

PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus alba* L.) TERHADAP KADAR MITF DAN TOTAL MELANIN
(Studi Eksperimental pada Mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi Akibat Paparan UV-B)

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Yuvana Dewanti
MBK.24.23.010478

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG 2025

TESIS
**PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus*
alba L.) TERHADAP KADAR MITF DAN TOTAL
MELANIN**
**(Studi Eksperimental Pada Mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi Akibat
Paparan UV-B)**

disusun oleh

Yuvana Dewanti
MBK.24.23.010478

akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 12 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

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

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

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 magister di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan ataupun yang belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 12 Agustus 2025

(Yuvana Dewanti)



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : dr. Yuvana Dewanti
 Tempat, tanggal lahir : Banyumas, 11 November 1970
 Agama : Islam
 Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SD N Kutosari 01 Kebumen : Lulus tahun 1983
2. SMP N 01 Purwokerto : Lulus tahun 1986
3. SMAN 02 Purwokerto : Lulus tahun 1989
4. Fak Kedokteran UNISSULA : Lulus tahun 2000
5. Magister Biomedik FK UNISSULA : (2023 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
 Ayah : Drs Dadijono Jp
 Ibu : Sri Suharti
2. Nama Suami : dr. Suharno, Sp.PD, KGEH-FINASIM
3. Nama Anak : Muhammad Farhan Ihrami
 Muhammad Firman Ihrami
 Muhammad Furqon Ihrami

KATA PENGANTAR

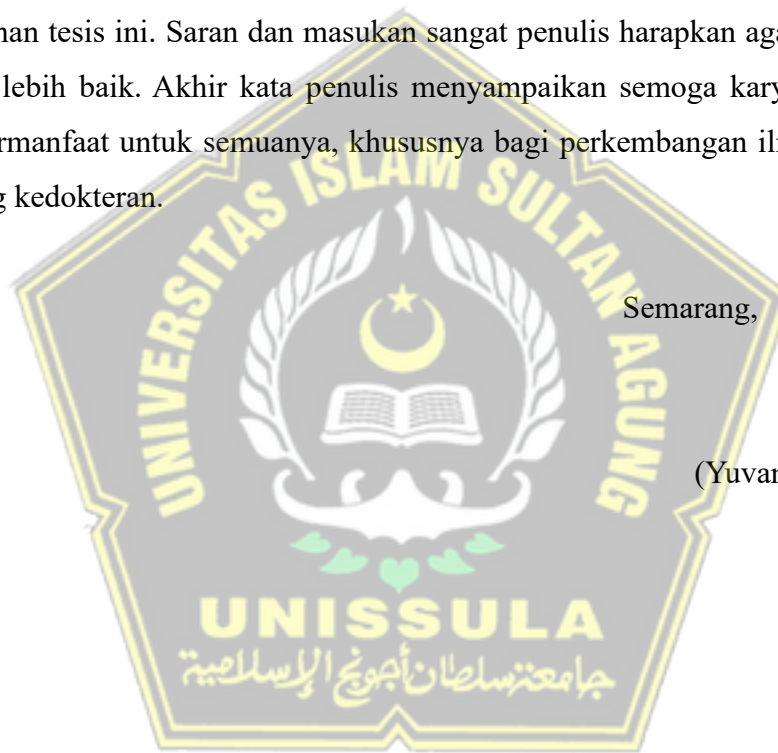
Puji syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena telah memberikan Rahmat kesehatan dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul: **PENGARUH SERUM EKSTRAK MULBERRY (*Morus alba L.*) TERHADAP KADAR MITF DAN TOTAL MELANIN (Studi Eksperimental pada Mencit C57BL/6 Hiperpigmentasi akibat paparan UV-B)** tepat pada waktunya.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada seluruh dosen yang telah membantu dan mendukung serta memotivasi penulis dalam penyelesaian penulisan tesis. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp. F selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
4. Dr. Suparmi, S. Si, M. Si (ERT) selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan banyak perhatian, kritik, saran, serta motivasi selama penyusunan tesis ini.
5. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS selaku Dosen Pembimbing II yang juga memberikan banyak perhatian, kritik, saran, serta motivasi selama penyusunan tesis ini.
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 memberikan banyak kritik, saran, serta pendapat dalam perbaikan tesis ini.
8. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji III yang juga memberikan banyak kritik, saran, serta pendapat dalam perbaikan tesis ini.

9. Orang tua, suami dan anak-anak tercinta yang telah banyak memberikan doa, semangat, dukungan materil maupun immateril sehingga tesis ini dapat diselesaikan dengan baik.
10. Seluruh staf dan pengajar Magister Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah banyak membantu selama penyusunan tesis ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kelemahan dalam penyusunan tesis ini. Saran dan masukan sangat penulis harapkan agar tesis ini dapat menjadi lebih baik. Akhir kata penulis menyampaikan semoga karya sederhana ini dapat bermanfaat untuk semuanya, khususnya bagi perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kedokteran.



Semarang, Agustus 2025

(Yuvana Dewanti)

DAFTAR ISI

SURAT PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK.....	xvi
<i>ABSTRACT</i>	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
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
1.4.2 Manfaat Praktis	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 <i>Microphthalmia-associated transcription factor</i> (MITF)	11
2.1.1 Definisi dan Peran MITF	11
2.1.2 Metode Pengukuran Kadar MITF	12
2.1.3 Dampak UV-B terhadap MITF	14

2.1.4	Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar MITF	15
2.2	Melanin.....	17
2.2.1	Definisi, Struktur, dan Fungsi	17
2.2.2	Metode Pengukuran dan Klasifikasi Melanin.....	18
2.2.3	Dampak UV-B terhadap Melanin.....	20
2.2.4	Faktor-faktor yang mempengaruhi Kadar Melanin.....	21
2.3	Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	23
2.3.1	Klasifikasi dan Karakteristik Morfologi	23
2.3.2	Kandungan Senyawa Aktif Mulberry (<i>Morus alba</i> L.).....	25
2.3.3	Efektivitas Mulberry (<i>Morus alba</i> L.).....	26
2.3.4	Perbandingan Efektivitas Mulberry (<i>Morus alba</i> L.) dengan Terapi Konvensional	29
2.4	Sediaan Serum	30
2.4.1	Definisi, dan Karakteristik	30
2.4.2	Keunggulan Serum dibandingkan Sediaan Kosmetik Lainnya.....	32
2.4.3	Komposisi Sediaan Serum Ekstrak Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	33
2.5	Hiperpigmentasi.....	34
2.5.1	Radiasi Ultraviolet B (UV-B).....	34
2.5.2	Mekanisme Hiperpigmentasi	35
2.5.3	Dampak dan Terapi Hiperpigmentasi.....	37
2.6	Pengaruh Serum Ekstrak Mulberry terhadap Kadar MITF dan Total Melanin	38
2.7	Model <i>In Vivo</i> Mencit C57BL/6	40
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS		42
3.1	Kerangka Teori	42
3.2	Kerangka Konsep	45

3.3 Hipotesis	45
BAB IV METODE PENELITIAN	46
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	46
4.2 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	47
4.2.1 Variabel Penelitian	47
4.2.2 Definisi Operasional.....	47
4.3 Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	49
4.3.1 Subjek Penelitian.....	49
4.3.2 Sampel Penelitian.....	49
4.3.3 Cara Pengambilan Sampel Penelitian	50
4.4 Alat dan Bahan Penelitian	51
4.4.1 Alat.....	51
4.4.2 Bahan.....	53
4.5 Prosedur Penelitian.....	54
4.5.1 <i>Ethical Clearance</i>	54
4.5.2 Persiapan Sampel	54
4.5.3 Pembuatan Ekstrak Mulberry (<i>Morus alba</i> L.).....	54
4.5.4 Prosedur Pembuatan Sediaan Serum Ekstrak Mulberry	54
4.5.5 Induksi Hiperpigmentasi dengan Paparan UV-B	56
4.5.6 Penetapan Konsentrasi Ekstrak	57
4.5.7 Pengambilan Sampel.....	57
4.5.8 Analisis Biomarker.....	58
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian	62
4.7 Analisis Data.....	62
4.8 Alur Penelitian.....	63

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	64
5.1 Hasil Penelitian.....	64
5.1.1 Validasi Model Hiperpigmentasi.....	65
5.1.2 Kadar MITF pada Jaringan Kulit.....	68
5.1.3 Total Melanin pada Jaringan Kulit.....	70
5.2 Pembahasan	74
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	60
6.1 Kesimpulan.....	60
6.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA.....	79
LAMPIRAN.....	88



DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adrenocorticotrophic Hormone</i>
α -MSH	: <i>Alpha-Melanocyte Stimulating Hormone</i>
ADMET	: <i>Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity</i>
cAMP	: <i>3',5'-cyclic Adenosine Monophosphate</i>
CREB	: <i>cAMP Response Element-Binding Protein</i>
DCT	: <i>Dopachrome Tautomerase</i>
DHICA	: <i>5,6-Dihydroxyindole-2-carboxylic Acid</i>
DHI	: <i>5,6-Dihydroxyindole</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
IL-1	: <i>Interleukin-1</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MC1R	: <i>Melanocortin-1-Receptor</i>
MITF	: <i>Microphthalmia-Associated Transcription Factor</i>
NLC	: <i>Nanostructured Lipid Carrier</i>
OCT	: <i>Optical Coherence Tomography</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PIH	: <i>Post-Inflammatory Hyperpigmentation</i>

PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
PKA	: <i>Protein Kinase A</i>
POMC	: <i>Proopiomelanocortin</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCF	: <i>Stem Cell Factor</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TRP-1	: <i>Tyrosinase-Related Protein 1</i>
TRP-2	: <i>Tyrosinase-Related Protein 2</i>
TYR	: <i>Tyrosinase</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
UV-B	: <i>Ultraviolet B</i>



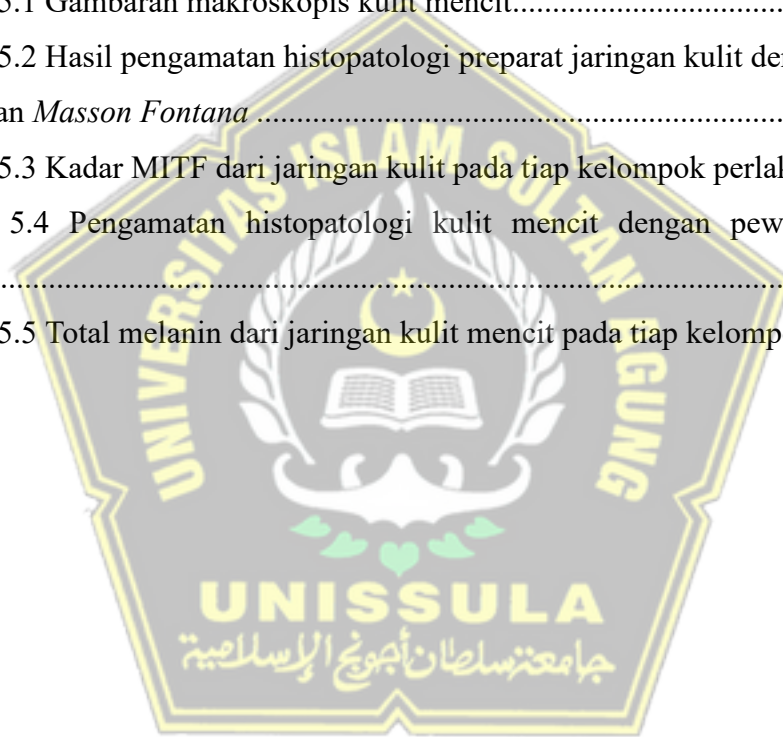
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	8
Tabel 4.1 Formula Sediaan Serum Ekstrak Mulberry	55
Tabel 5.1 Hasil Pembacaan Sel Melanosit	67
Tabel 5.2 Kadar MITF pada Jaringan Kulit	67
Tabel 5.3 Total Melanin pada Jaringan Kulit	72
Tabel 5.4 Uji <i>post hoc</i> Tukey HSD Total Melanin pada masing-masing Kelompok ..	74



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Mulberry (<i>Morus alba</i> L.)	24
Gambar 3.1 Kerangka Teori	44
Gambar 3.2 Kerangka Konsep	45
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	46
Gambar 4.2 Alur Penelitian	63
Gambar 5.1 Gambaran makroskopis kulit mencit.....	66
Gambar 5.2 Hasil pengamatan histopatologi preparat jaringan kulit dengan pewarnaan <i>Masson Fontana</i>	67
Gambar 5.3 Kadar MITF dari jaringan kulit pada tiap kelompok perlakuan.....	70
Gambar 5.4 Pengamatan histopatologi kulit mencit dengan pewarnaan <i>Masson Fontana</i>	71
Gambar 5.5 Total melanin dari jaringan kulit mencit pada tiap kelompok perlakuan	73



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hewan uji.....	88
Lampiran 2. Surat keterangan sehat hewan.....	89
Lampiran 3. <i>Ethical clearance</i>	90
Lampiran 4. CoA ekstrak mulberry dari PT INBI.....	91
Lampiran 5. CoA dari PT Derma Elok.....	93
Lampiran 6. Hasil penelitian.....	94
Lampiran 7. Pengolahan data menggunakan SPSS.....	95
Lampiran 8. Dokumentasi penelitian.....	101



ABSTRAK

Latar Belakang: Hiperpigmentasi, yang disebabkan oleh paparan radiasi ultraviolet (UV-B), merupakan kondisi kulit yang sering kali mengganggu penampilan. Salah satu faktor yang berperan dalam proses hiperpigmentasi adalah peningkatan produksi melanin yang dipengaruhi oleh protein *Microphthalmia-associated Transcription Factor* (MITF). Ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat tirosinase dan mengurangi produksi melanin. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh serum ekstrak mulberry terhadap kadar MITF dan total melanin pada mencit yang mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

Metode: Penelitian ini menggunakan desain eksperimental in vivo dengan mencit C57BL/6 yang dibagi menjadi beberapa kelompok: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif yang diberi hidrokuinon 2%, dan kelompok perlakuan yang diberi serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% dan 10%. Mencit dipaparkan sinar UV-B untuk menginduksi hiperpigmentasi. Kadar MITF diukur menggunakan metode ELISA, sedangkan total melanin diukur menggunakan pewarnaan Masson Fontana.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 10% secara signifikan dapat menurunkan kadar melanin pada mencit yang dipaparkan UV-B, meskipun penurunan kadar MITF tidak mencapai hasil yang signifikan pada semua kelompok perlakuan. Serum ekstrak mulberry berpotensi mengurangi produksi melanin, yang dapat memberikan alternatif terapi untuk hiperpigmentasi akibat UV-B.

