flavonoid, oxyresveratrol, dan mulberroside-A, memiliki peran penting dalam mencerahkan kulit serta melindunginya dari kerusakan akibat paparan lingkungan, terutama sinar UV-B. Arbutin, yang merupakan turunan dari hidrokuinon, berfungsi sebagai inhibitor enzim tirosinase, yaitu enzim yang berperan dalam proses melanogenesis dan mencegah terjadinya konversi tirosin menjadi melanin. Penghambatan aktivitas tirosinase akan menekan produksi melanin, sehingga membantu mengurangi hiperpigmentasi.⁴¹

Tabel 2.1 Kandungan dan Komposisi Senyawa Aktif Mulberry ^{42,43}

Komponen Aktif	Kisaran Konsentrasi (% berat kering / ekstrak)	Deskripsi / Sumber
Flavonoid total	0.5 – 2.5%	Termasuk kuersetin, rutin, morin. Antioksidan tinggi.
Oxyresveratrol	0.1 – 0.8%	Terutama di akar. Agen pemutih kulit & antioksidan kuat.
Mulberroside A	0.02 – 0.5%	Glikosida dari oxyresveratrol dan aktivitas depigmentasi.
Arbutin	0.1 – 0.5%	Agen pencerah kulit; terkandung dalam daun dan buah.
Asam fenolat	0.3 – 1.0%	Termasuk asam klorogenat, asam galat. Antioksidan.
Alkaloid	0.05 – 0.3%	Aktivitas antibakteri dan antiinflamasi.
Antosianin	0.1 – 1.5%	Utamanya pada buah merah/ungu.

		Antioksidan, pewarna alami.
Vitamin C	0.02 – 0.08%	Antioksidan, stabilisasi kolagen.
Polisakarida	1 – 5%	Aktivitas imunomodulator dan antiinflamasi.
Protein	4 – 9%	Terutama di daun, untuk pakan dan nutrisi.
Mineral (Ca, Mg, Fe)	1 – 3%	Penting untuk metabolisme dan kekebalan.

Flavonoid yang terdapat dalam mulberry berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas yang dihasilkan akibat paparan ultraviolet (UV). Radikal bebas dapat merusak sel kulit dan memicu proses inflamasi yang memperburuk kondisi hiperpigmentasi seperti melasma. Antioksidan dari mulberry bekerja dengan menghambat peroksidasi lipid dan melindungi membran sel dari kerusakan oksidatif. Selain itu, mulberry juga diketahui memiliki efek penstabil melanosit, sehingga mencegah proliferasi sel-sel yang menghasilkan melanin secara berlebihan.⁴⁴

Oxyresveratrol merupakan inhibitor tirosinase yang kuat, menghambat produksi melanin, serta menekan NF- κ B, yang berperan mengurangi inflamasi sebagai pemicu hiperpigmentasi. Sifat antioksidannya menangkal radikal bebas dan menurunkan kadar α -MSH dan SCF, mencegah peroksidasi lipid yang merusak sel kulit. Sementara itu, Mulberroside-A bekerja dengan cara menghambat ekspresi tirosinase, membantu mencerahkan kulit, serta menekan jalur *mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase* (MAPK/ERK) untuk mengurangi produksi α -MSH dan SCF, sehingga inflamasi berkurang.⁸

2.3.3 Efektivitas Mulberry (*Morus alba* L.)

Ekstrak mulberry telah terbukti memiliki efektivitas yang baik dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B. Dalam sebuah studi menunjukkan ekstrak mulberry memiliki kemampuan menghambat enzim tirosinase, yang merupakan enzim utama dalam proses pembentukan melanin. Mulberry sebagai agen depigmentasi alami yang efektif, sebanding dengan hidrokuinon dan asam kojat, namun dengan risiko efek samping yang lebih rendah. Efek antioksidan dari mulberry juga berkontribusi dalam melindungi kulit dari kerusakan akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh paparan UV-B, sehingga semakin memperkuat perannya dalam terapi hiperpigmentasi.⁴⁵

Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% mulberry dalam sediaan emulgel terdapat aktivitas antiinflamasi yang signifikan pada hewan uji. Inflamasi merupakan salah satu faktor penting dalam terjadinya hiperpigmentasi pasca-inflamasi (*post-inflammatory hyperpigmentation/PIH*), sehingga efek antiinflamasi dari mulberry juga mendukung kemampuannya dalam mengurangi keparahan hiperpigmentasi. Dengan demikian, mulberry tidak hanya bekerja melalui penghambatan pembentukan melanin, tetapi juga dengan mengurangi peradangan yang memperburuk pigmentasi kulit.⁴⁶

Ekstrak mulberry menawarkan pendekatan terapeutik yang menjanjikan untuk hiperpigmentasi akibat UV-B dengan mekanisme kerja ganda, yaitu sebagai inhibitor tirosinase dan agen antiinflamasi. Efektivitas klinis yang telah terbukti, ditambah dengan profil keamanan yang baik, membuat mulberry menjadi pilihan yang menarik untuk digunakan dalam terapi topikal hiperpigmentasi, terutama dalam bentuk sediaan serum.¹⁰ Pendekatan ini juga memberikan alternatif alami bagi pasien yang ingin menghindari bahan kimia sintetis dan mengurangi risiko efek samping jangka panjang.

2.3.4 Perbandingan Efektivitas Mulberry (*Morus alba* L.) dengan Terapi Konvensional

Salah satu terapi konvensional yang hingga kini masih banyak dipilih adalah penggunaan hidrokuinon (HQ), karena kemampuannya dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase yang berperan penting dalam produksi melanin. Namun, penggunaan HQ dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping, seperti okronosis eksogen yang ditandai dengan perubahan warna kulit menjadi kebiruan atau kehitaman, serta iritasi kulit yang ditandai dengan kemerahan, rasa perih, dan sensasi terbakar.⁴⁷ Oleh sebab itu, diperlukan alternatif terapi berbahan alami yang aman dan efektif untuk mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.⁶

Mulberry telah dikenal memiliki kandungan bioaktif seperti oxyresveratrol, mulberroside-A, flavonoid, arbutin, dan asam fenolat yang berperan dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase, yakni enzim kunci dalam proses pembentukan melanin.^{8,48,49} Inhibisi tirosinase oleh ekstrak mulberry berpotensi menurunkan hiperpigmentasi kulit secara efektif. Selain itu, sifat antioksidan dari mulberry membantu mengurangi stres oksidatif yang sering memperburuk kondisi pigmentasi kulit. Selain itu, kandungan arbutin dari mulberry memiliki afinitas tinggi terhadap tirosinase dan resistensi terhadap oksidasi, sehingga lebih aman untuk penggunaan jangka panjang.^{8,50} Dengan demikian, mulberry dapat menjadi

alternatif yang lebih aman dan efektif untuk menggantikan HQ dalam terapi depigmentasi kulit, karena memiliki efek samping yang lebih minimal dibandingkan dengan HQ, sehingga menjadi pilihan menarik dalam formulasi produk *cosmeceutical*.⁵¹

2.4 Sediaan Serum

2.4.1 Definisi dan Karakteristik

Sediaan serum merupakan formulasi kosmetik dengan viskositas rendah yang mengandung konsentrasi tinggi bahan aktif, dirancang untuk memberikan penetrasi optimal ke dalam kulit. Serum memiliki tekstur yang ringan dan cepat diserap, menjadikannya efektif dalam menangani masalah kulit seperti penuaan, hiperpigmentasi, atau inflamasi. Komponen utama dalam serum meliputi bahan aktif seperti antioksidan, peptida, atau ekstrak alami, yang biasanya dikombinasikan dengan bahan pendukung seperti humektan dan pelarut untuk menjaga kestabilan formulasi. Serum sering digunakan sebagai langkah penting dalam perawatan kulit untuk memberikan hasil yang lebih cepat dan spesifik dibandingkan produk perawatan lainnya karena berfokus pada efektivitas dan efisiensi bahan aktif.⁵²

Perkembangan industri produk kecantikan seperti sediaan kosmetik serum yang mengandung bahan herbal alam sebagai antioksidan bagi kulit meningkat pesat bersamaan dengan eksplorasi tanaman yang dapat berpotensi farmakologis.⁵³ Serum yang

mengandung antioksidan yang tinggi dapat mencegah tanda-tanda penuaan dini, oleh karena itu diperlukan antioksidan sebagai penangkal radikal bebas.⁵⁴

2.4.2 Keunggulan Serum Dibandingkan Sediaan Kosmetik Lainnya

Sediaan serum memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan bentuk sediaan lain seperti krim, gel, atau emulgel dalam mengatasi hiperpigmentasi. Serum umumnya memiliki ukuran partikel yang lebih kecil dan viskositas yang rendah, sehingga mampu menembus lapisan kulit lebih dalam, mencapai area melanosit tempat produksi melanin berlangsung.⁵⁵ Penggunaan teknologi penghantaran seperti Nanotope™ dan liposom dalam formulasi serum semakin meningkatkan permeasi zat aktif ke dalam kulit. Serum juga mengandung konsentrasi zat aktif yang lebih tinggi, seperti vitamin C, arbutin, atau ekstrak tumbuhan kaya antioksidan, yang berfungsi menghambat enzim tirosinase dan mengurangi produksi melanin secara efektif.^{56,57}

Serum memiliki menjaga stabilitas zat aktif melalui sistem nanoenkapsulasi. Zat aktif yang rentan mengalami degradasi, seperti mulberry, dapat terlindungi dari oksidasi dan paparan sinar UV, sehingga efektivitasnya tetap terjaga dalam sediaan serum.⁵⁸ Serum biasanya diformulasikan tanpa bahan pengemulsi yang dapat mengiritasi kulit, sehingga lebih aman untuk kulit sensitif. Manfaat serum juga bersifat multifungsi karena tidak hanya mencerahkan kulit,

tetapi juga memberikan efek antioksidan, anti-penuaan, dan hidrasi pada kulit.⁵⁶

2.4.3 Komposisi Sediaan Serum Ekstrak Mulberry (*Morus alba* L.)

Serum merupakan sediaan kosmetik berbasis cair atau gel yang mengandung konsentrasi tinggi bahan aktif dan diformulasikan untuk menembus lapisan kulit secara lebih dalam dan cepat dibandingkan sediaan topikal lainnya. Komposisi serum umumnya terdiri atas bahan aktif utama yang disesuaikan dengan fungsi terapeutik yang diinginkan, seperti antioksidan, agen pencerah kulit, atau agen antiaging.⁵²

Serum juga mengandung bahan pendukung seperti humektan (misalnya gliserin dan propilen glikol) untuk menjaga kelembapan kulit dan penetrasi bahan aktif, zat pengental atau *gelling agent* (seperti hidroksietil selulosa) untuk memberikan konsistensi, bahan pengawet (seperti DMDM hydantoin) untuk mencegah pertumbuhan mikroorganisme, pelarut seperti air murni (aquadest), serta bahan tambahan lain seperti pelarut tambahan (misalnya ethoxydiglycol) yang berfungsi untuk meningkatkan kelarutan dan penyerapan bahan aktif.^{59,60,61} Sebagai pelarut utama, digunakan aquades memastikan formula tetap ringan, bebas alkohol, serta cocok untuk semua jenis kulit.⁶² Komposisi yang tepat dalam formulasi serum sangat penting untuk memastikan stabilitas fisik, keamanan, serta efektivitas produk terhadap kulit.

2.5 Hiperpigmetasi

2.5.1 Sinar Ultraviolet-B (UV-B)

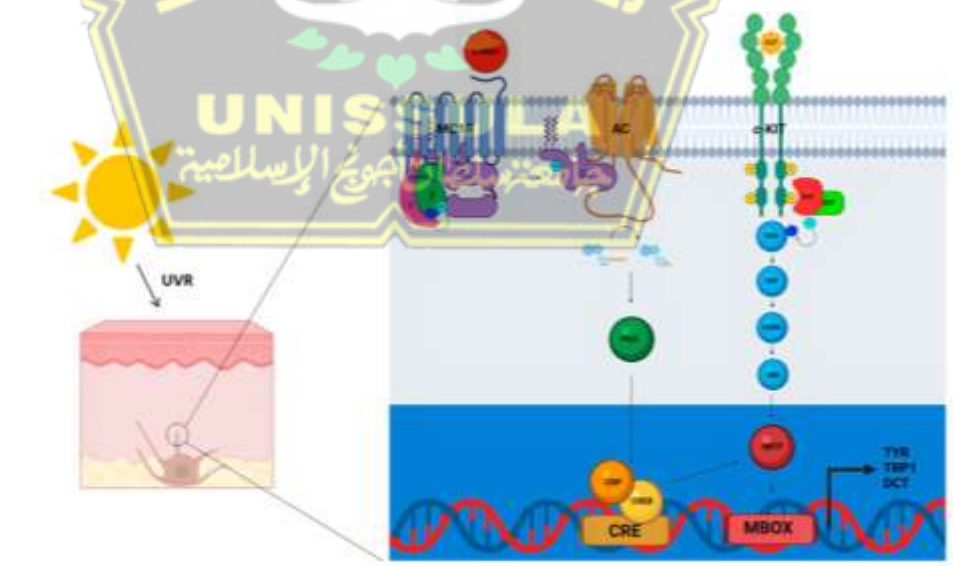
Sinar ultraviolet (UV) adalah bagian dari spektrum elektromagnetik yang berasal dari sinar matahari. Meskipun hanya sebagian kecil dari spektrum UV mencapai permukaan bumi, paparan UV memiliki dampak signifikan pada kesehatan kulit manusia. Sinar UV dapat dibagi menjadi tiga jenis berdasarkan panjang gelombangnya: UV-A (340-400 nm), UV-B (290-320 nm), dan UV-C (100-290 nm). Di antara ketiganya, UV-B memiliki pengaruh paling signifikan terhadap proses biologis yang menyebabkan kerusakan kulit, hiperpigmentasi, dan inflamasi kronis. UV-B terutama memengaruhi epidermis, lapisan terluar kulit, dengan menyebabkan kerusakan langsung pada DNA.^{11,63} Paparan UV-B secara berlebihan dapat memicu produksi melanin secara berlebihan oleh melanosit, yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi pada kulit. Selain menimbulkan warna kulit yang tidak merata, sinar UV-B juga dapat memperburuk kondisi hiperpigmentasi dengan merangsang proses inflamasi dan kerusakan sel kulit.⁶⁴