Kesimpulan: Penelitian ini menunjukkan bahwa serum ekstrak mulberry memiliki potensi sebagai alternatif alami untuk terapi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B. Meskipun hasilnya lebih signifikan dalam menurunkan kadar melanin, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengoptimalkan efek terhadap kadar MITF dan mengidentifikasi konsentrasi yang paling efektif.

Kata Kunci: Hiperpigmentasi, UV-B, ekstrak mulberry, MITF, melanin, serum, tirosinase, hidrokuinon.

ABSTRACT

Background: Hyperpigmentation, caused by ultraviolet (UV-B) radiation exposure, is a skin condition that often affects appearance. One of the key factors involved in hyperpigmentation is the increased production of melanin, influenced by the protein Microphthalmia-associated Transcription Factor (MITF). Mulberry extract (*Morus alba* L.) contains bioactive compounds that can inhibit tyrosinase and reduce melanin production. Therefore, this study aims to evaluate the effect of mulberry extract serum on MITF levels and total melanin in mice with UV-B-induced hyperpigmentation.

Methods: This study used an in vivo experimental design with C57BL/6 mice, divided into several groups: a negative control group, a positive control group treated with 2% hydroquinone, and treatment groups receiving 5% and 10% mulberry extract serum. The mice were exposed to UV-B radiation to induce hyperpigmentation. MITF levels were measured using the ELISA method, while total melanin was measured using Masson Fontana staining.

Result: The results showed that the 10% mulberry extract serum significantly reduced melanin levels in UV-B-exposed mice, although the reduction in MITF levels was not statistically significant across all treatment groups. Mulberry extract serum has the potential to reduce melanin production, which can provide an alternative therapy for UV-B-induced hyperpigmentation.

Conclusion: This study demonstrates that mulberry extract serum has the potential as a natural alternative for treating UV-B-induced hyperpigmentation. While more significant results were seen in reducing melanin levels, further research is needed to optimize the effects on MITF levels and identify the most effective concentration.

Keywords: Hyperpigmentation, UV-B, mulberry extract, MITF, melanin, serum, tyrosinase, hydroquinone.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperpigmentasi ditandai dengan pigmentasi pada kulit yang tidak merata, munculnya bercak gelap pada area tertentu akibat penumpukan melanin. Jenis-jenis hiperpigmentasi yang umum ditemukan meliputi melasma, tahi lalat, lentigo, melanoderma, *post-inflammatory hyperpigmentation* (PIH), dan *freckles*.¹ Kondisi ini dapat dipicu oleh paparan UV-B yang mengaktifkan sejumlah gen, protein, dan enzim tertentu, seperti tirosinase, *Microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), *Tyrosinase Related Protein-1* (TRP-1), dan *Tyrosinase Related Protein-2* (TRP-2). Aktivasi MITF meningkatkan produksi melanin secara berlebihan di kulit, sehingga dapat menyebabkan kondisi hiperpigmentasi menjadi lebih buruk.² Namun, hingga saat ini penelitian mengenai hubungan antara hiperpigmentasi dengan kadar MITF dan total melanin masih terbatas dan belum banyak diteliti secara menyeluruh.

Indonesia beriklim tropis dengan paparan UV dari sinar matahari yang berlebihan menyebabkan tingginya kasus hiperpigmentasi. Penelitian melaporkan bahwa sekitar 4.2% dari 142 subjek yang terpapar tiga kali *minimal erythema dose* (MED) UV-B mengalami hiperpigmentasi.³ Pada tahun 2020, kasus hiperpigmentasi terus meningkat, dengan lebih dari 100.350 kasus baru dan 6.850 kasus kematian karena perkembangan menjadi kanker kulit. Hiperpigmentasi tidak

hanya berdampak pada penampilan kulit secara fisik, tetapi juga dapat mempengaruhi kondisi emosional, psikologis, dan mengurangi rasa percaya diri sehingga diperlukan terapi perawatan dermatologis untuk memperbaiki tampilan kulitnya.⁴ Terapi hiperpigmentasi mencakup penggunaan krim topikal seperti hidrokuinon, asam kojat, dan asam glikolat, dan sisteamin, serta suplemen oral seperti asam traneksamat, dan melatonin. Akan tetapi terapi konvensional tersebut dapat menimbulkan berbagai efek samping seperti kemerahan, pengelupasan kulit, dan memerlukan waktu yang cukup lama untuk memberikan hasil yang optimal.⁵ Oleh karenanya diperlukan alternatif berbasis bahan alami yang lebih aman dan efektif.

Buah mulberry (*Morus alba* L.) mengandung *oxyresveratrol* yang dilaporkan mampu menghambat aktivitas tirosinase, mengurangi transfer melanosom, dan melindungi kulit dari paparan sinar UV.⁶ Mulberry mengandung flavonoid dan polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi, sehingga mengurangi hiperpigmentasi dengan menekan produksi melanin dan aktivasi regenerasi kulit.^{6,7} Uji efek krim mulberry pada pasien melasma di RS. Dr. M. Djamil Padang, menunjukkan bahwa penggunaan krim mulberry dapat menurunkan intensitas hiperpigmentasi meskipun menimbulkan sensasi terbakar pada awal terapi tetapi hilang setelah satu minggu.⁸ Wang *et al.* (2024) melaporkan bahwa aktivitas depigmentasi dari ekstrak mulberry dikaitkan dengan mekanisme multi-target, yaitu melalui penghambatan tirosinase dan supresi ekspresi MITF

sebagai regulator utama melanogenesis.⁶ Penggunaan serum berbasis ekstrak mulberry dalam menangani hiperpigmentasi akibat UV-B belum banyak dikembangkan.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas pemberian serum ekstrak mulberry dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B berdasarkan parameter kadar MITF dan total melanin. Serum dipilih sebagai bentuk sediaan dari ekstrak buah mulberry karena serum memiliki viskositas rendah, memungkinkan penetrasi zat aktif yang lebih dalam ke lapisan kulit, sehingga meningkatkan efektivitas hipopigmentasi.⁹ Mencit strain C57BL/6 dipilih sebagai hewan coba karena memiliki struktur kulit yang menyerupai manusia, sehingga sensitif terhadap paparan UV-B dan efek terapi yang diberikan.¹⁰ Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan dalam pengembangan produk *cosmeceutical* berbahan alami buah mulberry untuk melindungi kulit dari stress oksidatif dan hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) berpengaruh terhadap kadar *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) dan total melanin pada mencit C57BL/6 yang mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar MITF dan total melanin pada pada mencit C57BL/6 yang mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar MITF pada mencit yang hiperpigmentasi akibat paparan UV-B yang diberi serum 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 total melanin pada mencit yang hiperpigmentasi akibat paparan UV-B yang diberi serum 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. Membandingkan kadar MITF dan total melanin pada berbagai kelompok perlakuan untuk 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 serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B berdasarkan kadar MITF dan total melanin.

1.4.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini 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 Zakeri *et al.* (2021)¹¹, yang telah meneliti formulasi krim topikal berbasis ekstrak mulberry. Krim ekstrak daun mulberry konsentrasi 3% merupakan formula yang paling efektif berdasarkan uji karakteristik fisikokimia dan mikrobiologis, sehingga berpotensi sebagai agen pencerah kulit.¹¹ Lebih lanjut, penelitian ini berbeda dengan penelitian Zakeri *et al.* (2021)¹¹, dalam hal formulasi serum dan bagian tanaman yang digunakan.

Yenny & Lestari (2022)⁸ telah meneliti perbandingan efektivitas krim mulberry dengan asam kojat 4% dalam penanganan melasma. Hasilnya menunjukkan bahwa meskipun asam kojat lebih efektif, penggunaannya dapat menyebabkan efek samping berupa sensasi terbakar dan kemerahan.⁸ Penelitian yang akan dilakukan berbeda dengan Yenny & Lestari (2022)⁸, dimana penelitian ini lebih spesifik dalam uji formulasi serum ekstrak buah mulberry pada model hewan mencit C57BL/6 untuk melihat efektivitas aplikasi topikalnya dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat UV-B dengan menggunakan biomarker spesifik.

Intan (2023)¹² telah meneliti terkait pengembangan gel berbasis *nanostructured lipid carriers* (NLC) dari ekstrak akar mulberry dan membuktikan kemampuannya sebagai agen pencerah kulit melalui penurunan kadar melanin pada model *in vivo* menggunakan zebrafish.¹² Berbeda dari penelitian Intan (2023)¹², penelitian ini secara khusus mengevaluasi potensi ekstrak buah mulberry dibandingkan dengan hidrokuinon menggunakan hewan coba mencit C57BL/6 dan biomarker yang berperan langsung dalam regulasi melanogenesis, yaitu MITF dan total melanin.

Wang *et al.* (2024)⁶ meneliti kemampuan anti-melanogenesis *oxyresveratrol* dari mulberry sebagai fotoprotektif terhadap kerusakan akibat paparan UV-B, meskipun penelitian tersebut terbatas pada uji *in vitro*. Penelitian ini berbeda dengan penelitian Wang *et al.* (2024)⁶, yang memberikan kontribusi ilmiah baru dengan menambahkan dimensi molekuler melalui analisis ekspresi

MITF dan total melanin, yang dapat memperkuat dasar pemahaman terhadap mekanisme kerja bahan aktif alami dalam konteks hiperpigmentasi.⁶

Nguyen *et al.* (2024)¹³ telah meneliti dan mengidentifikasi bahwa fraksi *ethyl acetate* dari ekstrak kulit akar mulberry memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang sangat kuat ($IC_{50} = 12.68 \pm 1.64 \mu\text{g/mL}$), hampir setara dengan asam kojat. Dua senyawa utama, yaitu alfafuran dan mulberroside C, juga menunjukkan potensi tinggi sebagai agen pencerah kulit berdasarkan studi *in silico*.¹⁴ Penelitian ini berbeda dengan Nguyen *et al.* (2024)¹³, dimana ekstrak mulberry dibuat dengan pelarut etanol dan dalam sediaan serum dengan desain penelitian *in vivo* pada model mencit C57BL/6 untuk mengevaluasi secara langsung efek terhadap hiperpigmentasi dengan melihat kadar MITF dan total melanin.

Secara keseluruhan, penelitian ini memiliki perbedaan yang menonjol dibandingkan dengan studi-studi terdahulu, khususnya dari segi pendekatannya yang berfokus pada pemanfaatan ekstrak mulberry sebagai alternatif alami terhadap penggunaan hidrokuinon. Selain itu, penelitian ini divalidasi melalui uji biologis menggunakan model *in vivo*, serta mengeksplorasi lebih dalam mekanisme molekuler yang berperan dalam proses penghambatan hiperpigmentasi dan respon inflamasi pada kulit.

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti dan Tahun	Judul Penelitian	Metode	Hasil
1	Zakeri., et al., (2021) ¹¹	<i>Formulation and Physicochemical Evaluation of a 3% Cream Using Crude 70% Ethanolic Extract of Morus alba L. Leaves for Skin Hyperpigmentation.</i>	Eksperimental <i>in vitro</i>	Formula krim ekstrak daun <i>Morus alba</i> konsentrasi 3% memiliki karakteristik fisikokimia yang stabil, kadar fenolik (seperti <i>oxyresveratrol</i> dan <i>moracin</i>) yang tinggi, sehingga dapat berpotensi sebagai agen pencerah kulit. Hasil uji antimikrobia menunjukkan krim ekstrak daun mulberry menghambat pertumbuhan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Candida albicans</i> .
2	Yenny, & Lestari., (2022) ⁸	<i>Sebuah Studi yang Membandingkan Penggunaan Asam Kojic 4% dengan Krim Mulberry untuk Pengobatan Melasma.</i>	Eksperimental uji klinik pada pasien di Poliklinik Dermatologi di Rumah Sakit Dr.M.Djamil Padang	Krim asam kojic 4% lebih efektif dalam mengurangi melasma dibandingkan krim mulberry, tetapi memiliki efek samping berupa sensasi terbakar dan kemerahan.
3	Intan., (2023) ¹²	<i>Formulation of Nanostructured</i>	Eksperimental <i>in vivo</i>	Ekstrak akar murbei dan gel yang mengandung

- Lipid Carrier Gel From Mulberry Root Extract (Morus alba L.) as Whitening Agent using Zebrafish Modelling.*
- nanostructured lipid carriers (NLC) dari ekstrak akar mulberry konsentrasi 100-500 ppm menunjukkan kemampuan sebagai agen pencerah kulit yang ditandai dengan penurunan kadar melanin pada area mata zebrafish.*
- 4 Wang., et al., (2024).⁶ *Oxyresveratrol from Mulberry (Morus alba L.) Ameliorates Post-Inflammatory Hyperpigmentation In Vitro by Anti-Melanogenesis, Inhibiting Melanosome Transfer, and Providing Photoprotection.* Eksperimental *in vitro* *Oxyresveratrol* menunjukkan efek anti-melanogenesis yang signifikan dengan menghambat transfer melanosom dan memberikan perlindungan terhadap kerusakan akibat UV-B.
- 5 Nguyen., et al., (2024)¹³ *Tyrosinase Inhibitory Impact of Morus alba L. Root Bark: In Vitro and In Silico Studies.* Eksperimental *in vitro* dan *in silico* Fraksi etil asetat (EtOAc) menunjukkan aktivitas penghambat tirosinase terkuat ($IC_{50} = 12,68 \pm 1,64 \mu\text{g/mL}$), mendekati asam kojat. Alfafuran dan mulberroside C, merupakan dua senyawa aktif dalam akar mulberry yang potensial sebagai inhibitor tirosinase berdasarkan

hasil *molecular docking* dan prediksi ADMET, sehingga cocok dikembangkan sebagai agen pencerah kulit topikal. Kadar melanin meningkat seiring naiknya konsentrasi ekstrak maupun NLC.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Microphthalmia-associated transcription factor* (MITF)