2.5.2 Mekanisme Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi kulit merupakan kondisi di mana terjadi peningkatan produksi melanin, yaitu pigmen yang memberikan warna pada kulit. Akibatnya, muncul bercak-bercak berwarna coklat muda hingga coklat tua pada area kulit, terutama di bagian yang sering

terpapar sinar matahari, seperti wajah dan leher.¹ Mekanisme terjadinya hiperpigmentasi akibat paparan UV-B melibatkan jalur kompleks inflamasi, stres oksidatif, dan stimulasi melanogenesis yang dipicu oleh mediator inflamasi utama seperti α -MSH dan SCF.^{34,65,66}

Paparan UV-B menyebabkan kerusakan pada keratinosit yang memicu pelepasan berbagai sitokin pro-inflamasi, yang berperan dalam meningkatkan respons inflamasi dengan merangsang jalur sinyal NF- κ B yang mengaktifkan ekspresi enzim tirosinase, *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), serta *tirosinase-related proteins* (TYRP1 dan TYRP2). Jalur inflamasi hiperpigmentasi (Gambar 2.4) mengaktifasi produksi melanin yang berlebihan dan mempercepat transfer melanosom ke keratinosit di sekitarnya.⁶⁵



Gambar 2.2 Mekanisme Terjadinya Hiperpigmentasi³⁴

Paparan UV, terutama UV-B, atau trauma eksternal lainnya menyebabkan stres oksidatif pada keratinosit di lapisan epidermis. Kondisi ini mengaktifkan protein p53 dalam keratinosit, yang kemudian merangsang ekspresi POMC, prekursor dari hormon α -MSH. α -MSH yang terbentuk akan berikatan dengan reseptor MC1R pada melanosit, mengaktifkan jalur pensinyalan MITF dan meningkatkan sintesis melanin. Di saat yang sama, keratinosit juga melepaskan sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, yang akan merangsang fibroblas di dermis untuk memproduksi SCF. SCF berperan dalam menstimulasi melanosit untuk mempercepat produksi dan distribusi melanin. Akumulasi melanin di lapisan epidermis inilah yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi.^{66,65}

2.5.3 Faktor-faktor Penyebab Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi kulit terjadi akibat peningkatan produksi melanin yang dapat dipicu oleh berbagai faktor antara lain:^{66,67}

a. Paparan Sinar Matahari Berlebih

Radiasi ultraviolet (UV) dari sinar matahari merangsang aktivitas enzim tirosinase, yang berperan dalam produksi melanin. Paparan UV yang terus-menerus berisiko menimbulkan flek hitam (*age spots*) dan memperparah gangguan pigmentasi pada kulit.

b. Peradangan atau Cedera Kulit

Luka, jerawat, gigitan serangga, atau iritasi kulit dapat memicu peradangan, yang kemudian menyebabkan produksi

melanin berlebih sebagai respons perlindungan kulit. PIH lebih sering terjadi pada individu dengan kulit lebih gelap dan dapat bertahan dalam waktu yang lama. Proses inflamasi yang berkepanjangan dapat memicu pelepasan mediator inflamasi seperti α -MSH dan SCF, yang berperan dalam mengaktifkan jalur melanogenesis.

c. Perubahan Hormon

Hormon seperti estrogen dan progesteron dapat mempengaruhi aktivitas melanosit, terutama pada kondisi seperti melasma. Perubahan hormonal sering terjadi selama kehamilan, penggunaan kontrasepsi oral, atau terapi hormon, yang meningkatkan risiko hiperpigmentasi.

d. Penuaan Kulit

Seiring bertambahnya usia, regenerasi sel kulit melambat dan produksi melanin menjadi tidak merata, menyebabkan hiperpigmentasi akibat penuaan, seperti bintik hitam (*age spots*) yang sering muncul di wajah dan tangan.

e. Paparan Zat Kimia atau Kosmetik Berbahaya

Penggunaan produk pemutih kulit yang mengandung merkuri atau hidrokuinon dalam kadar tinggi dapat menyebabkan hiperpigmentasi paradoksial akibat iritasi atau toksisitas bahan kimia.

f. Faktor Genetik

Faktor genetik memainkan peran signifikan dalam menentukan seberapa besar kemungkinan seseorang mengembangkan hiperpigmentasi. Warna kulit, yang ditentukan oleh jumlah dan jenis melanin yang diproduksi, sangat dipengaruhi oleh faktor genetik. Orang dengan kulit lebih gelap umumnya memiliki lebih banyak melanin dan melanosit yang lebih aktif, yang memberikan perlindungan lebih terhadap kerusakan akibat UV, tetapi juga berisiko lebih tinggi mengalami hiperpigmentasi.

g. Faktor Ras

Perbedaan ras juga memengaruhi kerentanannya terhadap hiperpigmentasi, dimana individu dari ras Asia, Afrika, atau Latin lebih rentan mengalami melasma dan PIH jika dibandingkan dengan ras Kaukasoid.

2.5.4 Dampak dan Terapi Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi merupakan kelainan kulit yang ditandai dengan timbulnya bercak gelap akibat peningkatan produksi melanin secara berlebihan. Meskipun secara medis hiperpigmentasi tidak tergolong sebagai kondisi berbahaya, gangguan ini memiliki dampak yang cukup besar terhadap aspek psikososial, khususnya dalam menurunkan tingkat kepercayaan diri individu.⁶⁸ Oleh karena itu, terapi yang tepat sangat dibutuhkan untuk mengatasi gangguan ini.

Terapi hiperpigmentasi, menurut sejumlah literatur ilmiah, menekankan pendekatan multimodal yang disesuaikan dengan penyebab dan tipe hiperpigmentasi, terutama pada pasien dengan warna kulit gelap (*skin of color*).^{69,70} Langkah pertama yang krusial adalah mengidentifikasi serta mengatasi faktor penyebab atau kondisi kulit yang mendasari, seperti menghentikan penggunaan obat yang menjadi pemicu atau menangani penyakit kulit lain yang menyebabkan hiperpigmentasi.⁷⁰

Pengobatan utama yang saat ini menjadi standar umum adalah kombinasi topikal tiga bahan aktif, yaitu hidrokuinon, retinoid, dan kortikosteroid topikal. Kombinasi ini terbukti efektif terutama dalam menangani melasma dan hiperpigmentasi pasca-inflamasi.⁷⁰ Namun, jika pasien mengalami reaksi iritasi atau alergi terhadap kombinasi tersebut, maka dapat digunakan dua agen aktif sesuai dengan tingkat toleransi kulit pasien.⁶⁹⁻⁷¹

Selain itu, terapi topikal alternatif seperti asam azelaat, arbutin, asam kojik, zinc sulfat, serta kosmeseutikal yang mengandung bahan pencerah seperti vitamin C dan ekstrak mulberry juga menunjukkan efektivitas yang cukup baik.⁷² Penggunaan asam azelaat yang dikombinasikan dengan kortikosteroid, misalnya, telah terbukti memberikan hasil yang lebih baik dalam mengatasi hiperpigmentasi.

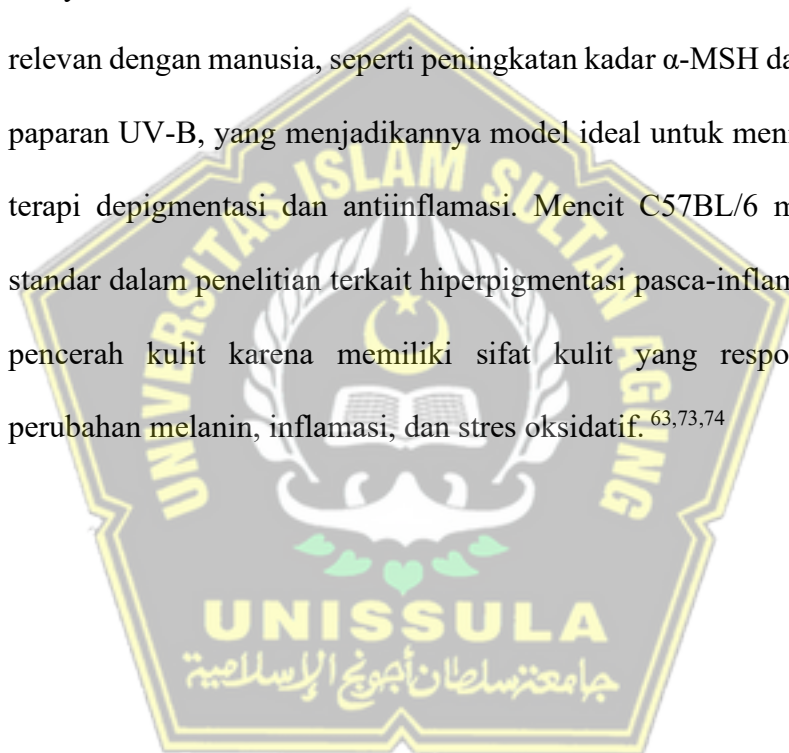
2.6 Pengaruh Serum Ekstrak Mulberry terhadap Kadar α -MSH dan SCF

Ekstrak mulberry memiliki potensi signifikan dalam menekan proses melanogenesis melalui pengaruhnya terhadap kadar α -MSH dan SCF. Mulberry memiliki kandungan oxyresveratrol yang berperan dalam menurunkan ekspresi MC1R dan MITF.^{8,12} MC1R dan MITF merupakan reseptor utama bagi α -MSH dalam memicu sintesis melaniny berdampak langsung terhadap inhibisi produksi melanin di dalam melanosit.¹⁵ Penurunan aktivitas α -MSH akan menstimulasi enzim tirosinase yang berperan dalam biosintesis melanin berkurang.²⁰ Efek ini menunjukkan bahwa serum berbahan dasar ekstrak mulberry dapat berfungsi tidak hanya sebagai inhibitor tirosinase, tetapi juga sebagai modulator jalur molekuler yang mengontrol produksi melanin.

Ekstrak mulberry juga mengandung flavonoid yang berperan dalam mekanisme antiinflamasi, yang turut menurunkan produksi SCF. Penurunan SCF terjadi secara tidak langsung melalui penghambatan sitokin proinflamasi setelah pemberian ekstrak mulberry.^{8,26} Mengingat SCF berperan penting dalam proliferasi, diferensiasi, dan migrasi melanosit, penghambatan produksi SCF akan berdampak pada berkurangnya aktivitas melanosit dan penurunan jumlah melanin yang diproduksi.²⁹ Oleh karena itu, dengan mekanisme ganda melalui penghambatan α -MSH dan SCF, serum yang mengandung ekstrak mulberry menawarkan pendekatan terapeutik yang komprehensif untuk mengurangi hiperpigmentasi, sekaligus memperbaiki kondisi kulit akibat paparan UV dan proses inflamasi.

2.7 Model *In Vivo* Mencit C57BL/6

Mencit C57BL/6 sering digunakan sebagai model *in vivo* dalam penelitian hiperpigmentasi, karena memiliki karakteristik genetik yang stabil, serta kemampuannya dalam meniru respons melanin manusia terhadap faktor eksternal seperti radiasi UV-B. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa mencit C57BL/6 memiliki mekanisme inflamasi yang relevan dengan manusia, seperti peningkatan kadar α -MSH dan SCF setelah paparan UV-B, yang menjadikannya model ideal untuk menilai efektivitas terapi depigmentasi dan antiinflamasi. Mencit C57BL/6 menjadi model standar dalam penelitian terkait hiperpigmentasi pasca-inflamasi dan terapi pencerah kulit karena memiliki sifat kulit yang responsif terhadap perubahan melanin, inflamasi, dan stres oksidatif.^{63,73,74}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