2.1.1 Definisi dan Peran MITF

Microphthalmia-associated transcription factor (MITF) merupakan faktor transkripsi dari keluarga *basic helix-loop-helix leucine zipper* (bHLH-Zip) yang berperan sebagai regulator utama dalam perkembangan, diferensiasi, dan fungsi melanosit.¹⁵ Gen MITF yang terletak pada kromosom 3p14.1 mengkode berbagai isoform protein, di mana isoform MITF secara spesifik diekspresikan pada melanosit dan memainkan peran sentral dalam regulasi melanogenesis. Secara struktural, MITF terdiri atas tiga domain fungsional utama: (1) DNA-binding domain berupa motif bHLH-Zip yang berikatan dengan elemen E-box pada promotor gen target, (2) transactivation domain yang mengatur aktivitas transkripsional, serta (3) regulatory motifs yang mengandung berbagai situs fosforilasi oleh kinase seperti MAPK dan PKA.¹⁶

Pada konteks hiperpigmentasi, MITF berfungsi sebagai inti utama yang mengintegrasikan berbagai sinyal pro-melanogenik melalui mekanisme regulasi yang kompleks. Secara khusus, MITF mengontrol transkripsi gen-gen kunci melanogenesis seperti tirosinase (TYR), *tyrosinase-related protein 1* (TYRP1), dan *dopachrome tautomerase* (TYRP2/DCT).¹⁷ Studi

terbaru menunjukkan bahwa ekspresi MITF pada lesi hiperpigmentasi seperti melasma dan lentigo solaris meningkat 2-3 kali lipat dibandingkan dengan kulit normal sekitarnya.¹⁸ Mekanisme aktivasi MITF oleh paparan UV-B terjadi melalui dua jalur utama. Pertama, jalur MC1R/cAMP/PKA dimana radiasi UV-B mengaktifkan reseptor melanokortin-1 (MC1R) sehingga meningkatkan kadar cAMP intraseluler dan menginduksi fosforilasi CREB yang selanjutnya berikatan dengan elemen cAMP response (CRE) pada promotor MITF.¹⁹ Kedua, jalur MAPK dimana UV-B mengaktifasi ERK1/2 yang memfosforilasi MITF pada Ser73, sehingga meningkatkan stabilitas protein MITF.¹⁷

2.1.2 Metode Pengukuran Kadar MITF

Microphthalmia-associated Transcription Factor (MITF) merupakan faktor transkripsi utama dalam proses melanogenesis, yang mengatur ekspresi gen penting seperti tirosinase, TRP-1, dan TRP-2. Deteksi dan kuantifikasi MITF sangat krusial dalam studi hiperpigmentasi, karena ekspresi MITF meningkat secara signifikan pada kondisi stress oksidatif dan stimulasi oleh sinar UV atau α -MSH.²⁰ Salah satu metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur kadar MITF adalah *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Metode ini memiliki keunggulan dalam hal sensitivitas, spesifisitas, dan efisiensi waktu, serta memungkinkan

kuantifikasi protein MITF secara presisi baik pada kultur sel maupun jaringan.²¹

Pada model hiperpigmentasi yang diinduksi oleh UV-B atau α -MSH, nilai ekspresi MITF yang terdeteksi melalui ELISA menunjukkan peningkatan signifikan, umumnya lebih dari 1,5 hingga 2 kali lipat dibandingkan dengan kontrol normal.²¹ Meskipun tidak ada nilai absolut universal yang dijadikan patokan, ekspresi MITF yang lebih tinggi dari kontrol ini secara konsisten dikaitkan dengan peningkatan sintesis melanin dan aktivitas tirosinase.²⁰ Dalam konteks terapi atau intervensi kosmetik, penurunan ekspresi MITF setelah pemberian agen depigmentasi (seperti glabridin atau ekstrak herbal) merupakan indikator keberhasilan modulasi jalur melanogenesis.²²

Selain ELISA, beberapa teknik alternatif seperti *Western blotting*, qPCR, dan imunofluoresensi juga digunakan dalam pengukuran ekspresi MITF. Namun demikian, ELISA tetap menjadi pilihan utama untuk studi berskala besar dan uji efikasi produk karena kemudahan pelaksanaan dan konsistensi data kuantitatifnya.²¹ Oleh karena itu, dalam pengembangan produk antipigmentasi atau *cosmeceutical* berbasis bahan alam, validasi penurunan ekspresi MITF melalui metode ELISA menjadi pendekatan ilmiah yang sangat direkomendasikan.

2.1.3 Dampak UV-B terhadap MITF

Paparan UV-B merupakan salah satu faktor eksternal utama yang memicu proses melanogenesis melalui aktivasi berbagai jalur pensinyalan di dalam sel melanosit. Salah satu komponen sentral dalam regulasi melanogenesis adalah *Microphthalmia-associated Transcription Factor* (MITF), yaitu faktor transkripsi yang mengendalikan ekspresi gen-gen utama pembentuk melanin, seperti tirosinase (TYR), *tyrosinase-related protein 1* (TRP1), dan TRP2.²³

MITF dikenal sebagai “*master regulator*” diferensiasi dan aktivitas melanosit. Paparan UV-B dapat meningkatkan ekspresi MITF melalui aktivasi jalur pensinyalan seperti p53–MC1R–CREB. Peningkatan ekspresi p53 akibat stress oksidatif dari UV-B akan merangsang produksi *proopiomelanocortin* (POMC) di keratinosit, yang kemudian meningkatkan α -MSH. Ligand ini mengikat MC1R pada membran melanosit, mengaktifkan jalur cAMP–CREB, dan akhirnya menstimulasi transkripsi MITF.²⁴

Selain itu, UV-B juga diketahui meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang berperan dalam mengaktifasi jalur oksidatif dan memperkuat ekspresi MITF serta enzim melanogenesis lainnya. Namun, peningkatan aktivitas MITF oleh UV-B ini dapat dikendalikan oleh jalur antioksidan seluler, terutama jalur Nrf2/HO-1. Aktivasi Nrf2 terbukti menurunkan ekspresi MITF dan TYR secara signifikan, serta menurunkan

kandungan melanin, yang menunjukkan peran penting sistem antioksidan dalam menghambat hiperpigmentasi akibat UV-B.²⁵

Secara keseluruhan, UV-B memiliki peran penting dalam peningkatan ekspresi MITF yang berujung pada peningkatan produksi melanin. Oleh karena itu, pengaturan ekspresi MITF merupakan strategi kunci dalam upaya menekan hiperpigmentasi yang disebabkan oleh paparan sinar UV-B.

2.1.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi kadar MITF

Ekspresi MITF merupakan pusat regulasi dalam proses melanogenesis, dan peningkatannya sangat berkorelasi dengan kejadian hiperpigmentasi pada kulit. Sejumlah faktor telah diidentifikasi sebagai pemicu peningkatan ekspresi MITF, baik secara langsung maupun tidak langsung melalui jalur sinyal molekuler tertentu. Berikut beberapa faktor-faktor yang mempengaruhi MITF, yaitu:

1. Paparan UV-B

Paparan UV-B menginduksi produksi *alpha-melanocyte-stimulating hormone* (α -MSH). α -MSH kemudian berikatan dengan reseptor MC1R pada membran sel melanosit, mengaktifasi jalur cAMP/PKA/CREB, dan akhirnya meningkatkan transkripsi MITF melalui elemen CRE pada promotornya.²⁶

2. Aktivasi Jalur MAPK

Aktivasi jalur MAPK, seperti p38MAPK dan ERK, juga berperan penting dalam memfasilitasi fosforilasi CREB dan faktor-faktor koaktivator seperti MSK1, yang pada akhirnya menstimulasi ekspresi MITF.²⁶ Dalam hal ini, intervensi terhadap jalur MAPK, misalnya melalui penggunaan inhibitor p38MAPK, terbukti efektif dalam menurunkan ekspresi MITF dan menghambat hiperpigmentasi yang diinduksi oleh UV-B maupun α -MSH.

3. Kondisi Stress Seluler

Hipoksia, pembatasan nutrisi, serta sinyal inflamasi, yang dapat menurunkan ekspresi MITF secara translasional melalui aktivasi fosforilasi eIF2 α . Mekanisme ini menekan translasi mRNA MITF tanpa harus mengurangi tingkat transkripsi secara langsung.²⁷ Fenomena ini dikenal sebagai respons sel terhadap stress lingkungan, yang menyebabkan penurunan MITF dan perubahan fenotip melanosit menjadi lebih invasif dan tahan terhadap terapi.

4. Aktivasi Jalur Wnt/ β -catenin/LEF1

β -catenin/LEF1 juga diketahui sebagai aktivator ekspresi MITF dengan berikatan langsung pada elemen LEF1 pada promotornya. Kompleks β -catenin–LEF1 bekerja sama dengan CREB–CRTC untuk mengoptimalkan transkripsi MITF, dan kestabilan β -catenin itu sendiri dipengaruhi oleh aktivitas PKA dan GSK3 β .²⁸ Adanya crosstalk antara

jalur Wnt dan jalur cAMP menjadikan MITF sebagai titik temu berbagai sinyal melanogenik yang kompleks.

Secara keseluruhan, regulasi ekspresi MITF merupakan hasil integrasi dari berbagai sinyal ekstraseluler seperti UV-B, hormon melanogenik, dan sinyal stress, yang semuanya dapat diintervensi dalam upaya mencegah atau mengatasi hiperpigmentasi kulit. Oleh karena itu, MITF tidak hanya menjadi target terapi kosmetik dan farmakologis, tetapi juga indikator penting dalam studi patofisiologi pigmentasi kulit.

2.2 Melanin

2.2.1 Definisi, Struktur, dan Fungsi

Melanin adalah pigmen biopolimer yang diproduksi oleh sel melanosit melalui proses biokimiawi yang dikenal sebagai melanogenesis. Pigmen ini berasal dari konversi asam amino tirosin menjadi dopaquinone, yang kemudian membentuk dua tipe utama melanin, yaitu eumelanin (berwarna coklat kehitaman) dan pheomelanin (berwarna kuning kemerahan).²³

Melanin tidak hanya terdapat di kulit, tetapi juga ditemukan pada rambut, mata, dan jaringan lainnya, berperan penting dalam perlindungan biologis dari efek berbahaya radiasi ultraviolet (UV) serta membantu menetralkan radikal bebas.²⁹

Struktur melanin terdiri dari polimer kompleks yang dibentuk oleh oligomer dari monomer seperti 5,6-dihydroxyindole (DHI) dan 5,6-

dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) untuk eumelanin, serta benzothiazine dan benzothiazole untuk pheomelanin.²³ Melanosom sebagai organel khusus dalam melanosit menjadi tempat sintesis, pematangan, dan penyimpanan melanin, sebelum ditransfer ke keratinosit melalui mekanisme eksositosis, fagositosis, atau pelepasan vesikel.³⁰ Perbedaan dalam ukuran, jumlah, dan distribusi melanosom berperan dalam variasi warna kulit antar individu.

Melanin berfungsi sebagai pelindung alami terhadap kerusakan akibat radiasi UV dengan cara menyerap dan memantulkan sinar UV, sekaligus mencegah kerusakan DNA pada sel epidermis.³¹ Selain fungsi fotoprotektif, melanin juga berperan dalam mempertahankan kestabilan termal kulit, menangkal stress oksidatif dengan menangkap radikal bebas, serta memiliki kemampuan mengikat ion logam untuk mengurangi potensi sitotoksitas.²⁹ Dalam konteks kosmetik dan dermatologi, total melanin di kulit menjadi indikator penting untuk menilai hiperpigmentasi dan respons terhadap terapi pencerah kulit.

2.2.2 Metode Pengukuran dan Klasifikasi Melanin

Melanin sebagai pigmen utama yang menentukan warna kulit telah menjadi fokus penelitian dalam bidang dermatologi, terutama terkait dengan kondisi hiperpigmentasi seperti melasma, bintik hitam, dan gangguan pigmentasi lainnya. Pengukuran melanin menggunakan metode *Masson*

Fontana telah menjadi salah satu pendekatan yang penting dalam evaluasi kondisi kulit, terutama untuk mendeteksi hiperpigmentasi seperti bintik-bintik dan flek. Metode ini memanfaatkan pewarnaan spesifik untuk melanin, yang memungkinkan identifikasi dan kuantifikasi melanin dalam sel-sel stratum korneum melalui analisis gambar mikroskopis.³² *Masson Fontana* dipilih karena kemampuannya untuk secara selektif mengikat melanin tanpa memerlukan pewarnaan tambahan pada sel, sehingga mengurangi waktu dan biaya proses. Selain *Masson Fontana*, metode lain seperti spektroskopi ESR, mikroskopi confocal, dan *optical coherence tomography* (OCT) juga digunakan, tetapi *Masson Fontana* tetap unggul dalam kesederhanaan dan akurasi untuk analisis melanin dalam sampel stratum korneum.³³

Nilai normal melanin dalam stratum korneum bervariasi tergantung pada lokasi kulit dan faktor individu, tetapi secara umum, distribusi melanin yang merata dengan kepadatan rendah dianggap sebagai indikator kulit sehat. Hiperpigmentasi ditandai dengan peningkatan kepadatan melanin dan distribusi yang tidak merata, yang dapat diukur secara kuantitatif menggunakan analisis gambar dari sampel yang diwarnai dengan *Masson Fontana*.³²

Keunggulan metode *Masson Fontana* terletak pada kemampuannya untuk membedakan melanin dari komponen seluler lainnya tanpa pewarnaan tambahan, sehingga cocok untuk aplikasi klinis dan kosmetik. Namun,

tantangan utama termasuk ketergantungan pada kualitas gambar dan kebutuhan untuk pemrosesan gambar yang canggih untuk menghindari kesalahan deteksi.³² Dengan perkembangan teknologi seperti deep learning dan analisis komponen utama, akurasi pengukuran melanin menggunakan *Masson Fontana* terus meningkat, menjadikannya alat yang semakin andal untuk diagnosis kulit.

2.2.3 Dampak UV-B terhadap Melanin

Melanin adalah pigmen biopolimer yang disintesis dalam melanosit dan berperan penting dalam menentukan warna kulit, rambut, dan mata. Proses pembentukan melanin, yang disebut melanogenesis, terjadi dalam organel khusus bernama melanosom. Proses ini melibatkan enzim-enzim utama seperti tirosinase (TYR), TRP-1, dan TRP-2, yang dikendalikan oleh faktor transkripsi MITF.³⁴

Salah satu faktor eksternal utama yang memicu peningkatan produksi melanin adalah paparan sinar ultraviolet B (UV-B). UV-B meningkatkan ekspresi α -MSH dan aktivitas reseptor melanokortin (MC1R), yang mengaktifkan jalur pensinyalan cAMP/PKA. Jalur ini mendorong aktivasi cAMP response element-binding protein (CREB), yang berujung pada peningkatan transkripsi MITF, serta peningkatan produksi tirosinase dan protein terkait lainnya. Hal ini menyebabkan peningkatan sintesis melanin sebagai bentuk perlindungan kulit terhadap kerusakan akibat radiasi.²³

Selain sebagai aktivator pigmentasi, UV-B juga menimbulkan stress oksidatif di dalam sel kulit. Reaksi ini menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS), yang memperkuat respon melanogenesis melalui aktivasi jalur MAPK. Beberapa protein MAPK seperti ERK, JNK, dan p38 diketahui dapat memodulasi aktivitas MITF dan tirosinase.³⁴ Namun, meskipun melanin memiliki peran protektif, produksi berlebih akibat paparan kronis UV-B dapat menyebabkan hiperpigmentasi. Kondisi ini sering terjadi pada area kulit yang terpapar matahari secara intensif, seperti wajah dan lengan, dan menjadi perhatian utama dalam kosmetik dan dermatologi.³⁵

2.2.4 Faktor-faktor yang mempengaruhi Kadar Melanin

Total melanin dalam tubuh dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal yang saling berinteraksi. Fakto-faktor yang mempengaruhi total melanin antara lain:

1. Faktor Genetik

Faktor genetik menjadi salah satu penentu utama, di mana ekspresi gen seperti *melanocortin 1 receptor* (MC1R), *tyrosinase* (TYR), dan *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) berperan penting dalam mengatur biosintesis melanin dan diferensiasi melanosit.³⁰ Variasi genetik dapat mempengaruhi jenis dan jumlah melanin yang dihasilkan, yaitu eumelanin (berwarna coklat-hitam) atau

pheomelanin (berwarna kuning-merah), yang menentukan warna kulit, rambut, dan mata.

2. Paparan Sinar Ultraviolet

Paparan sinar ultraviolet (UV), khususnya UV-B, merupakan faktor eksternal dominan yang merangsang produksi melanin melalui peningkatan aktivitas enzim tirosinase. Radiasi UV meningkatkan kadar hormon α -MSH yang mengaktivasi reseptor MC1R pada melanosit, sehingga mendorong produksi melanin sebagai mekanisme perlindungan terhadap kerusakan DNA akibat radikal bebas.³¹

3. Faktor Hormonal

Faktor hormonal juga berkontribusi terhadap kadar melanin. Hormon estrogen, progesteron, dan *melanocyte-stimulating hormone* (MSH) diketahui dapat meningkatkan aktivitas melanogenesis, terutama selama masa kehamilan, menstruasi, atau penggunaan kontrasepsi hormonal.²³

4. Faktor Inflamasi dan Stress Oksidatif

Faktor inflamasi dan stress oksidatif juga memiliki peranan signifikan. Proses peradangan menyebabkan pelepasan sitokin seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), dan *tumor necrosis factor- α* (TNF- α) yang memicu peningkatan aktivitas melanosit dan produksi melanin.³¹ Selain itu, *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan akibat stress oksidatif dapat mempengaruhi sintesis melanin secara tidak langsung melalui aktivasi jalur sinyal inflamasi.

5. Pengaruh Logam Berat

Logam berat, seperti tembaga (Cu) dan seng (Zn), juga menjadi faktor penting, mengingat kedua mineral ini adalah kofaktor enzim tirosinase yang berperan dalam proses pembentukan melanin.²⁹ Kadar mineral yang tidak seimbang dapat mengganggu jalannya melanogenesis.

6. Faktor Usia dan Lainnya

Faktor usia turut mempengaruhi kadar melanin, di mana produksi melanin cenderung menurun dengan bertambahnya usia, menyebabkan perubahan warna kulit menjadi lebih terang atau munculnya bercak hipopigmentasi. Aktivitas fisik, stress emosional, serta penggunaan obat-obatan tertentu, seperti kemoterapi, juga dapat mempengaruhi kadar melanin.²³

2.3 Mulberry (*Morus alba* L.)

2.3.1 Klasifikasi dan Karakteristik Morfologi

Mulberry (*Morus alba* L.) merupakan tanaman dari keluarga *Moraceae* yang dikenal luas karena manfaatnya dalam berbagai bidang, termasuk pengobatan herbal, industri makanan, dan kesehatan kulit.³⁶ Tanaman ini berasal dari wilayah Asia Timur, terutama Tiongkok, dan telah menyebar ke berbagai negara tropis dan subtropis.³⁷

Secara botani, *Morus alba* L. memiliki morfologi khas berupa daun berbentuk hati yang sering digunakan sebagai pakan ulat sutera, buah kecil

berwarna merah hingga ungu yang kaya akan antosianin, serta akar dan batang yang juga memiliki berbagai kandungan bioaktif (Gambar 2.1).³⁷ Mulberry dikenal sebagai tanaman yang kaya flavonoid, termasuk kuersetin dan rutin, yang memiliki efek antioksidan, antiinflamasi, dan depigmentasi yang berpotensi digunakan dalam terapi hiperpigmentasi.³⁶



Gambar 2.1 Mulberry (*Morus alba* L.)³⁸

Secara taksonomi, tanaman mulberry diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom: Plantae
- Divisi: Magnoliophyta
- Kelas: Magnoliopsida
- Ordo: Rosales
- Famili: Moraceae
- Genus: *Morus*
- Spesies: *Morus alba* L.³⁶

Kandungan fitokimia utama dalam tanaman mulberry terdiri dari flavonoid, alkaloid, dan fenolik, yang dapat berperan dalam mencegah stress

oksidatif dan hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.³⁷ Selain itu, kandungan kuersetin dalam daun mulberry diketahui dapat menghambat enzim tirosinase, yang merupakan enzim kunci dalam pembentukan melanin, sehingga potensial digunakan dalam formulasi serum untuk mencerahkan kulit.³⁶

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

Mulberry (*Morus alba* L.) mengandung berbagai senyawa bioaktif, seperti flavonoid, asam fenolik, stilbenes, dan antosianin, memiliki kemampuan menghambat enzim tirosinase, yang berperan dalam proses pembentukan melanin di kulit. Senyawa seperti mulberroside, *oxyresveratrol*, dan kuinin diketahui memiliki efek yang kuat dalam menghambat aktivitas tirosinase, sehingga membantu mengurangi produksi melanin berlebih yang menyebabkan hiperpigmentasi.¹³

Flavonoid yang terkandung dalam mulberry, terutama quercetin, kaempferol, dan myricetin, berperan penting dalam mengaktifkan jalur *Nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2), yang merupakan faktor transkripsi utama dalam respons tubuh terhadap stres oksidatif.³⁹ Aktivasi Nrf2 oleh flavonoid menginduksi ekspresi gen-gen yang mengkode enzim antioksidan seperti *Superoxide Dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT), dan *Glutathione Peroxidase* (GPX), yang membantu menetralkan ROS dan mengurangi kerusakan akibat oksidasi.⁴⁰ Kehadiran antosianin dan

resveratrol dalam ekstrak mulberry juga berperan dalam melindungi kulit dari dampak buruk UV-B dengan mengurangi peradangan serta menghambat aktivasi melanosit yang berlebihan akibat radiasi UV.⁴¹

Selain senyawa fenolik dan flavonoid, polisakarida dalam ekstrak mulberry telah terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi serta kemampuan menangkal radikal bebas, yang berperan dalam melindungi kulit dari kerusakan akibat paparan UV-B. Dengan demikian, ekstrak mulberry tidak hanya berfungsi sebagai agen pencerah alami tetapi juga memberikan perlindungan terhadap hiperpigmentasi dengan cara menghambat tirosinase, mengurangi stress oksidatif, dan mencegah peradangan kulit.⁴²

2.3.3 Efektivitas Mulberry (*Morus alba* L.)

Mulberry (*Morus alba* L.) telah lama digunakan dalam berbagai pengobatan herbal dan kosmetik karena kandungan fitokimia aktifnya yang berperan dalam depigmentasi kulit. Senyawa utama yang ditemukan dalam mulberry, seperti flavonoid, stilbenoid, dan antosianin, terbukti memiliki efek inhibitor terhadap enzim tirosinase, yang merupakan enzim kunci dalam proses melanogenesis.⁴³ Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak mulberry dapat secara signifikan mengurangi produksi melanin melalui mekanisme inhibisi tirosinase dan penghambatan jalur sinyal yang mengatur sintesis melanin.⁴¹

Selain itu, mulberry mengandung mulberrosides, suatu kelompok senyawa stilbenoid yang telah terbukti memiliki potensi tinggi dalam menghambat aktivitas tirosinase dan menurunkan kadar melanin pada model *in vitro* dan *in vivo*.⁴¹ Studi lain juga menunjukkan bahwa antioksidan kuat yang terkandung dalam mulberry, seperti *cyanidin-3-O-glucoside* dan *cyanidin-3-O-rutinoside*, mampu menangkal stress oksidatif akibat paparan UV-B yang menjadi faktor utama dalam hiperpigmentasi kulit.⁴²

Efektivitas mulberry dalam mengurangi hiperpigmentasi akibat UV-B juga dikaitkan dengan kemampuannya dalam mengurangi ekspresi enzim tirosinase dan protein terkait melanogenesis seperti TRP-1 dan MITF, yang berperan dalam regulasi produksi melanin di dalam sel melanosit.⁴⁰ Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak mulberry dalam formulasi kosmetik pencerah kulit memiliki potensi besar untuk menjadi alternatif alami yang lebih aman dibandingkan hidrokuinon, yang sering dikaitkan dengan efek samping seperti iritasi dan ochronosis.¹⁴

Dalam penelitian terbaru, formulasi berbasis serum yang mengandung ekstrak mulberry ditemukan lebih efektif dalam penetrasi kulit dibandingkan dengan bentuk sediaan lain seperti krim atau lotion.⁴⁴ Hal ini disebabkan oleh ukuran partikel dan stabilitas senyawa aktif yang lebih baik dalam serum, sehingga dapat memberikan efek depigmentasi yang lebih maksimal serta meningkatkan efektivitas dalam mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B. Namun demikian, beberapa efek samping ringan masih dapat

terjadi, terutama jika digunakan dalam konsentrasi tinggi atau pada individu yang sensitif.

Efek samping yang dilaporkan dari konsumsi oral mulberry antara lain mual, muntah, kembung, diare, sakit kepala, dan konstipasi ringan. alam penggunaan topikal, reaksi ringan seperti gatal dan kemerahan dilaporkan pada sebagian kecil subjek tanpa adanya efek sistemik yang serius.⁴⁰ Studi oleh San *et al.* (2021)⁴⁵ melaporkan bahwa aplikasi topikal minyak ekstrak mulberry 75% pada pasien melasma selama 12 minggu terbukti aman dan ditoleransi dengan baik, di mana sebanyak 16% subjek mengalami gatal ringan tanpa adanya iritasi berat atau reaksi dermatitis yang memerlukan penghentian terapi. Selain itu, individu dengan riwayat alergi terhadap tumbuhan atau serbuk sari juga memiliki risiko mengalami reaksi hipersensitivitas seperti urtikaria kontak, rinitis alergi, dan eksaserbasi gejala asma.⁴⁶

Secara keseluruhan, mulberry memiliki potensi besar sebagai bahan aktif dalam terapi hiperpigmentasi akibat UV-B dengan mekanisme kerja yang melibatkan inhibisi tirosinase, perlindungan terhadap stress oksidatif, serta penghambatan jalur sinyal melanogenesis, menjadikannya kandidat yang menarik dalam pengembangan kosmetik pencerah kulit berbasis bahan alami.