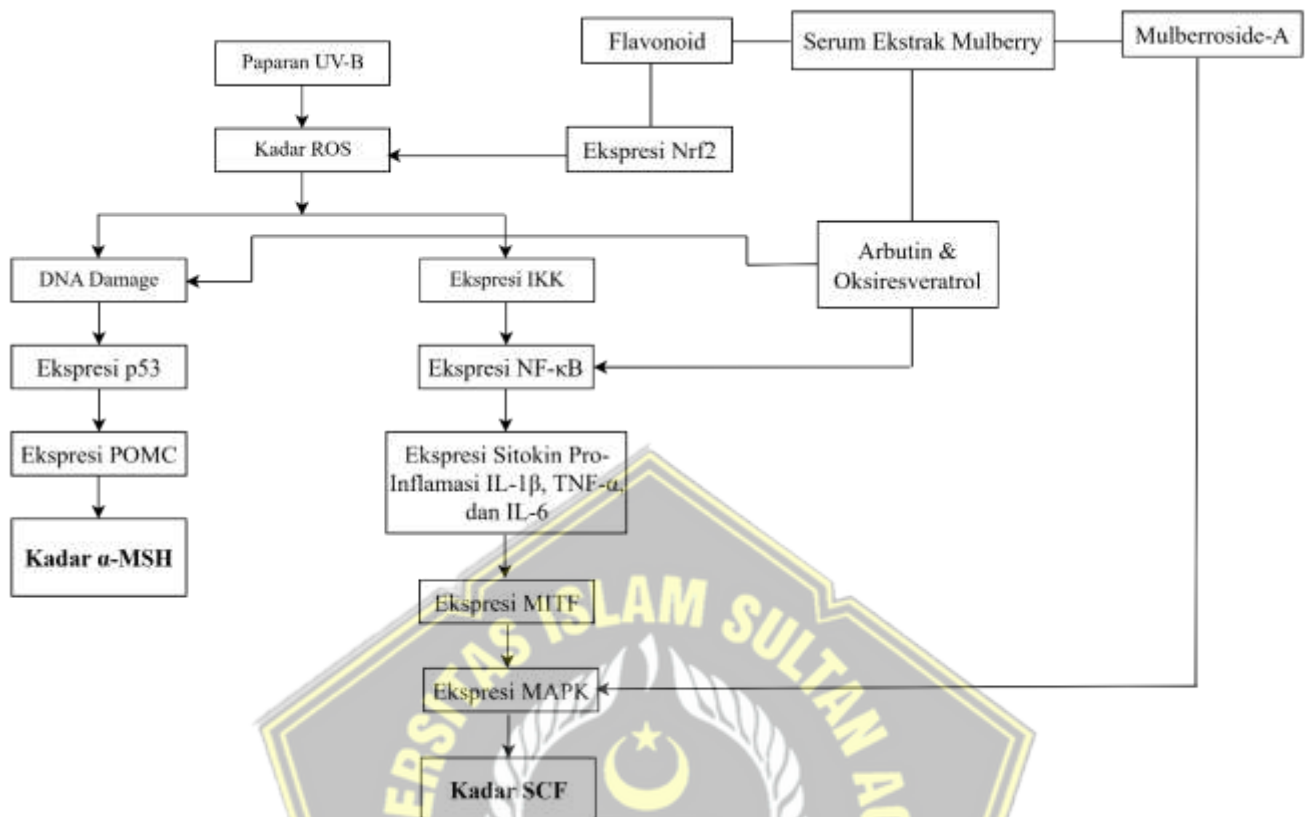
3.1 Kerangka Teori

Paparan UV-B memicu pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), yang menyebabkan stres oksidatif pada sel kulit. ROS merusak membran sel, protein, dan DNA, sehingga memperburuk inflamasi. Peningkatan ROS juga memicu pelepasan sitokin proinflamasi dan stres oksidatif seperti α -MSH dan SCF, yang memperkuat proses inflamasi dan merangsang produksi melanin lebih lanjut.⁷⁵ Kondisi ini mengaktifkan protein p53 dalam keratinosit, yang kemudian merangsang ekspresi POMC, prekursor dari hormon α -MSH. α -MSH yang terbentuk akan berikatan dengan reseptor MC1R pada melanosit, mengaktifkan jalur pensinyalan MITF dan MAPK/ERK, kemudian akan meningkatkan sintesis melanin. Di saat yang sama, keratinosit juga merangsang ekspresi NF- κ B, yang kemudian melepaskan sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, dan akan merangsang fibroblas di dermis untuk memproduksi SCF. SCF ini akan berperan dalam menstimulasi melanosit untuk mempercepat produksi dan distribusi melanin. Akumulasi melanin di lapisan epidermis inilah yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi.^{66,65}

Peningkatan kadar α -MSH dan SCF ini dapat dikendalikan dengan penggunaan serum berbasis ekstrak mulberry (*Morus alba* L.), yang memiliki kandungan utama seperti arbutin, flavonoid, oksiresveratrol, dan mulberroside-

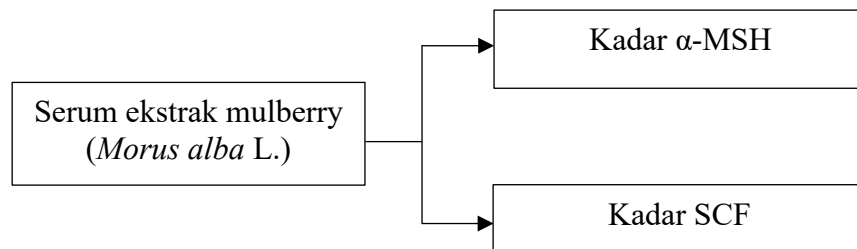
A. Arbutin, sebagai turunan hidrokuinon, bertindak sebagai inhibitor tirosinase, mencegah konversi tirosin menjadi melanin sehingga efektif mengurangi hiperpigmentasi.⁴¹ Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan kuat yang menangkal radikal bebas akibat paparan UV, menghambat peroksidasi lipid, dan menstabilkan melanosit untuk mencegah produksi melanin berlebihan.⁴⁴ Oksiresveratrol tidak hanya menghambat tirosinase tetapi juga menekan NF- κ B, mengurangi produksi serta menurunkan kadar α -MSH dan SCF, yang membantu mengurangi inflamasi dan stres oksidatif. Mulberroside-A bekerja dengan cara menghambat ekspresi tirosinase serta menekan jalur MAPK/ERK, sehingga inflamasi yang memicu hiperpigmentasi dapat ditekan. Dengan sifatnya yang alami dan minim efek samping, ekstrak mulberry menjadi pilihan yang lebih aman dibandingkan hidrokuinon dalam formulasi produk *cosmeceutical* untuk pencerah kulit.⁸

Hiperpigmentasi tidak hanya disebabkan oleh paparan UV-B, melainkan juga dapat dipicu oleh berbagai faktor lain, antara lain proses peradangan atau cedera pada jaringan kulit, perubahan fisiologis akibat penuaan, ketidakseimbangan hormon, predisposisi genetik, karakteristik rasial, serta kekurangan mikronutrien penting seperti vitamin B12, asam folat, dan zat besi, yang keseluruhannya dapat memengaruhi proses melanogenesis di kulit.^{66,67}



Gambar 3.1 Kerangka Teori

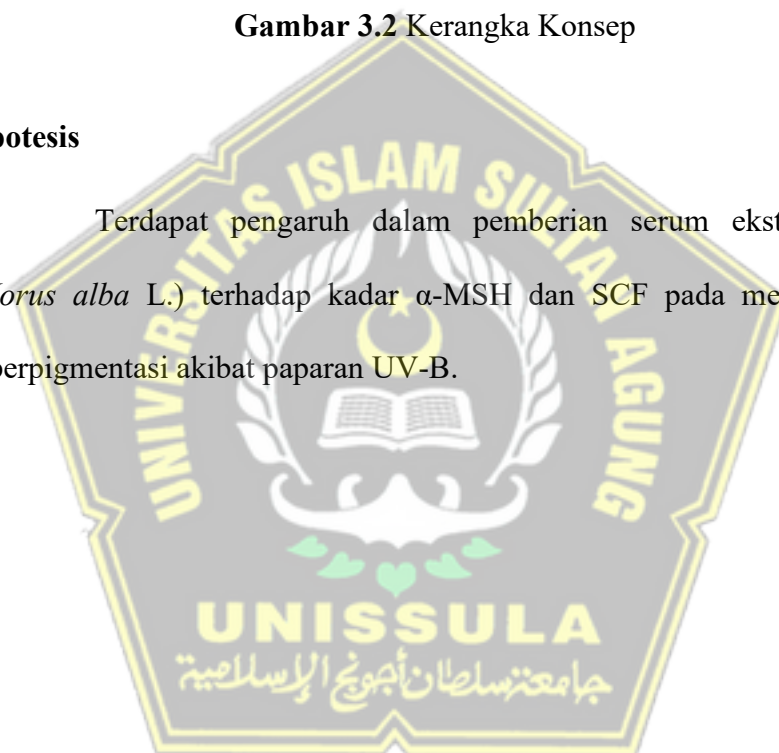
3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh dalam pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar α-MSH dan SCF pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

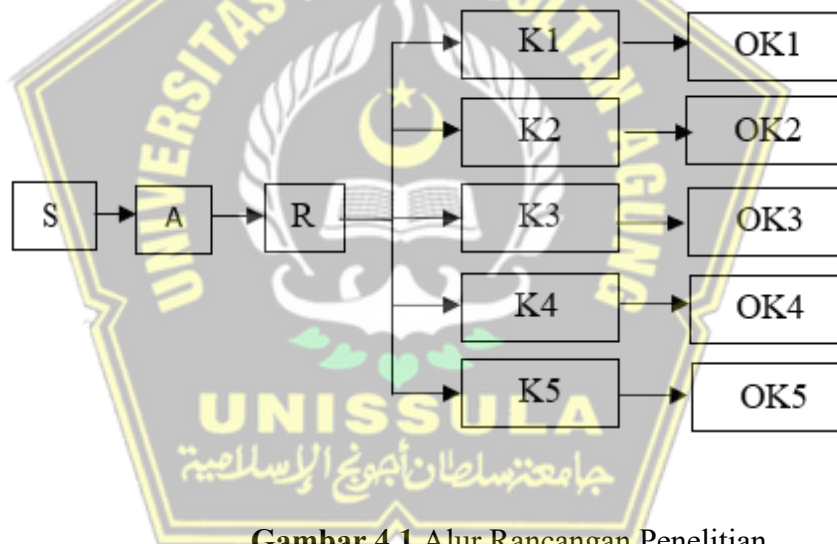


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini dirancang sebagai studi eksperimental in vivo dengan menggunakan rancangan penelitian menggunakan *Post-test Only Control Group Design*, menggunakan hewan uji mencit C57BL/6 yang diinduksi hiperpigmentasi paparan UV-B (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S : Sampel Penelitian (Mencit C57BL/6)
- A : Adaptasi
- R : Randomisasi
- K1 : Kelompok mencit sehat

- K2 : Kontrol Negatif (Mencit dengan diinduksi paparan UV-B tanpa perlakuan).
- K3 : Kontrol Positif (Mencit dengan diinduksi paparan UV-B diberikan hidrokuinon dengan konsentrasi 2% secara topikal).
- Perlakuan : Mencit dengan diinduksi paparan UV-B, kemudian diberikan serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% secara topikal.
- Perlakuan : Mencit dengan diinduksi paparan UV-B, kemudian diberikan diberikan serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 10% secara topikal.
- O : Observasi pengukuran parameter penelitian kadar α -MSH dan SCF pada masing-masing kelompok perlakuan.

4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi serum ekstrak mulberry secara topikal.

4.2.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar α -MSH dan SCF.

4.2.2. Definisi Operasional

a. *Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone* (α -MSH)

Kadar α -MSH sebagai biomarker inflamasi diukur dalam jaringan kulit dan darah mencit pada hari ke-27, kemudian dianalisis dengan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Unit: ng/mL

Skala: Rasio

b. *Stem Cell Factor* (SCF)

Kadar SCF sebagai biomarker stres oksidatif diukur dalam jaringan kulit dan darah mencit pada hari ke-27, kemudian dianalisis dengan menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Unit: ng/mL

Skala: Rasio

c. *Konsentrasi Serum Ekstrak Mulberry* (*Morus alba* L.)

Serum ekstrak mulberry diformulasi dari ekstrak buah mulberry menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak buah mulberry dalam formula serum yaitu 5% dan 10% berdasarkan penelitian sebelumnya.⁸ Serum diaplikasikan secara topikal di bagian punggung mencit sebanyak 0,5 mL, 1 kali sehari, selama 5 hari.

Unit: %

Skala: Rasio

4.3 Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subjek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah mencit C57BL/6 jantan (Lampiran 1) yang diperoleh dari laboratorium hewan percobaan di Laboratorium Kemuning, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia.

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mencit C57BL/6 jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.3.2.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mencit berusia 6-8 minggu.
- b. Mencit dengan berat badan 20-25 g.
- c. Mencit dengan keadaan sehat dan aktif (Lampiran 2).

4.3.2.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mencit yang secara mikroskopik tidak mengalami hiperpigmentasi.
- b. Mencit yang menunjukkan tanda-tanda penyakit atau stres selama masa adaptasi.
- c. Mencit yang memiliki luka, iritasi, atau kelainan kulit di area yang diaplikasikan perlakuan.

4.3.2.3 Kriteria *Drop Out*

Kriteria *drop out* pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Mencit yang mati selama periode perlakuan.
- b. Mencit menunjukkan kondisi kesehatan yang memburuk secara signifikan selama penelitian, seperti tanda-tanda infeksi, stres berat, atau gangguan fisik lainnya.
- c. Mencit yang mengalami cedera atau kerusakan kulit yang tidak terkait dengan perlakuan, sehingga memengaruhi validitas hasil penelitian.

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Menurut pedoman Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), penelitian eksperimental yang menggunakan hewan coba sebaiknya melibatkan minimal lima ekor dalam setiap kelompok perlakuan. Selain itu, direkomendasikan untuk menambahkan sekitar 10% jumlah tambahan sebagai langkah antisipasi terhadap kemungkinan kehilangan subjek selama penelitian. Oleh karena itu, jumlah hewan dalam setiap kelompok sebaiknya tidak kurang dari enam ekor guna memastikan keandalan serta validitas hasil penelitian.

Pengambilan sampel dilakukan dengan metode *randomized sampling*, di mana mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 1 kelompok mencit yang sehat, 2 kelompok kontrol (kontrol negatif dan kontrol positif) dan 2 kelompok perlakuan (diberikan serum ekstrak mulberry

5% dan 10%). Jumlah keseluruhan sampel mencit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sebanyak 34 ekor.

Ukuran sampel ditentukan dengan menggunakan formula Federer yang dirancang untuk penelitian eksperimental.