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

Hiperpigmentasi merupakan kondisi yang umum terjadi akibat peningkatan produksi melanin yang dipicu oleh berbagai faktor, termasuk paparan UV-B. Pengobatan konvensional untuk hiperpigmentasi umumnya menggunakan agen depigmentasi seperti hidrokuinon, asam kojat, arbutin, dan tretinoin, yang bekerja dengan menghambat aktivitas tirosinase atau mempercepat pergantian sel kulit.⁴⁰ Namun, beberapa dari agen ini memiliki keterbatasan, seperti risiko iritasi kulit, ochronosis (pada hidrokuinon), serta efektivitas yang bervariasi tergantung pada jenis kulit individu.⁴³

Sebagai alternatif, ekstrak mulberry semakin banyak diteliti sebagai agen pencerah kulit alami. Senyawa bioaktif utama dalam mulberry, seperti mulberroside, flavonoid, anthocyanin, dan oxyresveratrol, telah terbukti memiliki efek penghambatan tirosinase yang kuat, bahkan lebih poten dibandingkan asam kojat dalam beberapa uji in vitro.⁴¹ Mekanisme kerja mulberry dalam menghambat melanogenesis tidak hanya melalui inhibisi tirosinase, tetapi juga dengan menekan ekspresi gen MITF (*Microphthalmia-associated transcription factor*), yang berperan dalam regulasi enzim melanogenik utama.⁴³

Selain itu, mulberry memiliki keunggulan tambahan berupa sifat antioksidan tinggi, yang membantu menetralkan ROS akibat paparan UV-B,

sehingga mengurangi inflamasi yang dapat memperburuk hiperpigmentasi.⁴² Ekstrak mulberry menunjukkan profil keamanan yang lebih baik dan dapat digunakan untuk pemakaian jangka panjang tanpa risiko efek samping yang signifikan.⁴⁴

Kombinasi mulberry dengan agen konvensional seperti arbutin atau niacinamid dapat memberikan efek sinergis dalam mengurangi hiperpigmentasi, sehingga memungkinkan formulasi yang lebih efektif dengan dosis lebih rendah dari agen konvensional, sekaligus meminimalkan efek sampingnya.¹⁴ Oleh karena itu, mulberry dapat menjadi pilihan terapi alami yang menjanjikan untuk mengatasi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B, baik sebagai agen tunggal maupun dalam kombinasi dengan terapi konvensional.

2.4 Sediaan Serum

2.4.1 Definisi, dan Karakteristik

Serum merupakan sediaan kosmetik berbasis cairan dengan konsistensi ringan yang diformulasikan untuk memberikan konsentrasi bahan aktif lebih tinggi dibandingkan produk perawatan kulit lainnya. Teksturnya yang ringan memungkinkan serum meresap lebih cepat ke dalam kulit tanpa meninggalkan rasa berminyak atau lengket di permukaan. Daya penetrasi yang lebih baik, menyebabkan serum mampu menargetkan permasalahan kulit secara spesifik, seperti hiperpigmentasi, penuaan dini, dan kulit

kering.⁴⁷ Serum umumnya terdiri dari beberapa komponen utama, seperti bahan pelembap, zat aktif, pelarut, dan bahan penstabil. Pelembap yang sering digunakan dalam formulasi serum adalah gliserin dan asam hialuronat, yang berfungsi untuk mempertahankan kelembapan dengan menarik air ke dalam lapisan kulit.⁴⁸

Selain itu, bahan aktif dalam serum, seperti antioksidan, peptida, dan agen pencerah kulit, berperan dalam meningkatkan kesehatan kulit dan mengatasi berbagai permasalahan, seperti warna kulit tidak merata, garis halus, serta inflamasi.⁴⁹ Dari segi formula, serum memiliki viskositas yang lebih rendah dibandingkan krim atau lotion, sehingga lebih mudah menyerap ke dalam lapisan kulit. Beberapa teknologi modern dalam formulasi serum, seperti nanoemulsi, digunakan untuk meningkatkan stabilitas bahan aktif dan memastikan penyerapannya lebih optimal tanpa menyebabkan iritasi. Teknologi ini juga memungkinkan bahan aktif bertahan lebih lama dalam kulit, sehingga memberikan manfaat yang lebih efektif.⁵⁰

Serum sering kali digunakan untuk perawatan kulit karena efektivitasnya dalam memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan sediaan lain. Kandungan bahan aktif yang lebih pekat dan daya serap yang tinggi menyebabkan serum menjadi pilihan utama untuk mengatasi berbagai permasalahan kulit secara intensif, baik dalam perawatan sehari-hari maupun terapi dermatologi.⁴⁷

2.4.2 Keunggulan Serum dibandingkan Sediaan Kosmetik Lainnya

Serum merupakan salah satu sediaan kosmetik dengan konsentrasi bahan aktif yang lebih tinggi dibandingkan dengan sediaan lainnya, seperti krim dan lotion. Formulasi serum didesain agar mampu menembus lapisan kulit lebih dalam dan bekerja secara efektif untuk menangani berbagai masalah kulit, seperti hiperpigmentasi, penuaan dini, dan jerawat.⁴⁷ Keunggulan utama serum terletak pada viskositasnya yang lebih rendah, sehingga lebih cepat menyerap ke dalam kulit tanpa meninggalkan residu berminyak.⁵¹ Struktur formulasi yang ringan ini memungkinkan zat aktif lebih mudah berpenetrasi hingga ke lapisan epidermis terdalam, memberikan efek yang lebih optimal dalam perawatan kulit.

Serum memiliki karakteristik yang unik bandingkan dengan krim dan gel, sehingga menjadikan serum lebih unggul dalam beberapa aspek. Krim umumnya memiliki fase minyak yang lebih tinggi, sehingga cenderung memberikan efek oklusif yang melembabkan namun lebih lambat diserap oleh kulit. Sementara itu, gel lebih banyak mengandung air dan memiliki sifat ringan, tetapi efektivitas penetrasi bahan aktifnya masih lebih rendah dibandingkan serum.⁵¹ Serum diformulasikan dengan bahan aktif dalam bentuk molekul kecil yang mampu meresap lebih dalam dibandingkan sediaan lainnya, sehingga penggunaannya sering kali lebih disukai dalam perawatan kulit yang memerlukan efektivitas tinggi dalam waktu singkat.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa serum lebih efektif dalam menangani permasalahan kulit dibandingkan dengan sediaan kosmetik lainnya.⁴⁷

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

Serum merupakan sediaan kosmetik berbentuk cairan ringan dengan konsentrasi bahan aktif yang tinggi, dirancang untuk penetrasi mendalam ke dalam lapisan kulit. Komposisi utama dalam sediaan serum yaitu fase air, fase air yang dipilih harus memberikan kondisi yang stabil dan kontrol terhadap larutan dalam berbagai eksperimen, dan tidak mengandung ion yang dapat mempengaruhi hasil pengukuran.⁵² Bahan aktif dalam sediaan serum disesuaikan dengan fungsi terapeutik yang diinginkan, seperti agen depigmentasi, antioksidan, atau agen antiaging.⁶

Selain itu, serum juga mengandung bahan pendukung lain seperti humektan, emolien, zat pengawet, serta penstabil viskositas.⁴⁸ Humektan berperan penting dalam formulasi serum karena efektivitasnya dalam hidrasi kulit, dan emolien berperan dalam meningkatkan kelembutan dan elastisitas kulit. Sedangkan untuk menjaga stabilitas mikrobiologis sediaan, zat pengawet diperlukan guna mencegah kontaminasi mikroorganisme selama penyimpanan dan penggunaan. Dengan demikian, pemilihan bahan tambahan ini secara tepat akan menentukan keberhasilan formulasi kosmetik yang aman, efektif, dan stabil.^{9,53-55}

2.5 Hiperpigmentasi

2.5.1 Radiasi Ultraviolet B (UV-B)

Radiasi ultraviolet (UV) merupakan bagian dari spektrum elektromagnetik yang dipancarkan oleh matahari. Radiasi UV dibagi menjadi tiga jenis berdasarkan panjang gelombangnya, yaitu UVA (320-400 nm), UV-B (280-320 nm), dan UVC (100-280 nm). Radiasi UV-B memiliki panjang gelombang yang lebih pendek dibandingkan UVA dan dianggap lebih berbahaya karena dapat menyebabkan kerusakan langsung pada DNA sel kulit.⁵⁶ UV-B terutama diserap oleh lapisan epidermis kulit dan dapat menyebabkan efek akut seperti *sunburn* (luka bakar akibat sinar matahari) serta efek jangka panjang seperti penuaan dini (*photoaging*) dan kanker kulit.⁵⁶

Kadar radiasi UV-B yang mencapai permukaan bumi bervariasi tergantung pada beberapa faktor, seperti lokasi geografis, musim, waktu dalam sehari, dan kondisi atmosfer. Radiasi UV-B lebih intens di daerah dengan garis lintang rendah dan pada musim panas, di mana sinar matahari lebih langsung mengenai bumi. Selain itu, radiasi UV-B juga lebih tinggi pada siang hari, terutama antara pukul 10 pagi hingga 4 sore, ketika matahari berada di posisi tertinggi di langit.⁵⁶

Faktor lain yang mempengaruhi kadar radiasi UV-B adalah ketinggian tempat, di mana daerah dengan ketinggian lebih tinggi menerima radiasi UV-

B yang lebih intens karena lapisan atmosfer yang lebih tipis. Selain itu, kondisi cuaca seperti awan dan polusi udara dapat mengurangi intensitas radiasi UV-B yang mencapai permukaan bumi, meskipun tidak sepenuhnya menghalanginya.⁵⁷

2.5.2 Mekanisme Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi terjadi akibat peningkatan produksi melanin yang tidak terkontrol dalam melanosom, organel khusus di dalam melanosit, yang kemudian ditransfer ke keratinosit melalui proses fagositosis atau eksositosis.⁵⁸ Hiperpigmentasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk paparan sinar ultraviolet (UV), peradangan, perubahan hormon, dan stress oksidatif yang meningkatkan ekspresi enzim tirosinase serta protein terkait tirosinase (TRP-1 dan TRP-2) melalui jalur sinyal MITF (*Microphthalmia-associated transcription factor*).⁵⁹

1. Aktivasi Jalur Sinyal Melanogenesis

Melanogenesis dimulai dengan aktivasi reseptor *melanocortin-1* (MC1R) pada melanosit oleh α -*melanocyte stimulating hormone* (α -MSH) atau *adrenocorticotrophic hormone* (ACTH). Aktivasi ini meningkatkan produksi 3',5'-*cyclic adenosine monophosphate* (cAMP) yang memicu aktivasi protein kinase A (PKA) dan akhirnya menginduksi ekspresi MITF.⁵⁸ MITF berperan sebagai regulator utama dalam ekspresi

enzim tirosinase, TRP-1, dan TRP-2, yang mengontrol produksi dan stabilitas melanin.⁵⁹

2. Proses Biokimiawi Pembentukan Melanin

Tahapan utama dalam melanogenesis melibatkan konversi L-tirosin menjadi L-DOPA oleh tirosinase, yang kemudian dikonversi lebih lanjut menjadi dopaquinone. Senyawa ini menjadi prekursor utama dalam pembentukan dua jenis melanin:

- Eumelanin (coklat-hitam) yang memiliki sifat fotoprotektif lebih tinggi.
- Pheomelanin (kuning-merah) yang lebih rentan terhadap stress oksidatif dan kurang melindungi kulit dari radiasi UV.⁶⁰

3. Transfer Melanosom dan Penyebaran Pigmen

Setelah melanin terbentuk, pigmen ini dikemas dalam melanosom yang ditransfer ke keratinosit melalui mekanisme eksositosis dan fagositosis. Proses ini menentukan distribusi melanin di epidermis dan berkontribusi terhadap manifestasi hiperpigmentasi pada kulit.²³

4. Regulasi dan Inhibisi Melanogenesis

Beberapa jalur dapat menghambat pembentukan melanin, seperti jalur MAPK/ERK yang menekan ekspresi MITF dan menurunkan produksi tirosinase. Selain itu, enzim antioksidan seperti *Superoxide Dismutase*

(SOD) berperan penting dalam menetralkan ROS dan mencegah hiperpigmentasi yang disebabkan oleh stress oksidatif.²³

2.5.3 Dampak dan Terapi Hiperpigmentasi

Dampak hiperpigmentasi tidak hanya terbatas pada aspek fisik tetapi juga psikologis. Gangguan psikologis dapat menurunkan rasa percaya diri serta meningkatkan tingkat stress individu, terutama jika terjadi di area wajah yang terlihat. Hal ini dapat berdampak pada kehidupan sosial serta kesejahteraan emosional seseorang.⁶¹ Oleh karena itu, pengobatan hiperpigmentasi menjadi perhatian utama dalam bidang dermatologi dan kosmetik.