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

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

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \sim 5$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan sampel

n = jumlah replikasi per-kelompok sampel

Rumus Federer digunakan untuk memastikan bahwa jumlah sampel yang digunakan memadai guna memperoleh data yang valid dan dapat dianalisis secara statistik. Rumus ini memperhitungkan jumlah kelompok perlakuan (t) dan jumlah replikasi per kelompok (n). Berdasarkan perhitungan tersebut, jumlah minimal sampel yang diperlukan adalah 25 ekor mencit dengan 1 ekor mencit sebagai cadangan tiap kelompoknya.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain:

- a. Pisau bedah
- b. *Centrifuge*
- c. *Microcentrifuge Tube*
- d. Spektrofotometer UV-Vis
- e. Timbangan analitik
- f. Blender
- g. Gunting steril
- h. Inkubator
- i. Gelas kimia
- j. Cawan petri
- k. *Magnetic stirrer*
- l. Mikroplate/ ELISA reader
- m. Vortex Mixer
- n. Timer
- o. Pipet steril
- p. Homogenizer elektrik

- q. Mesin pencukur rambut hewan
- r. Lampu UV-B (302 nm)
- s. Dermoskop riester ri-scope ri-derma

4.4.2 Bahan

- a. Mencit C57BL/6 jantan
- b. Pakan standar
- c. Ekstrak mulberry 5% dan 10%
- d. Alkohol 70%
- e. Basis serum *Raw Material Cosmetical* yang diperoleh dari PT. Derma Elok Farma
- f. Kit ELISA
- g. *Phosphate-Buffered Saline* (PBS)
- h. *Radio-ImmunoPreparation Assay buffer* (RIPA buffer)
- i. Aquades
- j. Kloroform
- k. Hidrokuinon 2%

4.5 Prosedur Penelitian

4.5.1 *Ethical Clearance*

Ethical clearance diperoleh dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang (Lampiran 3).

4.5.2 Persiapan Sampel

Mencit C57BL/6 sebanyak 34 ekor disiapkan di Laboratorium IBL Unissula. Pada kelompok perlakuan, area terpapar UV-B diberikan serum ekstrak mulberry, sedangkan pada kelompok kontrol tidak diberikan perlakuan. Kemudian mencit diadaptasi selama 7 hari di lingkungan yang telah disiapkan, dan diberikan pakan dan air secara *ad libitum*.

4.5.3 Pembuatan Ekstrak Mulberry (*Morus alba* L.)

Penelitian ini menggunakan ekstrak mulberry yang diperoleh dari bahan baku komersial PT INBI Nusantara Sejahtera untuk memastikan konsistensi kualitas dan kandungan bahan aktif, meningkatkan efisiensi waktu, serta menjamin standar keamanan dan kemurnian yang telah diverifikasi oleh produsen.⁷⁶ Pada penelitian ini menggunakan produk berbentuk bubuk berwarna krem dengan aroma khas mulberry, mudah larut dalam air, memiliki kadar air 7,75%, dan pH larutan 10% sebesar 6,79. Dari sisi mutu mikrobiologi, produk memenuhi standar dengan Total Plate Count kurang dari 1×10^2 koloni/g, jumlah kapang dan khamir di bawah 1×10^1 koloni/g, serta bebas dari *Coliform*, *E. coli*, dan *Salmonella*. Produk memiliki masa simpan 12 bulan pada suhu penyimpanan 20–32 °C, dan telah tersertifikasi halal MUI, ISO 9001, serta ISO 22000 (Lampiran 4).

4.5.4 Prosedur Pembuatan Serum Ekstrak Mulberry

Prosedur kerja pembuatan serum ekstrak mulberry diawali dengan penyiapan basis serum yang diperoleh *Raw Material Cosmetical* mengacu pada prosedur yang dilakukan di PT Derma Elok Farma. Penelitian ini menggunakan produk berupa cairan kental berwarna cokelat ke arah gelap, dengan pH 5,12, viskositas 560 cps, dan densitas 1,041 g/ml (Lampiran 5). Produk ini juga memenuhi parameter mikrobiologi internal sehingga aman untuk digunakan. Proses pembuatan sediaan serum ekstrak buah mulberry dimulai dengan menyiapkan basis serum, kemudian ekstrak buah mulberry dengan konsentrasi 5% dan 10% ditambahkan sedikit demi sedikit yang dihomogenisasi dengan *magnetic stirrer* agar homogen. Pada penelitian ini juga menggunakan serum pembanding yaitu hidrokuinon 2% (*gold standard* terapi hiperpigmentasi), diperoleh dari sumber komersial sesuai standar farmakope dalam bentuk sediaan topikal.

Tabel 4.1 Formula Serum Ekstrak Mulberry

Formula	Bahan	Ekstrak Mulberry (g)
F1	Basis Serum diperoleh <i>Raw Material Cosmetical</i> ad 100%	5%
F2	Basis Serum diperoleh <i>Raw Material Cosmetical</i> ad 100%	10%

4.5.5 Prosedur Paparan UV-B

Prosedur paparan UV-B pada model hiperpigmentasi selama 14 hari pada mencit jantan galur C57BL/6 dimulai dengan tahap adaptasi selama 7 hari di laboratorium hewan coba. Mencit dipelihara dalam kandang dengan suhu 24-26°C dan kelembaban terkontrol serta diberikan pakan dan air minum *ad libitum*. Sebelum diberikan paparan UV-B, dilakukan pencukuran bulu pada bagian dorsal (punggung) menggunakan mesin pencukur rambut hewan hingga terbuka area dengan diameter sekitar 3 cm agar sinar UV-B dapat langsung mengenai kulit. Mencit kemudian ditempatkan pada wadah khusus yang memungkinkan paparan merata, lalu diberikan paparan sinar UV-B dengan panjang gelombang 280–320 nm pada jarak 10 cm.

Dosis paparan yang diberikan adalah 180 mJ/cm² dengan menggunakan panjang gelombang 302 nm dalam durasi 10 menit per hari, dilakukan 3 kali dalam seminggu selama 2 minggu untuk menginduksi hiperpigmentasi. Validasi hiperpigmentasi dilakukan melalui pengamatan makroskopik menggunakan dermoskop riester ri-scope ri-derma dan pengamatan mikroskopik menggunakan masson fontana terhadap warna kulit bagian punggung mencit. Perubahan warna kulit dipantau setiap minggu yaitu pada hari ke 8, 11, 13, 16, 19, dan 21 setelah terpapar UV-B. Hiperpigmentasi pada kulit mencit ditandai dengan perubahan warna kulit menjadi lebih gelap, seperti cokelat tua atau hitam yang mengindikasikan terjadinya peningkatan pigmentasi.

4.5.6 Penetapan Konsentrasi Ekstrak

Dosis pemberian secara topikal untuk ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) ditentukan sebelum dilakukannya penelitian dengan studi literatur yang sudah ada. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) dengan 5% untuk penggunaan topikal menunjukkan hasil yang stabil dalam mengurangi pigmentasi akibat paparan UV.⁸ Kemudian, dilakukan peningkatan konsentrasi dari konsentrasi pertama yaitu 10% untuk melihat perbedaan efektivitas ekstrak mulberry pada hiperpigmentasi kulit mencit. Sehingga penelitian ini menggunakan konsentrasi 5% dan 10% pada pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) secara topikal.

Pemberian serum ekstrak mulberry pada model *in vivo* yang mengalami hiperpigmentasi dilakukan selama 5 hari dimulai dari hari ke-23 sampai hari ke-27. Durasi ini dipilih untuk memastikan pengamatan yang optimal terhadap efektivitas serum dalam mengurangi hiperpigmentasi. Pemberian serum dilakukan 1x setiap hari dengan durasi 5 hari sebanyak 0,5 mL.⁴⁷

4.5.7 Pengambilan Sampel

Sampel jaringan kulit pada area paparan UV-B diambil pada hari ke-28 setelah paparan UV-B selama 14 hari dan setelahnya diberikan perlakuan selama 5 hari, dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Mencit diterminasi dengan metode euthanasia menggunakan kloroform.

- b. Jaringan kulit diambil pada bagian kulit yang dipapar sinar UV-B dengan metode biopsi, mencakup lapisan epidermis dan dermis.
- c. Potongan jaringan diambil dengan hati-hati untuk menjaga struktur dan morfologinya.

4.5.8 Analisis Biomarker

Prosedur preparasi jaringan sebelum analisis ELISA sebagai berikut:

- a. Homogenisasi jaringan dengan menyiapkan *Radio-Immuno Preparation Assay buffer* (RIPA buffer) dengan menambahkan protease inhibitor sesuai dosis rekomendasi produsen.
- b. Jaringan dipotong menjadi potongan kecil (1–2 mm) dengan gunting steril untuk mempermudah homogenisasi.
- c. Potongan jaringan dimasukkan ke dalam tabung *mikrocentrifuge* yang berisi 500–1000 μ L buffer lisis atau larutan PBS dingin (pH 7,4).
- d. Jaringan dihomogenisasi menggunakan homogenizer elektrik dengan kecepatan sedang-tinggi hingga jaringan menjadi halus.
- e. Homogenat diinkubasi pada suhu 4°C selama 30–60 menit dengan pengocokan berkala (vortex setiap 10 menit).
- f. Homogenat disentrifuse pada 12.000–14.000 rpm selama 15–20 menit pada suhu 4°C.
- g. Supernatan diambil menggunakan pipet steril secara hati-hati agar tidak bercampur dengan debris atau pelet.
- h. Supernatan dipindahkan ke tabung mikrocentrifuge baru., kemudian

simpan supernatan di freezer (-80°C) sampai dianalisis menggunakan ELISA.

Supernatan yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar α -MSH dan SCF menggunakan metode ELISA, mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk, menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 450 nm. Tahapan pemeriksaanya sebagai berikut:

- a. Pembuatan standard
 1. Sepuluh sumuran disiapkan pada mikroplate.
 2. Pada sumuran 1 dan 2, dimasukkan 100 μL cairan standar dan 50 μL diluent standar, kemudian dicampurkan.
 3. Pada sumuran 3 dan 4, dimasukkan 100 μL cairan dari sumuran 1 dan 2 serta 50 μL diluent standar, kemudian dicampurkan.
 4. Pada sumuran 5 dan 6, dimasukkan 100 μL cairan dari sumuran 3 dan 4 serta 50 μL diluent standar, kemudian dicampurkan.
 5. Pada sumuran 7 dan 8, dimasukkan 100 μL cairan dari sumuran 5 dan 6 serta 50 μL diluent standar, kemudian dicampurkan.
- b. Antibodi ditambahkan dan diinkubasi selama tiga puluh menit pada suhu 37°C , larutan pencuci dicampur dengan aquades sebanyak tiga puluh kali, dan sumuran dicuci sebanyak lima kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.
- c. Buffer penghalang ditambahkan agar antigen menempel pada plat selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C .

- d. Sampel dimasukkan sebanyak 100 μ L ke tiap sumuran, kemudian diinkubasi selama 120 menit pada suhu ruangan.
- e. Biotinylated antibodi ditambahkan sebanyak 100 μ L pada tiap sumuran.
- f. Inkubasi dilakukan selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C. Setelah itu, pencucian sumuran dilakukan sebanyak 5 kali dan 100 μ L ABC solution ditambahkan pada setiap sumuran, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- g. 100 μ L HRP-conjugate dan 100 μ L TMB ditambahkan pada tiap sumuran, kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- h. 100 μ L *stop solution* ditambahkan pada tiap sumuran, hingga terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
- i. Nilai *Optical Density* (OD) dibaca pada panjang gelombang 450 nm menggunakan alat ELISA reader, dan hasil kadar α -MSH dan SCF diperoleh.

4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

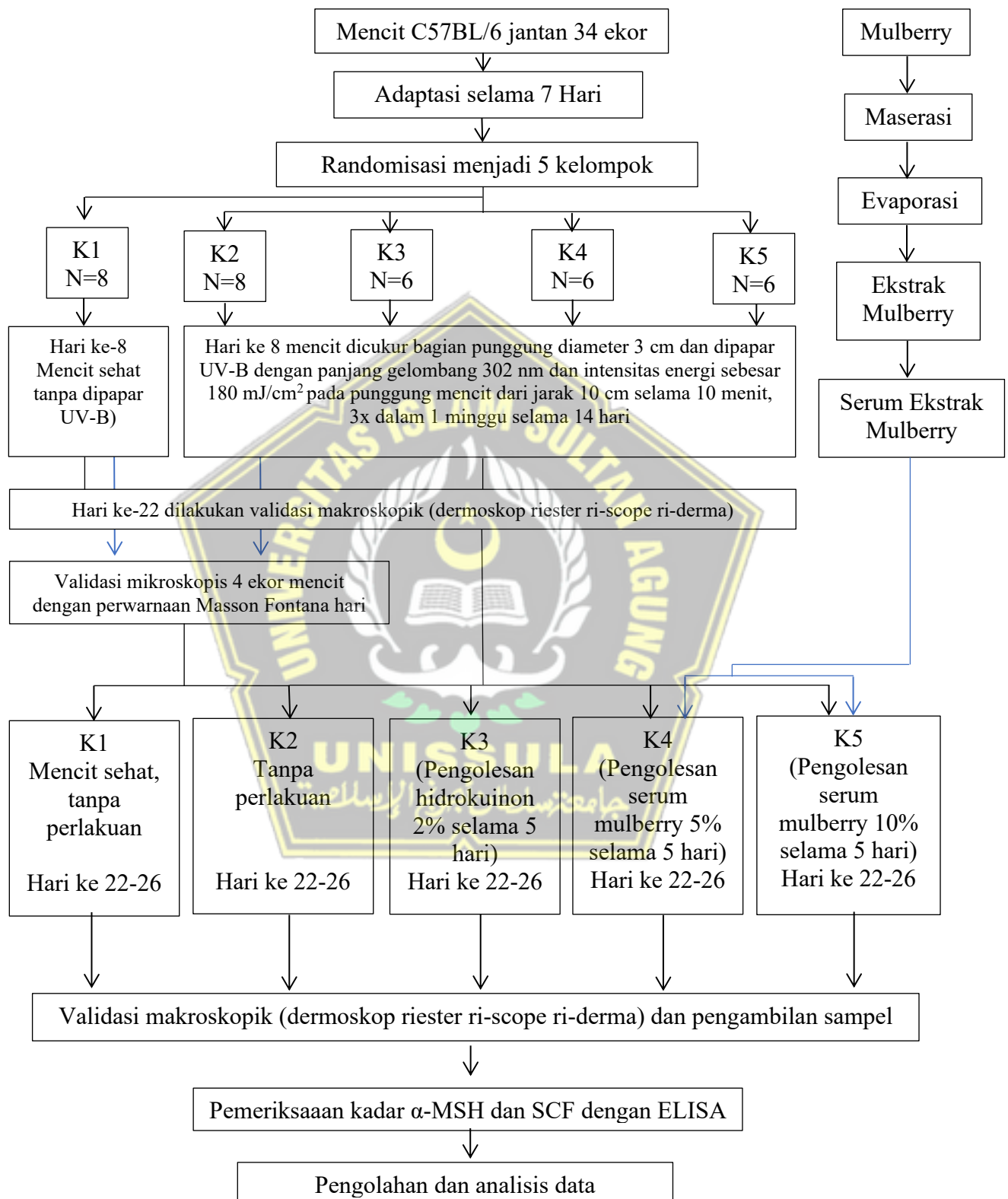
Penelitian ini menggunakan ekstrak mulberry yang diperoleh dari bahan baku komersial PT INBI. Sediaan serum diformulasikan di laboratorium PT Derma Elok Farma. Pengujian pada hewan uji dan analisis sampel dilakukan di fasilitas hewan *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan analisis kadar α -MSH dan SCF

dengan metode ELISA dilakukan di Laboratorium CITO (Lampiran 6). Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni-Juli 2025.