Salah satu pendekatan utama dalam terapi hiperpigmentasi adalah terapi topikal yang bertujuan menghambat tirosinase atau mengurangi transfer melanosom. Agen yang umum digunakan mencakup hidrokuinon, asam kojat, asam azelat, dan niacinamide.⁶² Hidrokuinon bekerja dengan menghambat enzim tirosinase dan menekan produksi melanin, meskipun penggunaannya perlu diawasi ketat karena potensi efek samping seperti iritasi dan *exogenous ochronosis*.⁶³ Asam traneksamat (*tranexamic acid* atau TXA) juga semakin populer sebagai terapi melasma karena memiliki kemampuan menghambat plasminogen dan mengurangi stimulasi melanogenesis yang dipicu oleh faktor inflamasi.⁶⁴

Selain terapi topikal, pengobatan sistemik seperti TXA oral, melatonin, dan suplemen antioksidan telah menunjukkan efektivitas dalam mengatasi hiperpigmentasi.⁶⁵ TXA oral terbukti mampu menekan aktivitas plasmin dan mengurangi efek inflamasi yang memicu produksi melanin berlebih.⁶⁴ Sementara itu, terapi prosedural seperti chemical peels dan laser sering digunakan untuk mempercepat pergantian sel epidermis serta mengurangi pigmentasi yang sudah terbentuk. Namun, prosedur laser perlu diterapkan dengan hati-hati, terutama pada individu dengan kulit berpigmen lebih gelap, karena dapat memperburuk PIH.⁶³

Bahan alami juga banyak dimanfaatkan sebagai alternatif terapi hiperpigmentasi karena memiliki efek samping yang lebih rendah dibandingkan agen kimiawi. Beberapa tanaman yang digunakan meliputi *Glycyrrhiza glabra*, *Curcuma longa*, *Aloe vera*, dan *Morus alba*, yang mengandung senyawa aktif dengan kemampuan menghambat tirosinase dan mengurangi produksi melanin.⁶²

2.6 Pengaruh Serum Ekstrak Mulberry terhadap Kadar MITF dan Total Melanin

Morus alba L., yang juga dikenal sebagai mulberry, merupakan tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa aktif flavonoid, mulberroside A, dan *oxyresveratrol* di dalamnya yang memiliki kemampuan untuk melindungi sel-sel dari kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas dan stress oksidatif.⁷ Dalam konteks hiperpigmentasi, senyawa aktif flavonoid, mulberroside A, dan

oxyresveratrol dapat memberikan manfaat penting. Proses hiperpigmentasi seringkali melibatkan stress oksidatif dan peradangan pada kulit, yang dapat memicu produksi melanin yang berlebihan. Dalam hal ini, senyawa aktif flavonoid, mulberroside A, dan *oxyresveratrol* dalam ekstrak mulberry dapat menekan NF- κ B dan aktivasi jalur MITF sehingga dapat menurunkan ekspresi gen TYR, TRP-1, dan TRP-2. Efek tersebut berdampak langsung pada penurunan produksi melanin.⁴⁰⁶

Beberapa penelitian ilmiah telah menunjukkan potensi senyawa aktif dari ekstrak mulberry dalam menghambat aktivitas enzim tyrosinase, yang bertanggung jawab atas produksi melanin.⁶ Penghambatan aktivitas tyrosinase oleh senyawa aktif ekstrak mulberry dapat membantu mengontrol produksi melanin dan mencegah terjadinya hiperpigmentasi. Selain itu, flavonoid juga dapat memberikan perlindungan terhadap kerusakan DNA oleh sinar UV.⁴⁰ Paparan sinar matahari yang berlebihan dapat merusak DNA kulit, yang dapat menyebabkan munculnya hiperpigmentasi. Flavonoid, dan *oxyresveratrol* dapat memberikan perlindungan tambahan melalui penangkapan radikal bebas dan perlindungan DNA, sehingga mengurangi risiko hiperpigmentasi yang disebabkan oleh sinar UV.⁴³

Meskipun terdapat beberapa bukti tentang potensi senyawa aktif flavonoid, mulberroside A, dan *oxyresveratrol* dalam mulberry untuk mengurangi hiperpigmentasi, masih diperlukan lebih banyak penelitian ilmiah yang mendalam. Hal ini termasuk penelitian terhadap mekanisme aksi yang lebih rinci, efektivitas,

dan keamanan penggunaannya dalam produk perawatan kulit yang ditujukan untuk mengurangi hiperpigmentasi.

2.7 Model *In Vivo* Mencit C57BL/6

Mencit strain C57BL/6 termasuk dalam spesies *Mus musculus* yang banyak digunakan sebagai hewan model dalam penelitian biomedis karena memiliki latar belakang genetik yang terdefinisi dengan baik dan respons imun yang stabil. Mencit strain ini juga dikenal memiliki profil imun yang kuat dengan respons inflamasi dan produksi sitokin yang cukup tinggi, menjadikannya model yang ideal untuk penelitian imunologi, kanker, dan penyakit metabolik. Dalam bidang dermatologi, mencit C57BL/6 sering digunakan untuk model hiperpigmentasi, karena memiliki respons pigmentasi yang jelas terhadap paparan UV-B. Pada penelitian melaninogenesis, mencit ini menunjukkan peningkatan produksi melanin setelah paparan UV-B, yang berkaitan dengan peningkatan hormon α -MSH dari prekursor *proopiomelanokortin* (POMC).¹⁶

Selain itu, mencit C57BL/6 memiliki sensitivitas terhadap stress oksidatif yang dapat digunakan untuk mengevaluasi efek antioksidan dari senyawa uji.¹⁸ Mencit C57BL/6 juga menunjukkan sensitivitas yang baik dalam model inflamasi kulit dan imunosupresi, memungkinkan peneliti mempelajari hubungan antara inflamasi, stress oksidatif, dan hiperpigmentasi.¹⁸ Dengan kemampuan untuk menunjukkan respons fisiologis yang mirip dengan kulit manusia, mencit strain ini

telah menjadi pilihan utama dalam berbagai penelitian dermatologi, termasuk pengujian kosmetik, agen pencerah kulit, dan senyawa antioksidan.



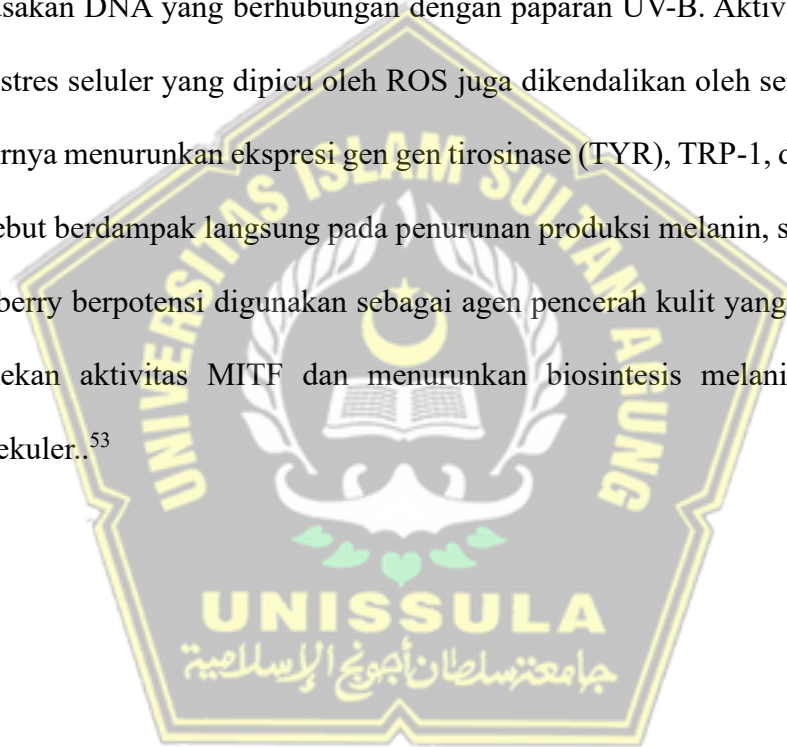
BAB III

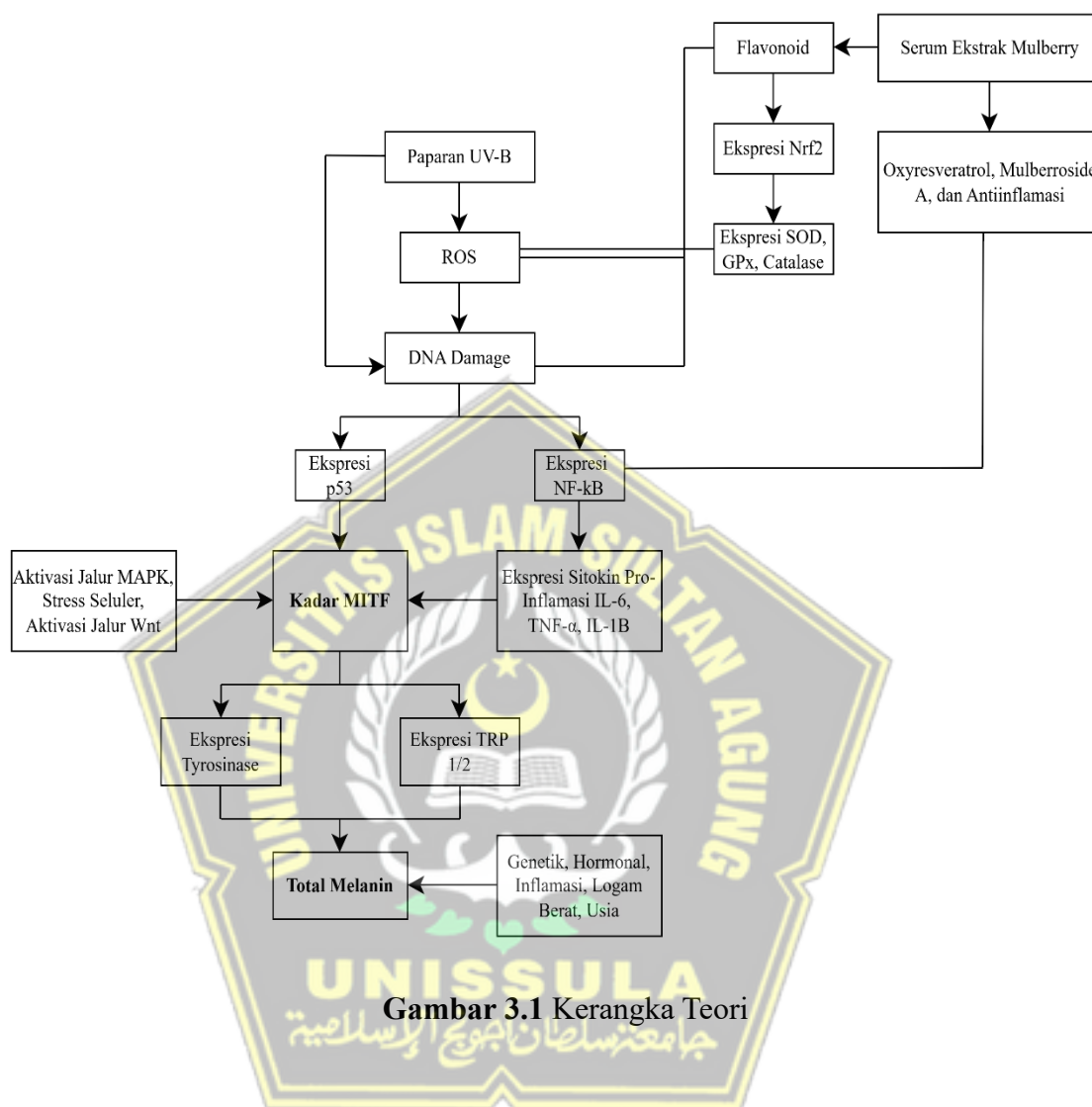
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

Hiperpigmentasi merupakan suatu kondisi yang ditandai dengan peningkatan produksi melanin di kulit, sehingga menimbulkan area yang lebih gelap dibandingkan kulit sekitarnya.⁶⁶ Proses ini diawali oleh paparan sinar ultraviolet B (UV-B) yang meningkatkan kadar *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel melanosit. Peningkatan ROS menyebabkan kerusakan DNA pada melanosit, yang dapat mengaktifkan p53 dan NF- κ B. Jalur pensinyalan seperti p38 MAPK memiliki peran penting dalam respons terhadap ROS *pathway* yang diinduksi UV-B, yang mengarah ke proses melanogenesis melalui jalur P53. Protein P53 menginduksi respon sinyal faktor transkripsi MITF yang berujung pada ekspresi tirosinase dan TRP-1. Translokasi NF- κ B akibat stress oksidatif dapat menginduksi transkripsi faktor-faktor inflamasi IL-1, IL-6, dan TNF- α yang dapat menginduksi produksi melanin, sehingga terjadi hiperpigmentasi. Jalur MITF inilah yang mengatur peningkatan ekspresi enzim tirosinase (TYR), DOPA oksidase, serta protein terkait TRP-1 dan TRP-2, yang berperan dalam produksi melanin berlebih di kulit.⁶⁷ Selain sebagai akibat paparan UV-B, hiperpigmentasi juga dapat dipicu oleh berbagai faktor lain, antara lain inflamasi atau cedera kulit, proses penuaan, ketidakseimbangan hormonal, predisposisi genetik, faktor rasial, serta defisiensi nutrisi seperti kekurangan vitamin B12, asam folat, dan zat besi.

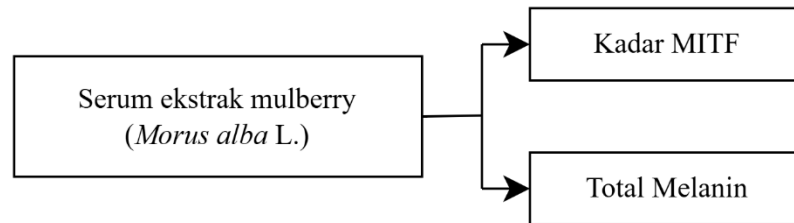
Dalam mengatasi hiperpigmentasi, bahan alami seperti ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) menunjukkan potensi yang signifikan. Senyawa aktif flavonoid, mulberroside A, dan *oxyresveratrol* di dalamnya mampu menekan NF- κ B dan aktivasi jalur MITF pengaruh langsung pada ekspresi p53 dan Nrf2. Penurunan ekspresi p53 dan NF- κ B mengarah pada pengurangan stres oksidatif dan kerusakan DNA yang berhubungan dengan paparan UV-B. Aktivasi jalur MAPK dan stres seluler yang dipicu oleh ROS juga dikendalikan oleh senyawa ini, yang akhirnya menurunkan ekspresi gen gen tirosinase (TYR), TRP-1, dan TRP-2. Efek tersebut berdampak langsung pada penurunan produksi melanin, sehingga ekstrak mulberry berpotensi digunakan sebagai agen pencerah kulit yang bekerja dengan menekan aktivitas MITF dan menurunkan biosintesis melanin pada tingkat molekuler..⁵³





Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar MITF dan total melanin pada mencit C57BL/6 hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

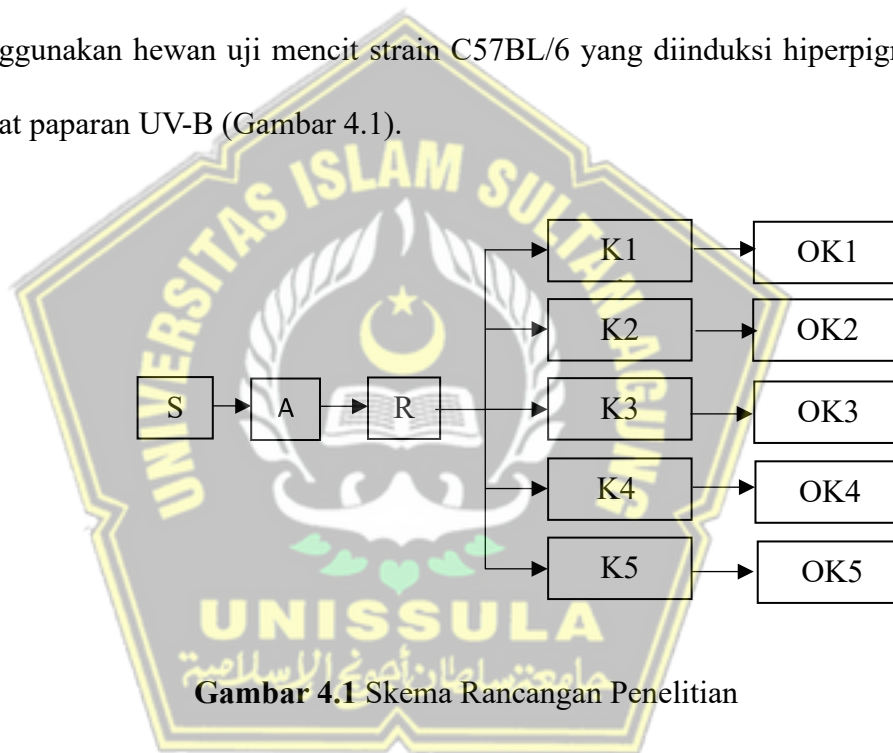


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental *in vivo* dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design* menggunakan hewan uji mencit strain C57BL/6 yang diinduksi hiperpigmentasi akibat paparan UV-B (Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Skema 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).
- K4 : Mencit diinduksi paparan UV-B, kemudian diberikan serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% secara topikal.
- K5 : Mencit diinduksi paparan UV-B, kemudian diberikan serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 10% secara topikal.
- O : Observasi pengukuran parameter penelitian kadar MITF dan total melanin 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 (*Morus alba* L.) 5% dan 10%.

4.2.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar MITF dan total melanin.

4.2.2 Definisi Operasional

4.2.2.1 Kadar *Micropthalmia-associated transcription factor* (MITF)

Kadar *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) dianalisis dari jaringan kulit mencit menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Pengukuran dilakukan pada hari ke 27 setelah pemberian perlakuan.

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

4.2.2.2 Total Melanin

Total melanin merupakan biomarker inflamasi yang dianalisis dari jaringan kulit mencit yang mengalami hiperpigmentasi. Pengukuran dilakukan pada hari ke 27 setelah pemberian perlakuan. Total melanin dihitung berdasarkan rerata jumlah granula melanin yang teramati pada 3 lapang pandang dengan perbesaran 400 x.

Unit: %

Skala: Rasio

4.2.2.3 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% sebagai konsentrasi efektif berdasarkan penelitian sebelumnya dan konsentrasi 10% digunakan untuk melihat perbedaan efektivitas. Serum ini 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 yang diperoleh dari laboratorium hewan percobaan di Laboratorium Kemuning, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah, Indonesia (Lampiran 1).

4.3.2 Sampel Penelitian

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

4.3.2.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mencit berusia 7-8 minggu.
2. Mencit dengan berat badan 20-25 g.
3. Mencit dengan keadaan sehat dan aktif (Lampiran 2).

4.3.2.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mencit yang secara mikroskopik tidak mengalami hiperpigmentasi.

2. Mencit yang menunjukkan tanda-tanda gejala penyakit atau stress selama masa adaptasi.
3. Mencit yang memiliki luka, iritasi, atau kelainan kulit pada area yang diberikan perlakuan.

4.3.2.3 Kriteria *Drop Out*

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

1. Mencit mengalami kematian selama periode penelitian.
2. Mencit menunjukkan kondisi kesehatan yang memburuk secara signifikan selama penelitian, seperti tanda-tanda infeksi, stress berat, atau gangguan fisik lainnya.
3. Mencit mengalami cedera atau kerusakan kulit yang tidak berhubungan dengan perlakuan yang diberikan, sehingga mempengaruhi validitas hasil penelitian.

4.3.3 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Metode pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan dengan *randomized sampling*. Mencit C57BL/6 dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok mencit sehat, kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok pemberian serum ekstrak mulberry 5%, dan kelompok pemberian serum ekstrak mulberry 10%. Jumlah keseluruhan sampel mencit yang digunakan dalam penelitian 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.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

Berikut beberapa alat yang dapat digunakan dalam penelitian sebagai berikut:

1. Alat tulis laboratorium (label, marker)
2. *Animal handling gloves*

3. Ayakan ukuran 20 mesh
4. Beaker glass
5. Blender
6. Botol berwarna gelap
7. *Centrifuge*
8. Corong
9. ELISA reader
10. Gelas ukur
11. Homogenizer elektrik
12. *Hot plate*
13. Kertas saring
14. Lampu UV-B (302 nm)
15. *Magnetic stirrer*
16. Mesin pencukur bulu
17. *Mikrocentrifuge*
18. *Moisture balance*
19. Mortar dan pestle
20. pH meter
21. Pisau
22. Pisau bedah
23. *Rotary evaporator*
24. Spatula



25. Timbangan analitik
26. Timer
27. *Vortex mixer*
28. Dermoskop riester ri-scope® ri-derma

4.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang diperlukan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Alkohol 70%
2. Mencit C57BL/6 jantan
3. Serum ekstrak mulberry konsentrasi 5% dan 10%
4. Kit ELISA
5. *Phospate-Buffered Saline* (PBS)
6. Aquadest
7. Gliserin
8. Propilen glikol
9. Carbopol
10. TEA
11. Protease inhibitor
12. Nitrogen cair

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, Jakarta untuk memastikan konsistensi kualitas dan kandungan bahan aktif, meningkatkan efisiensi waktu, serta menjamin standar keamanan dan kemurnian yang telah diverifikasi oleh produsen (Lampiran 4).⁶⁸

4.5.4 Prosedur Pembuatan Sediaan 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, Jakarta (Tabel 4.1).

Kemudian, Carbopol 940 didispersikan dalam air murni (sekitar 50% dari total air) dan diaduk menggunakan pengaduk mekanik hingga homogen tanpa gumpalan. Selanjutnya, pembuatan fase air dengan mencampurkan propilen glikol dan gliserin dalam *beaker glass*, aduk hingga merata. Fase air yang sudah terbentuk tersebut ditambahkan ke dalam larutan Carbopol sambil terus diaduk hingga merata dan dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga mencapai suhu 50°C sambil diaduk dengan *magnetic stirrer* agar homogen. Setelah itu, ekstrak buah mulberry dimasukkan secara perlahan sambil diaduk hingga tercampur sempurna, lalu sisa air ditambahkan hingga mencapai total berat 100 g. Penyesuaian pH dilakukan dengan menambahkan TEA secara tetes demi tetes hingga mencapai pH 5,5–6,5 dan membentuk gel dengan viskositas yang diinginkan. Kemudian, campuran diaduk perlahan hingga benar-benar homogen dan bebas gumpalan. Setelah proses pencampuran selesai, serum dipindahkan ke dalam wadah steril dan disimpan dalam kondisi ruangan dengan suhu stabil serta terhindar dari paparan langsung sinar matahari. Konsentrasi akhir ekstrak buah mulberry dalam sediaan serum dibuat 5%, dan 10% sesuai dengan formulasi yang telah ditetapkan (Lampiran 5).

Tabel 4.1 Formula Sediaan 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 Induksi Hiperpigmentasi dengan Paparan UV-B

Induksi hiperpigmentasi dilakukan melalui paparan UV-B 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 UV-B dapat langsung mengenai kulit. Mencit kemudian ditempatkan pada wadah khusus yang memungkinkan paparan merata, lalu diberikan paparan UV-B. Paparan UV-B sebesar 180 mJ/cm² dengan menggunakan panjang gelombang 302 nm dalam durasi 10 menit per hari, dilakukan 3 kali dalam seminggu selama 14 hari (2 minggu) diketahui efektif memicu hiperpigmentasi.

Validasi hiperpigmentasi dilakukan melalui pemeriksaan visual 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 coklat tua atau hitam yang mengindikasikan terjadinya peningkatan pigmentasi.

4.5.6 Penetapan Konsentrasi Ekstrak

Penentuan konsentrasi topikal ekstrak buah mulberry (*Morus alba* L.) dilakukan berdasarkan penelitian terdahulu yang melaporkan bahwa konsentrasi 5% ekstrak mulberry efektif dan stabil dalam menurunkan pigmentasi yang disebabkan oleh paparan sinar UV maupun hiperpigmentasi. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan konsentrasi 5%, dan konsentrasi 10% digunakan untuk melihat perbedaan efektivitas ekstrak mulberry pada hiperpigmentasi kulit mencit.

4.5.7 Pengambilan Sampel

Jaringan kulit pada area paparan UV-B diambil pada hari ke 27 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 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

Analisis biomarker dalam penelitian ini berfokus pada pengukuran kadar pengukuran kadar MITF dan total melanin pada sampel kulit mencit C57BL/6 menggunakan metode ELISA dan pewarnaan *Masson Fontana*. Prosedur preparasi jaringan sebelum analisis sebagai berikut:

- a) Homogenisasi jaringan dengan menyiapkan *Radioimmunoprecipitation Assay* (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 mikro sentrifugasi yang berisi 500–1000 μL buffer lisis dingin.
- 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 disentrifugasi pada 5000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.

- g) Supernatan diambil secara hati-hati agar tidak bercampur dengan debris atau pelet.
- h) Supernatan dipindahkan ke tabung mikro sentrifugasi baru.
- i) Simpan supernatan di freezer (-80°C) sampai dianalisis menggg.

a. Prosedur Pemeriksaan Kadar MITF

Sampel jaringan kulit yang sudah diperoleh kemudian dianalisis kadar MITF menggunakan metode ELISA, mengikuti prosedur yang dilampirkan dalam produk, menggunakan microplate reader dengan panjang gelombang 450 nm. Tahapan pemeriksaanya sebagai berikut:

1. Pembuatan standard

- Sepuluh sumuran disiapkan pada mikroplate.
- Pada sumuran 1 dan 2, 100 μL cairan standar dan 50 μL diluent standar dimasukkan, kemudian dicampur.
- Pada sumuran 3 dan 4, 100 μL cairan dari sumuran 1 dan 2 dan 50 μL diluent standar dimasukkan, kemudian dicampur.
- Pada sumuran 5 dan 6, 100 μL cairan dari sumuran 3 dan 4 dan 50 μL diluent standar dimasukkan, kemudian dicampur.
- Pada sumuran 7 dan 8, 100 μL cairan dari sumuran 5 dan 6 dan 50 μL diluent standar dimasukkan, kemudian dicampur.

- ##### **2. Antibodi ditambahkan dan inkubasi dilakukan selama tiga puluh menit pada suhu 37°C . Larutan pencuci dicampurkan dengan**

aquadest sebanyak tiga puluh kali, dan sumuran dicuci sebanyak lima kali dengan larutan pencuci yang telah disiapkan pada tahap 3.

3. Buffer penghalang ditambahkan agar antigen menempel pada plat selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C.
4. Sampel dimasukkan sebanyak 100 µL ke tiap sumuran, dan inkubasi dilakukan selama 120 menit pada suhu ruangan.
5. 100 µL *biotinylated* antibodi ditambahkan pada tiap sumuran.
6. Inkubasi plate dilakukan selama 60 menit pada suhu 37°C atau selama semalam pada suhu 4°C. Sumuran dibuang dan pencucian dilakukan sebanyak 5 kali. 100 µL ABC solution ditambahkan pada setiap sumuran, lalu inkubasi dilakukan selama 30 menit pada suhu 37°C.
7. 100 µL HRP-conjugate dan 100 µL TMB ditambahkan pada tiap sumuran, dan inkubasi dilakukan selama 30 menit pada suhu 37°C.
8. 100 µL stop solution ditambahkan pada tiap sumuran, hingga terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
9. Nilai optical density (OD) dibaca pada panjang gelombang 450 nm menggunakan alat ELISA reader, dan hasil kadar MITF diperoleh.

b. Prosedur Pemeriksaan Total melanin

Sampel jaringan kulit yang sudah diperoleh kemudian dianalisis total melanin menggunakan metode pewarnaan *Masson Fontana*. Tahapan pemeriksaanya sebagai berikut:

1. Irisan jaringan parafin dipanaskan dan dilakukan deparafinasi dengan merendam dalam *xylene*, kemudian dilanjutkan rehidrasi bertahap menggunakan alkohol 100%, 95%, 70%, dan aquades.
2. Preparat direndam dalam larutan ammoniacal silver pada suhu sekitar 56°C selama 30–60 menit. Pada tahap ini, melanin dalam jaringan akan mereduksi ion perak (Ag^+) menjadi logam perak (Ag^0) yang berwarna hitam.
3. Preparat dibilas secara hati-hati menggunakan aquades untuk menghilangkan larutan perak yang tersisa.
4. Preparat direndam dalam larutan sodium thiosulfate 5% selama 5–10 menit untuk menghentikan reaksi pewarnaan dan menghilangkan ion perak bebas yang tidak terikat.
5. Dilakukan pewarnaan latar belakang (*counterstain*) menggunakan *Nuclear Fast Red* atau eosin, untuk memberi warna kontras pada inti dan sitoplasma sel.
6. Preparat kemudian didehidrasi kembali dengan alkohol bertingkat (70%, 95%, 100%), dibersihkan dengan *xylene*, lalu ditutup dengan cover glass menggunakan mounting medium.
7. Preparat diamati menggunakan mikroskop cahaya; melanin akan tampak berwarna hitam atau coklat gelap di dalam sitoplasma sel melanosit atau jaringan target.