4.7 Analisis Data

Data kadar α -MSH dan SCF dari total 25 ekor mencit (5 ekor per-kelompok) dianalisis menggunakan uji statistik deskriptif, yang kemudian dilanjutkan dengan uji normalitas distribusi data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas varian data menggunakan *Levene test*. Data kadar α -MSH pada kelompok mulberry 5% tidak normal ($p < 0,05$), namun kelompok lainnya normal ($p > 0,05$), sedangkan, data SCF menunjukkan terdistribusi normal ($p > 0,05$). Varian data α -MSH dan SCF menunjukkan data yang tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Keputusan untuk menerima atau menolak hipotesis penelitian didasarkan pada nilai signifikansi sebesar 5% ($p < 0,05$). Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi SPSS untuk mengolah dan menganalisis data statistik kadar α -MSH dan SCF dengan versi 26.0.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.3 Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak buah mulberry (*Morus alba L.*) terhadap kadar α -Melanocyte Stimulating Hormon (α -MSH) dan kadar Stem Cell Factor (SCF) pada mencit jantan C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan ultraviolet B (UV-B). Total subjek penelitian berjumlah 34 ekor mencit yang terbagi ke 5 lima kelompok, yaitu kelompok kontrol sehat (K1), kelompok kontrol negatif yang dipapar UVB (K2), kelompok kontrol positif yang dipapar UVB dan hidrokuinon 2% (K3), kelompok perlakuan yang dipapar UVB dan serum ekstrak mulberry 5% (K4), dan kelompok perlakuan yang dipapar UVB dan serum ekstrak mulberry 10% (K5). Setiap kelompok terdiri atas 6 ekor mencit, kecuali pada kelompok K1 dan K2 ditambahkan masing-masing 2 ekor untuk validasi munculnya hiperpigmentasi akibat paparan UVB. Paparan UVB diberikan selama 14 hari, kemudian dilanjutkan dengan perlakuan pemberian perlakuan serum ekstrak mulberry dosis 5%, 10% dan hidrokuinon 2% selama 5 hari.

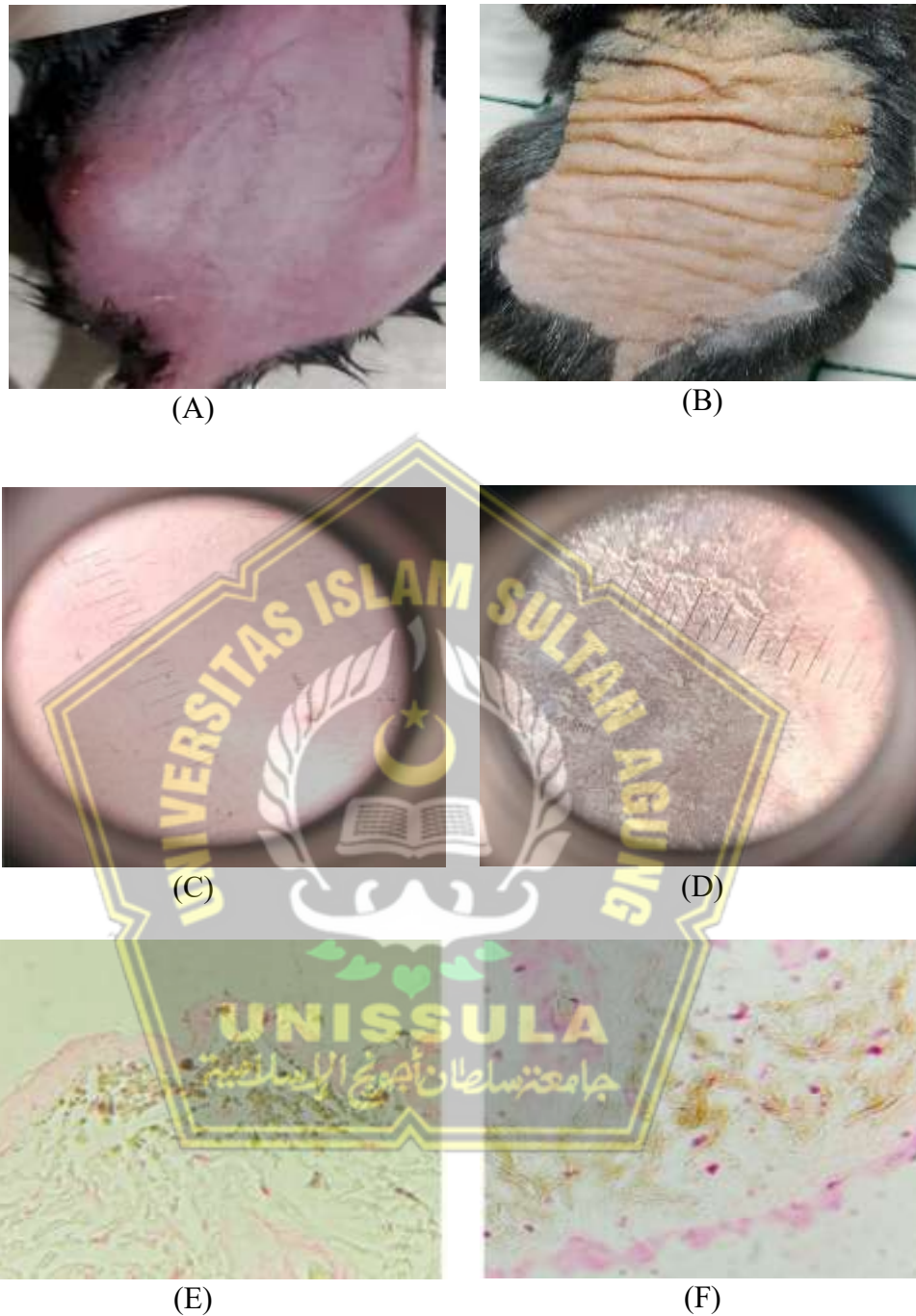
Validasi model hiperpigmentasi dilakukan pada masing-masing 2 ekor mencit pada K1 dan K2 yang diamati menggunakan kamera dan dermoskop riester ri-scope ri-derma pada hari ke-22. Pada hari ke-7 terdapat 1 ekor mencit pada K4 yang mati dan pada hari ke-9 terdapat 1 ekor mencit pada K2 juga yang mati, sehingga kadar α -MSH dan SCF dianalisa dari 5 ekor mencit/ kelompok.

5.1.1 Validasi Model Hiperpigmentasi Gambaran Makroskopis Jaringan

Kulit Mencit Menggunakan Dermoskop riester ri-scope ri-derma

Paparan UV-B pada panjang gelombang 302 nm dengan kekuatan 180 mJ/cm^2 selama 14 hari menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit mencit yang terpapar berbeda dengan kulit mencit yang normal. Hasil pengamatan makroskopis menggunakan kamera menunjukkan bahwa kulit mencit dalam kondisi normal sebelum perlakuan, memiliki permukaan yang halus, berwarna merah muda, dan tanpa adanya pigmentasi berlebih atau perubahan tekstur yang mencolok (Gambar 5.1A). Hiperpigmentasi pada kulit mencit yang dipapar UV-B selama 14 hari ditandai dengan peningkatan warna coklat kekuningan, munculnya lipatan-lipatan kulit, dan penebalan permukaan (Gambar 5.1B).

Hasil pengamatan dengan dermoskop riester ri-scope ri-derma (Gambar 5.1C dan 5.1D) menunjukkan perbedaan yang signifikan dari gambaran makroskopis permukaan kulit mencit sebelum dipapar UV-B dan setelah dipapar UV-B selama 14 hari. Kemudian, pada hasil pengamatan dengan pewarnaan *Masson-Fontana* (Gambar 5.1E dan 5.1F) menunjukkan bahwa pada kulit normal, pigmen melanin tampak sedikit dan terdistribusi merata di lapisan basal epidermis, sedangkan pada kulit yang terpapar UV-B terlihat peningkatan deposit melanin berwarna coklat kehitaman yang lebih pekat dan meluas hingga lapisan suprabasal. Hasil ini memastikan bahwa mencit paparan UV-B selama 14 hari menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit mencit C57BL/6.



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis kulit mencit menggunakan alat drmatoskop: (A) Kondisi kulit Sebelum dipapar UV-B, (B) Kondisi kulit setelah dipapar UV-B selama 14 hari, yang menunjukkan tanda-tanda hiperpigmentasi, (C) Hasil pengamatan kulit dengan dermoskop riester ri-scope ri-derma sebelum dipapar UV-B, (D) Hasil pengamatan kulit dengan dermoskop riester ri-scope ri-derma setelah dipapar UV-B selama 14 hari, (E) Hasil pengamatan kulit dengan pewarnaan *Masson-Fontana* sebelum dipapar UV-B, (F) Hasil pengamatan kulit dengan pewarnaan *Masson-Fontana* sebelum dipapar UV-B selama 14 hari.

Tabel 5.1 mengenai pembacaan sel melanosit sebanyak 3 lapang pandang pembacaan dengan perbesar 40x. Hasil menunjukkan bahwa jumlah sel pada kelompok yang terpapar UV-B lebih tinggi dibandingkan kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa paparan UV-B berhasil memicu peningkatan jumlah sel melanosit. Model hiperpigmentasi yang diinduksi melalui paparan UV-B dalam penelitian ini terbukti valid untuk digunakan pada tahap uji perlakuan, karena secara histologis terlihat peningkatan jumlah melanosit serta akumulasi melanin di lapisan epidermis. Peningkatan deposit melanin tersebut mencerminkan aktivasi proses melanogenesis yang menyerupai mekanisme hiperpigmentasi fisiologis maupun patologis pada kulit manusia, sehingga model ini sesuai untuk menilai efektivitas agen depigmentasi.

Tabel 5.1. Hasil Pembacaan Sel Melonosit

Kelompok	N	Lapang Pandang Pembacaan 400x			Rata-rata±SD
		I	II	III	
Normal	1	32	30	30	31±1,15
	2	31	31	30	31±0,58
UV-B	1	42	41	40	41±1
	2	41	40	41	41±0,5

5.1.2 Kadar α -MSH pada Jaringan Kulit

Hasil analisis ELISA dari supernatan jaringan kulit mencit menunjukkan bahwa rerata kadar α -MSH tertinggi ditemukan pada kelompok sehat (K1) sebesar $452,53 \pm 7,10$ ng/m. Pada pada kelompok kontrol negatif (K2) yang dipapar UV-B tanpa terapi, kadar α -MSH tercatat $290,34 \pm 36,49$ ng/mL, lebih rendah dibandingkan kelompok sehat. Kelompok kontrol positif (K3) memiliki kadar α -MSH sebesar $314,94 \pm 84,11$ ng/mL lebih tinggi dibanding kontrol negatif, menunjukkan efek

pemulihan dari terapi standar hidrokuinon 2%. Pemberian serum 5% (K4) menyebabkan kadar α -MSH sebesar $271,32 \pm 212,87$ ng/mL yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang diberi serum ekstrak mulberry konsentrasi 10% (K5) yaitu sebesar $240,84 \pm 94,03$ ng/mL (Tabel 5.1).

Tabel 5.2 Kadar α -MSH pada Jaringan Kulit

Kelompok Perlakuan	Kadar α -MSH	Nilai p Hasil Uji		
		Normalitas distribusi data dengan <i>Saphiro Wilk</i>	Homogenitas varian data dengan <i>Levene Test</i>	Beda dengan <i>Kruskall Wallis</i>
Kontrol sehat (K1)	452,53 $\pm$ 7,10	0,108		
Kontrol negatif / UVB (K2)	290,34 $\pm$ 36,49	0,535		
Kontrol Positif UVB + Hidrokuinon 2% (K3)	314,94 $\pm$ 84,11	0,096		
UVB + Serum ekstrak mulberry 5% (K4)	271,32 $\pm$ 212,87	0,013	0,031	0,020
UVB + Serum ekstrak mulberry 10% (K5)	240,84 $\pm$ 94,03	0,560		

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data α -MSH pada K1, K2, K3, dan K5 terdistribusi normal ($p > 0,05$), sedangkan pada K4 tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$). Hasil uji *Levene's Test* diperoleh nilai p sebesar 0,031 ($p < 0,05$) sehingga varians data α -MSH pada semua kelompok tidak homogen. Karena distribusi data tidak normal dan varians data tidak homogen maka uji beda antar kelompok menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $p = 0,020$ ($p < 0,05$), yang berarti minimal ada 1 pasang kelompok perlakuan yang memiliki rerata kadar α -MSH yang berbeda secara signifikan.

Tabel 5.3 menunjukkan hasil uji *Mann-Whitney*, dimana terdapat perbedaan signifikan rerata kadar α -MSH pada kelompok K1 (kelompok sehat) berbeda signifikan dengan kelompok K2 (paparan UVB tanpa

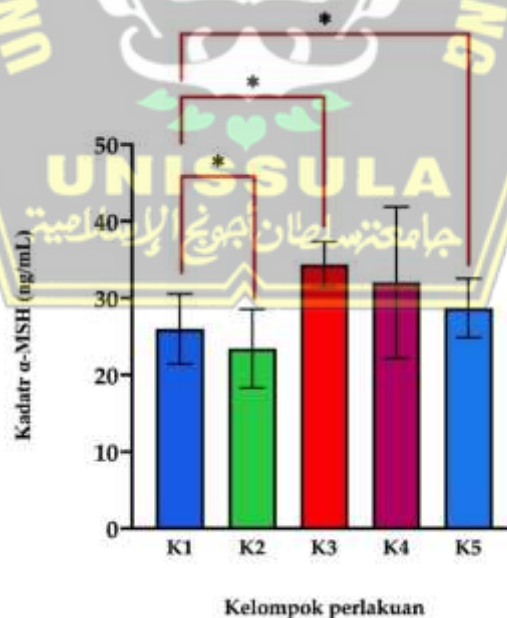
perlakuan), K3 (UVB + terapi hidrokuinon 2%), dan K5 (UVB + serum ekstrak mulberry 10%), dengan nilai $p = 0,076$, sehingga tidak ada perbedaan yang signifikan. Kadar α -MSH kelompok K1 tidak berbeda signifikan dengan K4 (UVB + serum ekstrak mulberry 5%) dengan nilai $p = 0,116$ ($p > 0,05$). Kadar α -MSH pada K3, K4, dan K5 tidak berbeda secara signifikan $p > 0,05$ (Gambar 5.2).

Tabel 5.3 Uji *Mann-Whitney* kadar α -MSH Antar Kelompok Penelitian

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0,009*	0,009*	0,116	0,009*
K2	0,009*		0,917	0,175	0,175
K3	0,009*	0,917		0,251	0,076
K4	0,116	0,175	0,251		0,917
K5	0,009*	0,175	0,076	0,917	

Keterangan:

* = berbeda signifikan ($p < 0,05$)



Gambar 5.2 Kadar α -MSH dari jaringan kulit mencit pada tiap kelompok

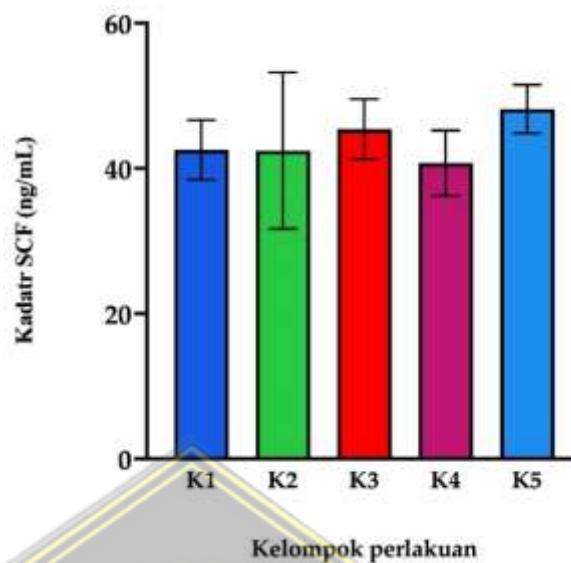
perlakuan

5.1.3 Kadar SCF pada Jaringan Kulit

Tabel 1 menunjukkan rerata kadar SCF pada berbagai kelompok perlakuan. Kadar SCF pada kelompok sehat (K1) sebesar $42,56 \pm 4,11$ pg/mL yang hampir sama dengan pada kelompok kontrol negatif (K2) sebesar $42,44 \pm 10,77$ pg/mL, dan kelompok kontrol positif (K3) menunjukkan kadar SCF $45,38 \pm 4,15$ pg/mL. Pemberian serum 5% (K4) menghasilkan kadar SCF $40,73 \pm 4,48$ pg/mL yang lebih rendah dibandingkan dengan pemberian serum 10% (K5) memberikan kadar SCF tertinggi sebesar $48,18 \pm 3,34$ pg/mL. Hasil uji normalitas Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data yang normal ($p > 0,05$). Hasil uji *Levene's Test* menunjukkan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$), yang berarti data tidak memiliki varians yang homogen. Oleh karena itu, uji beda antarkelompok menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai signifikansi $p = 0,217$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa kadar SCF antar kelompok perlakuan tidak berbeda secara signifikan (Gambar 5.3).

Tabel 5.4 Hasil Penelitian Kadar SCF

Kelompok Perlakuan	Kadar SCF	Nilai p Hasil Uji		
		Normalitas distribusi data dengan <i>Saphiro Wilk</i>	Homogenitas varian data dengan <i>Levene Test</i>	Beda dengan <i>Kruskall Wallis</i>
Kontrol sehat (K1)	$42,56 \pm 4,11$	0,083	0,001	0,217
Kontrol negatif / UVB (K2)	$42,44 \pm 10,77$	0,264		
Kontrol Positif UVB + Hidrokuinon 2% (K3)	$45,38 \pm 4,15$	0,593		
UVB + Serum ekstrak mulberry 5% (K4)	$40,73 \pm 4,48$	0,178		
UVB + Serum ekstrak mulberry 10% (K5)	$48,18 \pm 3,34$	0,725		



Gambar 5.3 Kadar SCF dari jaringan kulit mencit pada tiap kelompok perlakuan

5.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan UV-B pada panjang gelombang 302 nm dengan kekuatan 180 mJ/cm² selama 14 hari mampu menginduksi hiperpigmentasi pada kulit mencit yang ditunjukkan berdasarkan gambaran makroskopis menggunakan kamera dan dermoskop riester ri-scope ri-derma, serta mikroskopis dengan pewarnaan *Masson-Fontana*. Hiperpigmentasi pada kulit mencit akibat paparan UV-B ditandai dengan munculnya peningkatan warna coklat kekuningan, lipatan kulit dan penebalan permukaan kulit, serta peningkatan granula melanin pada lapisan basal epidermis. Hasil ini sesuai dengan penelitian Wang *et al.* (2024) yang menyatakan bahwa paparan UV-B memicu hiperpigmentasi pada mencit.

Hiperpigmentasi akibat paparan UV-B seharusnya menyebabkan kadar kadar *alfa-melanocyte stimulating hormone* (α -MSH) yang berperan sentral

dalam melanogenesis dan kadar *stem cell factor* (SCF) yang berperan penting dalam jalur SCF/c-Kit, di mana aktivasi ini juga melibatkan regulasi melalui jalur NF- κ B.⁸ Penurunan kadar α -MSH dan SCF disebabkan oleh peningkatan stress oksidatif akibat paparan UV-B yang mengganggu proses melanogenesis serta mengurangi migrasi dan proliferasi melanosit yang dikendalikan oleh SCF. Akan tetapi pada penelitian ini kadar α -MSH pada kelompok yang dipapar UV-B lebih rendah secara signifikan dibandingkan mencit pada kelompok sehat. Demikian juga dengan kadar SCF yang menunjukkan nilai yang tidak berbeda dengan kelompok yang sehat. Hal ini dimungkinkan karena kadar α -MSH dan SCF sudah mengalami penurunan pada hari ke-6 setelah paparan UV-B dan perlakuan. Yardman & Fisher (2021) dan Chakraborty *et al.* (1995) melaporkan bahwa ekspresi α -MSH dan SCF meningkat sebagai respons terhadap paparan UV-B, dalam jalur tanning tertunda yang biasanya terjadi dalam beberapa jam hingga hari setelah paparan UV-B, namun waktu puncak spesifik tidak disebutkan secara eksplisit dalam studi yang tersedia.^{81,82} Selain itu, penurunan kadar α -MSH dan SCF ini juga kemungkinan tidak hanya disebabkan oleh efek anti-inflamasi, tetapi juga oleh modulasi jalur non-inflamasi. Ekstrak mulberry diketahui menghambat translokasi NF- κ B serta mengarahkan aktivasi mTOR/S6 dan MAPK, yang mendukung kelangsungan hidup sel dan pemulihan jaringan pasca-stres oksidatif. Kemudian, jalur melanogenesis seperti SCF-c-KIT dan Wnt/ β -catenin yang mengaktifkan MITF juga bisa diturunkan oleh perlakuan, menjelaskan penurunan α -MSH dan SCF secara konsisten. Kombinasi potensi anti-pigmentasi melalui regulasi

SCF–c-KIT/Wnt dan pro-survival via mTOR mendukung rendahnya α -MSH dan SCF saat penelitian memasuki fase pemulihan.⁸³

Kadar α -MSH dan SCF pada kelompok mencit yang diberikan hidrokuinon 2% (K3) lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang dipapar UV-B (K2), sedangkan kadar α -MSH pada kelompok yang diberikan serum ekstrak mulberry konsentrasi 5% (K4) dan 10% (K5) lebih rendah, dengan penurunan yang mendekati kelompok mencit normal yaitu pemberian serum ekstrak mulberry 5%. Kadar SCF pada kelompok mencit yang diberikan serum ekstrak mulberry konsentrasi 5% (K4) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang dipapar UV-B (K2). Namun, pada pemberian serum ekstrak mulberry 10% (K5), kadar SCF justru lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok yang dipapar UV-B (K2) dan hidrokuinon 2% (K3). Hal ini menunjukkan bahwa serum ekstrak mulberry konsentrasi 5% dapat berperan dalam menurunkan hiperpigmentasi dengan efek setara dengan hidrokuinon 2%. Hal ini sesuai dengan penelitiannya Wang *et al.* (2024) bahwa serum ekstrak mulberry 5% efektif sebagai terapi hiperpigmentasi pada mencit C57BL/6, dengan mekanisme antioksidan dan antiinflamasi yang terkandung dalam ekstrak mulberry dapat mengurangi dampak kerusakan kulit akibat paparan UV-B.⁸ Efek antihiperpigmentasi dari serum ekstrak mulberry 5% diduga sama dengan hidrokuinon yaitu dengan cara aktivitas tirosinase dan melanosit, dapat mengurangi produksi α -MSH dan SCF lebih efektif daripada ekstrak mulberry. Namun, penggunaan ekstrak mulberry lebih aman dengan potensi efek samping yang lebih rendah, yang sejalan dengan temuan oleh

Bajuri (2020), yang melaporkan bahwa ekstrak mulberry memiliki efek protektif terhadap kulit dengan sedikit efek samping.⁷ Studi komparatif menunjukkan bahwa ekstrak mulberry dan hidrokuinon sama-sama efektif dalam menurunkan melanogenesis dan transfer melanin pada model sel kulit manusia.⁸⁴ Namun, belum ada data klinis langsung yang membandingkan efektivitas ekstrak mulberry 5% dengan hidrokuinon pada manusia, sehingga perbandingan dosis spesifik masih perlu penelitian lebih lanjut dengan hidrokuinon 2%.⁸⁵

Peningkatan konsentrasi serum mulberry menjadi 10% menyebabkan penurunan kadar α -MSH, tetapi tidak menurunkan kadar SCF. Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan Wang *et al.* (2024) bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak mulberry menyebabkan peningkatan efek antihiperpigmentasi karena konsentrasi senyawa aktif yang lebih tinggi dalam penurunan kadar α -MSH dan SCF. Kandungan flavonoid dan arbutin dalam mulberry memang berfungsi untuk menghambat tirosinase dan melanin, namun dalam konsentrasi tinggi, efektivitasnya tidak meningkat signifikan dan dapat berisiko mengurangi efektivitas terapi. Diketahui bahwa mulberry mengandung senyawa aktif seperti arbutin, flavonoid, oxyresveratrol, dan mulberroside-A yang berperan dalam mencerahkan kulit dan melindunginya dari kerusakan akibat paparan UV-B. Arbutin bekerja sebagai inhibitor tirosinase sehingga menghambat pembentukan melanin dan mengurangi hiperpigmentasi, sedangkan flavonoid berfungsi sebagai antioksidan yang menangkal radikal bebas, mencegah kerusakan sel, dan menstabilkan melanosit. Oxyresveratrol memiliki efek kuat

menghambat tirosinase, menekan inflamasi melalui penghambatan NF- κ B, serta menurunkan kadar α -MSH dan SCF, sedangkan mulberroside-A menghambat ekspresi tirosinase, sehingga menurunkan produksi α -MSH dan SCF serta mengurangi inflamasi.⁴¹

Mekanisme penurunan kadar α -MSH dan SCF pada terbatas pada pengamatan di jaringan kulit yang dipapar UV-B akan tetapi belum dilakukan pengamatan histopatologi dengan pewarnaan *immunohistokimia* (IHC). Hal ini memiliki keterbatasan keterbatasan biaya, fasilitas, dan waktu penelitian, sehingga distribusi dan lokasi spesifik ekspresi α -MSH dan SCF pada tiap lapisan kulit tidak dapat diidentifikasi secara langsung. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengamatan dengan IHC karena metode ini mampu memberikan informasi visual yang detail mengenai lokasi, distribusi, dan intensitas ekspresi α -MSH dan SCF pada setiap lapisan kulit, sehingga hubungan antara kadar biomarker dengan perubahan struktur jaringan akibat paparan UV-B dapat dipahami secara lebih komprehensif.

Selain itu, faktor teknis seperti durasi perlakuan yang belum optimal, degradasi sediaan akibat fotolabilitas hidrokuinon, serta variasi biologis antar subjek dapat memengaruhi hasil. Karena perlakuan dimulai pada hari ke-5 pasca-UVB, kemungkinan diperlukan waktu lebih lama untuk menimbulkan efek konsisten. Hal ini sejalan dengan dinamika mediator pigmentasi, di mana α -MSH dan SCF meningkat lebih awal sebagai respons UV-B, sedangkan ET-1 muncul lebih lambat (hari ke-5–10). Perbedaan waktu puncak ini menegaskan bahwa pigmentasi berlangsung terkoordinasi namun bertahap, sehingga

intervensi pada waktu yang kurang tepat dapat membuat penurunan α -MSH dan SCF belum stabil.⁸⁶



BAB VI

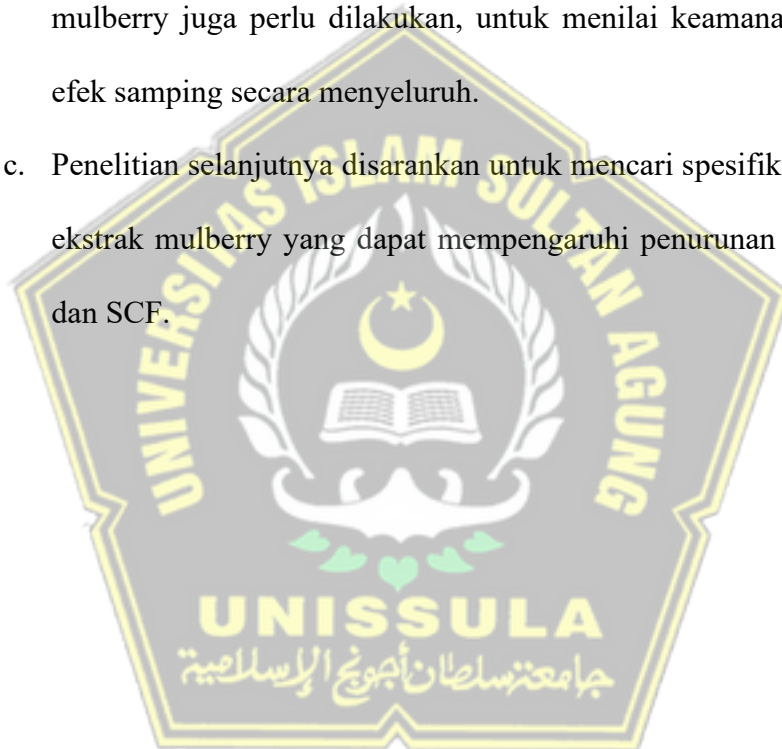
KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian serum ekstrak mulberry berpengaruh terhadap kadar α -MSH dengan nilai signifikansi sebesar ($p = 0,020$), namun tidak berpengaruh terhadap kadar SCF pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.
2. Kadar α -MSH pada kelompok serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% ($271,32 \pm 212,87$); konsentrasi 10% ($240,84 \pm 94,03$); hidrokuinon 2% ($314,94 \pm 84,11$), lebih rendah dibandingkan dengan kelompok mencit yang sehat ($452,53 \pm 7,10$). Serum ekstrak mulberry 5% dan 10% lebih rendah dibandingkan kelompok hiperpigmentasi akibat paparan UV-B ($290,34 \pm 36,49$), sedangkan kelompok hidrokuinon lebih tinggi.
3. Kadar SCF pada kelompok serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% ($40,73 \pm 4,48$) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok mencit yang sehat ($42,56 \pm 4,11$) dan kelompok 6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B ($42,44 \pm 10,77$), sedangkan kelompok serum ekstrak mulberry konsentrasi 10% ($48,18 \pm 3,34$) dan hidrokuinon 2% ($45,38 \pm 4,15$) lebih tinggi dari kelompok mencit sehat dan kelompok hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

6.2 Saran

- a. Penelitian selanjutnya dapat dilakukan pengamatan dengan pewarnaan *immunohistokimia* (IHC) karena metode ini mampu memberikan informasi visual yang detail mengenai lokasi, distribusi, dan intensitas ekspresi α -MSH dan SCF pada setiap lapisan kulit.
- b. Evaluasi terhadap efek sistemik dari penggunaan topikal ekstrak mulberry juga perlu dilakukan, untuk menilai keamanan dan potensi efek samping secara menyeluruh.
- c. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mencari spesifikasi kandungan ekstrak mulberry yang dapat mempengaruhi penurunan kadar α -MSH dan SCF.



DAFTAR PUSTAKA

1. Nailufa Y, Soetjipto S, Wahyudi L. Pengaruh Cara Pemakaian Produk Tabir Surya Terhadap Tingkat Keparahan Hiperpigmentasi Pada Pasien Di Klinik Kecantikan Di Surabaya. *Maheesa : Malahayati Health Student Journal* 2024;4(4):1639–1648.
2. Xing X, Dan Y, Xu Z, Xiang L. Implications Of Oxidative Stress In The Pathogenesis And Treatment Of Hyperpigmentation Disorders. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;2022.
3. Kata C, Fabbí B, Akos H, Katinka P. Hyperpigmentáció Esztétikai Vonatkozásai. *Bőrgyógyászati És Venerológiai Szemle* 2024;6:305–311.
4. Danis R, Jusuf Nk, Putra Ib. Prevalensi Lima Kelainan Kulit Terbanyak Di Poliklinik Dermatologi Kosmetik Rumah Sakit Universitas Sumatera Utara Tahun 2020-2022. 2024;
5. Siebenga Ps, Amerongen G Van, Klaassen Es, Kam Ml De, Rissmann R, Groeneveld Gj. The Ultraviolet B Inflammation Model: Postinflammatory Hyperpigmentation And Validation Of A Reduced Uvb Exposure Paradigm For Inducing Hyperalgesia In Healthy Subjects. *European Journal Of Pain (United Kingdom)* 2019;23(5):874–883.
6. Liyanage A, Liyanage G, Sirimanna G, Schurer N. Comparative Study On Depigmenting Agents In Skin Of Color. *J Clin Aesthet Dermatol* 2022;15(2):12–17.

7. Rathee P, Kumar S, Kumar D, Kumari B, Yadav Ss. Skin Hyperpigmentation And Its Treatment With Herbs: An Alternative Method. *Futur J Pharm Sci* 2021;7(1).
8. Wang H, Chen X, Li J, Chen Z, Zhou A, Ye L. Oxyresveratrol From Mulberry (*Morus Alba L.*) Ameliorates Post-Inflammatory Hyperpigmentation In Vitro By Anti-Melanogenesis, Inhibiting Melanosome Transfer, And Providing Photoprotection. *J Funct Foods* 2024;122.
9. Zakeri Se, Hadjiakhoondi A, Nasrollahi Sa, Vazirian M, Naeimifar A. Formulation And Physicochemical Evaluation Of A 3% Cream Using Crude 70% Ethanolic Extract Of *Morus Alba L.* Leaves For Skin Hyperpigmentation. *Jundishapur J Nat Pharm Prod* 2022;17(1).
10. Liandhajani, Fitria N, Padua Ratu A. Karakteristik Dan Stabilitas Sediaan Serum Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Dengan Variasi Konsentrasi. 2022;
11. Pasaribu R. Pola Intensitas Radiasi Uvb Dan Waktu Berjemur Yang Tepat Dan Optimal. *Jurnal Pendidikan Fisika Dan Sains (Jpfs)* 2022;5(2):51–56.
12. Rodboon T, Palipoch S, Okada S, Charoenchon N, Nakornpakdee Y, Suwannalert P. Oxyresveratrol Inhibits Cellular Tyrosinase-Related Oxidative Stress-Induced Melanogenesis In B16 Melanoma Cells. *J Appl Pharm Sci* 2020;10(4):8–13.

13. Jin Jh, Jiang Yy, Wang Y, Et Al. Oxyresveratrol-Induced Activation Of Nrf2/Ho-1 Signaling Pathway Enhances Ability Of Resveratrol To Inhibit Uvb-Induced Melanin. *Int J Dermatol Venereol* 2021;4(3):152–162.
14. Faizatun, Murti Iip. Formulation Of Nanostructured Lipid Carrier Gel From Mulberry Root Extract (*Morus Alba L.*) As Whitening Agent Using Zebrafish Modelling Formulasi Gel Nanostructured Lipid Carriers. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia* 2023;21(2):209–214.
15. Szabó I, Biri-Kovács B, Vári B, Et Al. Targeting The Melanocortin 1 Receptor In Melanoma: Biological Activity Of A-Msh–Peptide Conjugates. *Int J Mol Sci* 2024;25(2).
16. Dall’olmo L, Papa N, Surdo Nc, Marigo I, Mocellin S. Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone (A-Msh): Biology, Clinical Relevance And Implication In Melanoma. *J Transl Med.* 2023;21(1).
17. Singh M, Mukhopadhyay K. Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone: An Emerging Anti-Inflammatory Antimicrobial Peptide. *Biomed Res Int.* 2014;2014.
18. Carney Bc, Travis Te, Moffatt Lt, Et Al. Hypopigmented Burn Hypertrophic Scar Contains Melanocytes That Can Be Signaled To Re-Pigment By Synthetic Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone In Vitro. *Plos One* 2021;16(3 March).
19. Chen Sj, Hseu Yc, Gowrisankar Yv, Et Al. The Anti-Melanogenic Effects Of 3-O-Ethyl Ascorbic Acid Via Nrf2-Mediated A-Msh Inhibition In Uva-

- Irradiated Keratinocytes And Autophagy Induction In Melanocytes. *Free Radic Biol Med* 2021;173:151–169.
20. Azam Ms, Lee B, Kim J Il, Choi Cg, Choi J, Kim Hr. Sargahydroquinoic Acid Suppresses Hyperpigmentation By Camp And Erk1/2-Mediated Downregulation Of Mitf In A-Msh-Stimulated B16f10 Cells. *Foods* 2021;10(10).
 21. Ribero S, Romani A, Mattozzi C, Minoretti P. Comparative Efficacy Of Skin-Lightening Formulations In Suppressing Ultraviolet B (Uvb)-Induced Arachidonic Acid, Alpha-Melanocyte-Stimulating Hormone (A-Msh), And Melanin Expression: An In Vitro Keratinocyte-Melanocyte Co-Culture Study. *Cureus* [Homepage On The Internet] 2025; Available From: <https://www.cureus.com/articles/339040-comparative-efficacy-of-skin-lightening-formulations-in-suppressing-ultraviolet-b-uvb-induced-arachidonic-acid-alpha-melanocyte-stimulating-hormone--msh-and-melanin-expression-an-in-vitro-keratinocyte-melanocyte-co-culture-study>
 22. Chen Sj, Hseu Yc, Gowrisankar Yv, Et Al. The Anti-Melanogenic Effects Of 3-O-Ethyl Ascorbic Acid Via Nrf2-Mediated A-Msh Inhibition In Uva-Irradiated Keratinocytes And Autophagy Induction In Melanocytes. *Free Radic Biol Med* 2021;173:151–169.
 23. In Kr, Kang Ma, Kim Sd, Et Al. Anhydrous Alum Inhibits A-Msh-Induced Melanogenesis By Down-Regulating Mitf Via Dual Modulation Of Creb And Erk. *Int J Mol Sci* 2023;24(19).

24. Yuliarni D, Kamilah Mm, Nugraha Gi, Faridah L, Bashari Mh, Ekawardhani S. The Mdrop Method Enhances Melanin Content Measurement In The In Vitro Melanogenesis Model Using B16f10 Cell Line. *Molecular And Cellular Biomedical Sciences* [Homepage On The Internet] 2025;9(1):22. Available From: <https://Cellbiopharm.Com/Ojs/Index.Php/Mcbs/Article/View/527>
25. Atef A, El-Rashidy Ma, Azeem Aa, Kabel Am. The Role Of Stem Cell Factor In Hyperpigmented Skin Lesions. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention* 2019;20(12):3723–3728.
26. Yun Cy, Roh E, Kim Sh, Et Al. Stem Cell Factor-Inducible Mitf-M Expression In Therapeutics For Acquired Skin Hyperpigmentation. *Theranostics* 2020;10(1):340–352.
27. Lu Y, Tonissen Kf, Trapani G Di. Modulating Skin Colour: Role Of The Thioredoxin And Glutathione Systems In Regulating Melanogenesis. *Biosci Rep.* 2021;41(5).
28. Stoica Af, Chang Ch, Pauklin S. Molecular Therapeutics Of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Targeted Pathways And The Role Of Cancer Stem Cells. *Trends Pharmacol Sci.* 2020;41(12):977–993.
29. Yun Cy, Roh E, Kim Sh, Et Al. Stem Cell Factor-Inducible Mitf-M Expression In Therapeutics For Acquired Skin Hyperpigmentation. *Theranostics* 2020;10(1):340–352.
30. Ali L, Niaimi F Al. Pathogenesis Of Melasma Explained. *Int J Dermatol.* 2025;

31. Papa V, Li Pomi F, Minciullo Pl, Borgia F, Gangemi S. Skin Disorders And Osteoporosis: Unraveling The Interplay Between Vitamin D, Microbiota, And Epigenetics Within The Skin–Bone Axis. *Int J Mol Sci*. 2025;26(1).
32. Atef A, El-Rashidy Ma, Azeem Aa, Kabel Am. The Role Of Stem Cell Factor In Hyperpigmented Skin Lesions. *Asian Pacific Journal Of Cancer Prevention* 2019;20(12):3723–3728.
33. Ding Y, Xu Z, Xiang Lf, Zhang C. Unveiling The Mystery Of Riehl's Melanosis: An Update From Pathogenesis, Diagnosis To Treatment. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2023;36(6):455–467.
34. Manganelli M, Guida S, Ferretta A, Et Al. Behind The Scene: Exploiting Mc1r In Skin Cancer Risk And Prevention. *Genes (Basel)*. 2021;12(7).
35. Erarslan Zb, Karagöz S, Kültür Ş. Comparative Morphological And Anatomical Studies On Morus Species (Moraceae) In Turkey. *Turk J Pharm Sci* 2021;18(2):157–166.
36. Nur A, Bajuri O. Ekstrak Buah Mulberry (Morus Alba L.) Sebagai Agen Pemutih Kulit. *Wellness And Healthy Magazine* [Homepage On The Internet] 2020;(1). Available From: <https://Wellness.Journalpress.Id/Wellness>
37. Krishna H, Singh D, Singh Rs, Kumar L, Sharma Bd, Saroj Pl. Morphological And Antioxidant Characteristics Of Mulberry (Morus Spp.) Genotypes. *Journal Of The Saudi Society Of Agricultural Sciences* 2020;19(2):136–145.

38. Jan B, Parveen R, Zahiruddin S, Khan Mu, Mohapatra S, Ahmad S. Nutritional Constituents Of Mulberry And Their Potential Applications In Food And Pharmaceuticals: A Review. Saudi J Biol Sci. 2021;28(7):3909–3921.
39. Kadam Ra, Dhumal Nd, Khyade Vb. The Mulberry, Morus Alba (L.): The Medicinal Herbal Source For Human Health. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2019;8(04):2941–2964.
40. Review Artikel: Aktivitas Daun Murbei (Morus Alba L.) Sebagai Antimalaria.
41. Khanpara P, Sojitra N. A Review On Medicinal Activities Of Mulberry Weed. Journal Of Medicinal Plants Studies 2022;10(5):103–111.
42. Kadam Ra, Dhumal Nd, Khyade Vb. The Mulberry, Morus Alba (L.): The Medicinal Herbal Source For Human Health. Int J Curr Microbiol Appl Sci 2019;8(04):2941–2964.
43. Chen T, Shuang Ff, Fu Qy, Et Al. Evaluation Of The Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Mulberry (Morus Alba L.) Fruits From Different Varieties In China. Molecules 2022;27(9).
44. Zhai D, Hu Y, Liu L, Et Al. Exploring The Molecular Mechanism Of Licorice Rose Beverage Anti-Melasma Based On Network Pharmacology, Molecular Docking Technology And In Vivo And In Vitro Experimental Verification. Heliyon 2023;9(12).
45. Shah S, Shah Rm, Patel S, Patel S, Doshi S, Lio P. Integrative Approaches To Hyperpigmentation Therapy. 2021;

46. Rizaldi G, Wahyunita Sw, Rahmiati N. Uji Efektivitas Sediaan Emulgel Ekstrak Etanol 70% Daun Murbei (*Morus Alba L.*) Sebagai Antiinflamasi. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi* [Homepage On The Internet] 2024;12(2):2215. Available From: [Https://E-Journal.Undikma.Ac.Id/Index.Php/Bioscientist/Article/View/13744](https://E-Journal.Undikma.Ac.Id/Index.Php/Bioscientist/Article/View/13744)
47. Anwar Ai, Asmarani Y, Madjid A, Et Al. Comparison Of 2% Deoxyarbutin And 4% Hydroquinone As A Depigmenting Agent In Healthy Individuals: A Double-Blind Randomized Controlled Clinical Trial. *J Cosmet Dermatol* 2021;20(12):3953–3959.
48. Budiman A, Praditasari A, Rahayu D, Aulifa Dl. Formulation Of Antioxidant Gel From Black Mulberry Fruit Extract (*Morus Nigra L.*). *J Pharm Bioallied Sci* 2023;11(3):216–222.
49. Gryn-Rynko A, Sperkowska B, Majewski Ms. Screening And Structure–Activity Relationship For Selective And Potent Anti-Melanogenesis Agents Derived From Species Of Mulberry (Genus *Morus*). *Molecules*. 2022;27(24).
50. Bajuri Ano. Ekstrak Buah Mulberry (*Morus Alba L.*) Sebagai Agen Pemutih Kulit. *Journal Wellness And Healthy Magazine* [Homepage On The Internet] 2020;2(1):23–28. Available From: [Https://Wellness.Journalpress.Id/Wellness](https://Wellness.Journalpress.Id/Wellness)
51. Wang H, Chen X, Li J, Chen Z, Zhou A, Ye L. Oxyresveratrol From Mulberry (*Morus Alba L.*) Ameliorates Post-Inflammatory Hyperpigmentation In Vitro By Anti-Melanogenesis, Inhibiting

- Melanosome Transfer, And Providing Photoprotection. *J Funct Foods* 2024;122.
52. Setiawan Program Studi Sarjana Farmasi P, Farmasi F, Megarezky Makassar Jl Antang Raya No U, Et Al. Formulasi Dan Uji Antioksidan Sediaan Serum Wajah Ekstrak Etanol Daun Miana (*Coleus Scuatellariodes* L. Benth.).
 53. Hanifah R, Sukmawati, Amalia N. Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Serum Wajah Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lam.) Dengan Metode Dpph. 2023;
 54. Hidayah H, Kusumawati Ah, Sahevtiyani S, Amal S. Literature Review Article: Aktivitas Antioksidan Formulasi Serum Wajah Dari Berbagai Tanaman. *Literatur Review Article ... Journal Of Pharmacopolium* 2021;4(2):75–80.
 55. Hidayat T, Tajudin T, Indratmoko³ S, Kunci K. Formulasi Dan Evaluasi Sediaan Serum Minyak Biji Kacang Inka (*Plukenetia Volubilis* L) Sebagai Antioksidan. 2022;
 56. Darajat Nz, Chaerunnisa Ay, Abdassah M. Kosmeseutikal Dengan Zat Aktif Dalam Sistem Liposom. *Journal Of The Indonesian Society Of Integrated Chemistry* 2022;14(1):10–20.
 57. Sintia U, Andayani R, Lucida H. The Nanotopetm As A Cosmeceutical Delivery System To Increase The Intensity Of Effects On The Skin. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences* 2023;6(2).

58. Hidayah H, Kusumawati Ah, Sahevtiyani S, Amal S. Literature Review Article: Aktivitas Antioksidan Formulasi Serum Wajah Dari Berbagai Tanaman. *Journal Of Pharmacopolium* 2021;4(2).
59. Aprilia C, Faisal M, Prasetya F. Formulasi Dan Optimasi Basis Serum Xanthan Gum Dengan Variasi Konsentrasi. *Proceeding Of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* 2022;15:30–34.
60. Sawiji Rt. Pengaruh Variasi Konsentrasi Gelling Agent (Xanthan Gum Dan Carbopol) Pada Sediaan Serum Dengan Bahan Aktif Retinoic Acid. *Acta Holistica Pharmacia* 2024;6(1):1–10.
61. Alissa Setiawan P, Rahmawanty D, Indah Sari Program Studi Farmasi D, Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam F, Lambung Mangkurat U, Selatan K. Formulasi Dan Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Serum Wajah Ekstrak Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) Dengan Variasi Konsentrasi Xanthan Gum. *Jurnal Pharmascience [Homepage On The Internet]* 2023;10(2):394–404. Available From: <https://ppjp.ulm.ac.id/journal/index.php/pharmascience>
62. Fauzah F, Noval N, Rohama R. Formulasi Sediaan Serum Dari Ekstrak Labu Kuning (*Cucurbita Moschata*) Dengan Variasi Konsentrasi Basis Xanthan Gum Sebagai Antioksidan. *Jurnal Surya Medika* 2024;10(1):277–287.
63. Ma Lp, Liu Mm, Liu F, Et Al. Melatonin Inhibits Senescence-Associated Melanin Pigmentation Through The P53-Tyr Pathway In Human Primary Melanocytes And The Skin Of C57bl/6 J Mice After Uvb Irradiation. *J Mol Med* 2023;101(5):581–593.

64. Yang Cy, Guo Y, Wu Wj, Man Mq, Tu Y, He L. Uvb-Induced Secretion Of Il-1 B Promotes Melanogenesis By Upregulating Tyr/Trp-1 Expression In Vitro. *Biomed Res Int* 2022;2022.
65. Maghfour J, Olayinka J, Hamzavi Ih, Mohammad Tf. A Focused Review On The Pathophysiology Of Post-Inflammatory Hyperpigmentation. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2022;35(3):320–327.
66. Markiewicz E, Karaman-Jurukovska N, Mammone T, Idowu Oc. Post-Inflammatory Hyperpigmentation In Dark Skin: Molecular Mechanism And Skincare Implications. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022;15:2555–2565.
67. Jangda A, Voloshyna D, Ramesh K, Et Al. Hyperpigmentation As A Primary Symptom Of Vitamin B12 Deficiency: A Case Report. *Cureus* 2022;
68. Ortonne Jp, Bissett Dl. Latest Insights Into Skin Hyperpigmentation. In: *Journal Of Investigative Dermatology Symposium Proceedings.* Nature Publishing Group, 2008; P. 10–14.
69. Putri H, Wardhani R. Pilihan Terapi Hiperpigmentasi Pascainflamasi Pada Kulit Berwarna (Treatment Options For Postinflammatory Hyperpigmentation In Color Skin). 2016;
70. Shah S, Shah Rm, Patel S, Patel S, Doshi S, Lio P. Integrative Approaches To Hyperpigmentation Therapy. 2022;
71. Desai Sr. Hyperpigmentation Therapy: A Review. 2014;
72. Rathee P, Kumar S, Kumar D, Kumari B, Yadav Ss. Skin Hyperpigmentation And Its Treatment With Herbs: An Alternative Method. *Futur J Pharm Sci* 2021;7(1).

73. You Yj, Wu Py, Liu Yj, Et Al. Sesamol Inhibited Ultraviolet Radiation-Induced Hyperpigmentation And Damage In C57bl/6 Mouse Skin. *Antioxidants* 2019;8(7).
74. Choi K, Kim H, Nam Sy, Heo Cy. Enhancement Of Skin Rejuvenation And Hair Growth Through Novel Near-Infrared Light Emitting Diode (Nnir) Lighting: In Vitro And In Vivo Study. *Lasers Med Sci* 2024;39(1).
75. Brahmani H, Dyah Puspitasari G. Peran Elastin Dalam Proses Photoaging Kulit. 2022;
76. Fitri Hafidhah Uluhidayah, Liandhajani Liandhajani. Formulasi Sediaan Lip Balm Dari Ekstrak Buah Murbei (*Morus Alba L.*) Sebagai Pewarna Alami. *Obat: Jurnal Riset Ilmu Farmasi Dan Kesehatan* [Homepage On The Internet] 2024;2(5):153–179. Available From: <https://journal.arikesi.or.id/index.php/obat/article/view/673>
77. Nahhas Af, Abdel-Malek Za, Kohli I, Braunberger Tl, Lim Hw, Hamzavi Ih. The Potential Role Of Antioxidants In Mitigating Skin Hyperpigmentation Resulting From Ultraviolet And Visible Light-Induced Oxidative Stress. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2019;35(6):420–428.
78. Yardman-Frank Jm, Fisher De. Skin Pigmentation And Its Control: From Ultraviolet Radiation To Stem Cells. *Exp Dermatol*. 2021;30(4):560–571.
79. Kim M, Shibata T, Kwon S, Park Tj, Kang Hy. Ultraviolet-Irradiated Endothelial Cells Secrete Stem Cell Factor And Induce Epidermal Pigmentation. *Sci Rep* 2018;8(1).

80. Choi W, Miyamura Y, Wolber R, Et Al. Regulation Of Human Skin Pigmentation In Situ By Repetitive Uv Exposure: Molecular Characterization Of Responses To Uva And/Or Uvb. *Journal Of Investigative Dermatology* 2010;130(6):1685–1696.
81. Yardman-Frank JM, Fisher DE. Skin pigmentation and its control: From ultraviolet radiation to stem cells. *Exp Dermatol.* 2021;30(8):560-571. doi:10.1111/exd.14260
82. Chakraborty A, Slominski A, Ermak G, Hwang J, Pawelek J. Ultraviolet B and Melanocyte-Stimulating Hormone (MSH) Stimulate mRNA Production for α MSH Receptors and Proopiomelanocortin-Derived Peptides in Mouse Melanoma Cells and Transformed Keratinocytes. *J Invest Dermatol.* 1995;105(5):655-659. doi:10.1111/1523-1747.ep12344667.
83. Qian W, Liu W, Zhu D, Cao Y, Tang A, Gong G, et al. Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis (Review). *Exp Ther Med.* 2020 Apr 24;20(1):173–85.
84. Singh SK, Baker R, Wibawa JID, Bell M, Tobin DJ. The effects of *Sophora angustifolia* and other natural plant extracts on melanogenesis and melanin transfer in human skin cells. *Exp Dermatol.* 2013;22(1):54-80. doi:10.1111/exd.12061
85. Konda S, Geria AN, Halder RM. New horizons in treating disorders of hyperpigmentation in skin of color. *Semin Cutan Med Surg.* 2012;31(2):133–9.

86. Kang HY, Lee JW, Papaccio F, Bellei B, Picardo M. Alterations of the pigmentation system in the aging process. Vol. 34, Pigment Cell and Melanoma Research. John Wiley and Sons Inc; 2021. p. 800–13.