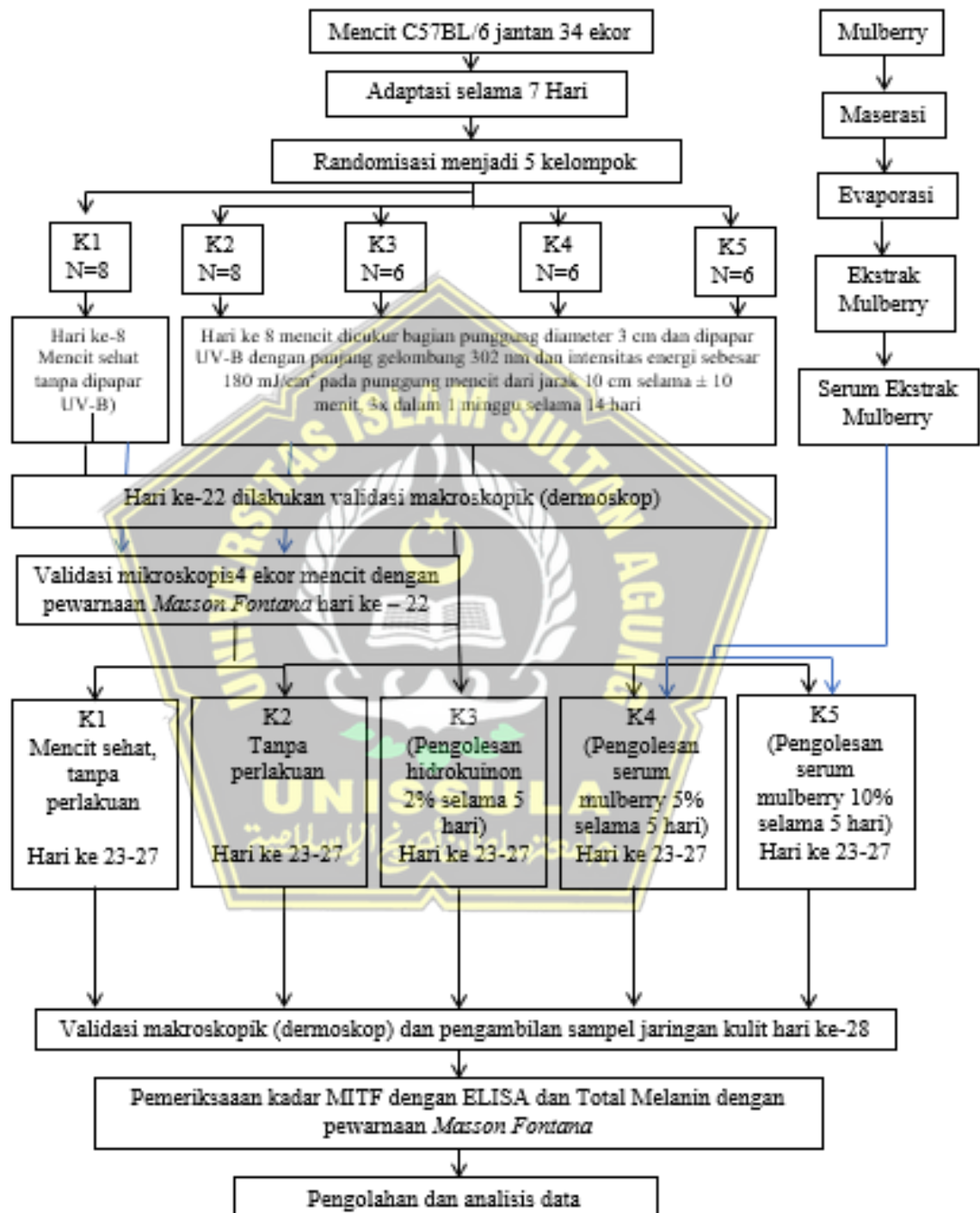
4.6 Tempat dan Waktu Penelitian

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 dilakukan di fasilitas hewan *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL) Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, dan analisis MITF menggunakan ELISA akan dilakukan di IBL serta analisis total melanin menggunakan pewarnaan *Masson Fontana* dilakukan di laboratorium CITO. Kegiatan penelitian direncanakan berlangsung pada bulan Juni-Juli 2025 (Lampiran 4).

4.7 Analisis Data

Data kadar MITF dan total melanin dari total 34 ekor mencit (6 ekor per kelompok, kecuali K1 dan K2 8 ekor) 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 MITF dan total melanin menunjukkan distribusi data normal dan varian data homogen ($p > 0,05$), sehingga dilakukan uji parametrik menggunakan *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan, kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk menentukan kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Keputusan untuk menerima atau menolak hipotesis penelitian didasarkan pada nilai signifikansi 5% ($p < 0,05$). Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi SPSS versi 26.0.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

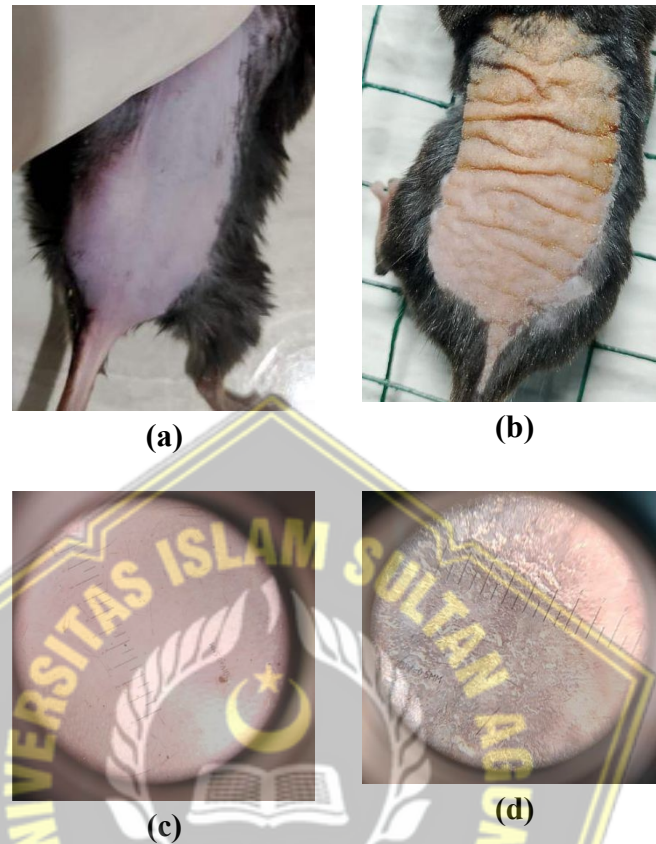
5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) terhadap kadar *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) dan total melanin 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 alat dermoskop (riester ri-scope® ri-derma) pada hari ke-22. Pada hari ke-7 1 ekor mencit pada K2 dan 1 ekor mencit pada K4 mati, sehingga kadar MITF dan total melanin dianalisa dari 5 ekor mencit per-kelompok.

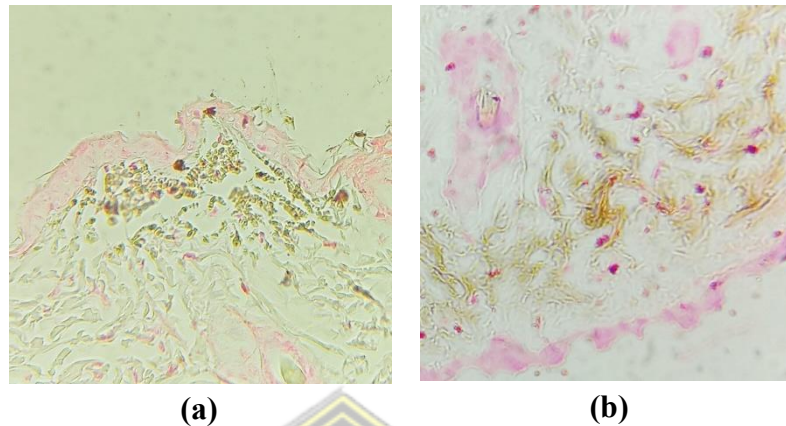
5.1.1 Gambaran Makroskopis dan Mikroskopis Jaringan Kulit Mencit menggunakan Dermoskop untuk Validasi Model Hiperpigmentasi

Paparan UV-B pada panjang gelombang 302 nm dengan kekuatan 180 mJ/cm² 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 ditandai dengan peningkatan warna coklat kekuningan, munculnya lipatan-lipatan kulit, dan penebalan permukaan (Gambar 5.1B). Hasil pengamatan yang dengan alat dermoskop (Gambar 5.1C dan 5.1D) menunjukkan perbedaan yang signifikan dari gambaran makroskopis permukaan kulit mencit sebelum dipapar UVB dan setelah dipapar UVB selama 14 hari. Hasil ini memastikan bahwa mencit paparan UVB selama 14 hari menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit mencit C57BL/6.



Gambar 5.1 Gambaran makroskopis kulit mencit: (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 sebelum dipapar UV-B, (d) Setelah dipapar UV-B selama 14 hari.

Gambar 5.2 Menunjukkan hasil pemeriksaan histopatologi jaringan kulit mencit dengan pewarnaan *Masson Fontana* sebelum dipapar UV-B dan sesudah dipapar UV-B selama 14 hari (Gambar (5.2B)). Sebelum paparan UV-B tampak bahwa jumlah granulasi melanin di lapisan basal epidermis tampak sedikit dan tersebar tipis. Paparan UV-B selama 14 hari menyebabkan peningkatan jumlah granula melanin yang padat dan pekat hingga ke lapisan suprabasal (Gambar 5.2B).



Gambar 5.2 Hasil pengamatan histopatologi preparat jaringan kulit dengan pewarnaan *Masson Fontana* untuk mencit sebelum dipapar UV-B (a); dan sesudah dipapar UV-B selama 14 hari (b).

Selain gambaran mikroskopis juga dilakukan perhitungan sel melanosit sebanyak 3 lapang pandang pembacaan dengan perbesar 400x.

Tabel 5.1. Hasil Pembacaan sel Melonosit

Kelompok	N	Lapang Pandang Pembacaan 400x			Rata-rata
		I	II	III	
KN	1	32	30	30	31
	2	31	31	30	31
UV-B	1	42	41	40	41
	2	41	40	41	41

Dari tabel 5.1 hasil pembacaan sel Melanosit didapatkan jumlah sel dikedua kelompok yang dilakukan uji validasi ini terlihat adanya peningkatan jumlah sel melanosit dari kelompok UV-B dibandingkan kelompok KN, artinya untuk paparan Paparan UV-B ini berhasil karena adanya peningkatan sel melonosit.

Model hiperpigmentasi yang diinduksi melalui paparan UV-B pada penelitian ini terbukti valid untuk digunakan pada tahap uji perlakuan, karena secara

histologis menunjukkan peningkatan jumlah melanosit dan akumulasi melanin di lapisan epidermis. Peningkatan deposit melanin ini merepresentasikan aktivasi proses melanogenesis yang menyerupai mekanisme hiperpigmentasi fisiologis maupun patologis pada kulit manusia, sehingga model ini relevan untuk mengevaluasi efektivitas agen depigmentasi.

5.1.2 Kadar MITF pada Jaringan Kulit

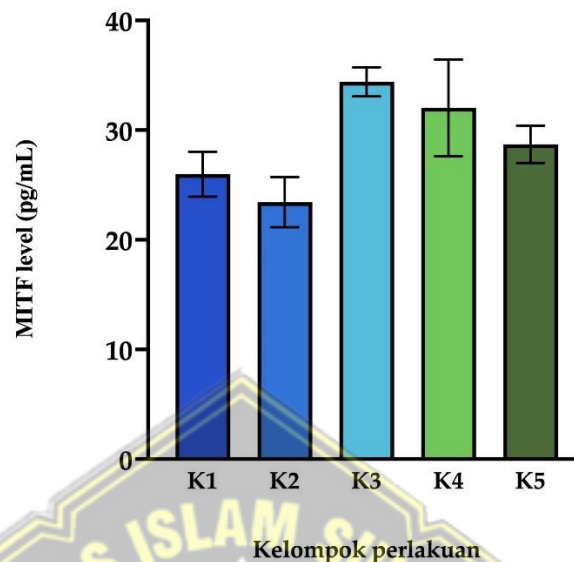
Pada penelitian ini dilakukan analisis kadar MITF pada jaringan kulit mencit dengan metode ELISA pada hari ke-28 penelitian. Hasil analisis ELISA dari supernatan jaringan kulit mencit menunjukkan bahwa rerata kadar MITF pada kelompok yang dipapar UV-B (K2) lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diberi hidrokuinon (K3), serum ekstrak mulberry konsentrasi 5% (K4), dan serum ekstrak mulberry konsentrasi 10% (K5) lebih tinggi dibandingkan dengan K2 (Tabel 5.2).

Tabel 5.2 Kadar MITF pada Jaringan Kulit

Kelompok Perlakuan	Kadar MITF	Nilai <i>p</i> hasil uji		
		Normalitas distribusi data dengan Saphiro Wilk	Homogenitas varian data dengan Levene Test	Beda dengan One Way ANOVA
Kontrol sehat (K1)	25,97±4,57	0,205	0,220	0,047
Kontrol negatif /UVB (K2)	23,43±5,13	0,842		
Kontrol Positif UVB+Hidrokuinon 2% (K3)	34,39±2,95	0,885		

UVB+Serum ekstrak mulberry 5% (K4)	32,02±9,85	0,342
UVB+Serum ekstrak mulberry 10% (K4)	28,70±3,81	0,367

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok (K1, K2, K3, K4, dan K5) memiliki data kadar MITF yang berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji *Levene's Test* menunjukkan bahwa data kadar MITF memiliki varians yang homogen dengan nilai $p = 0,220$ ($p > 0,05$). Karena data memenuhi syarat parametrik, uji perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,047$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setidaknya satu pasang kelompok perlakuan. Akan tetapi hasil uji lanjut *post-hoc* dengan uji *Tukey HSD* (Lampiran 7) yang menunjukkan bahwa terdapat tidak ada perbedaan yang signifikan antara semua kelompok perlakuan (Gambar 5.2)

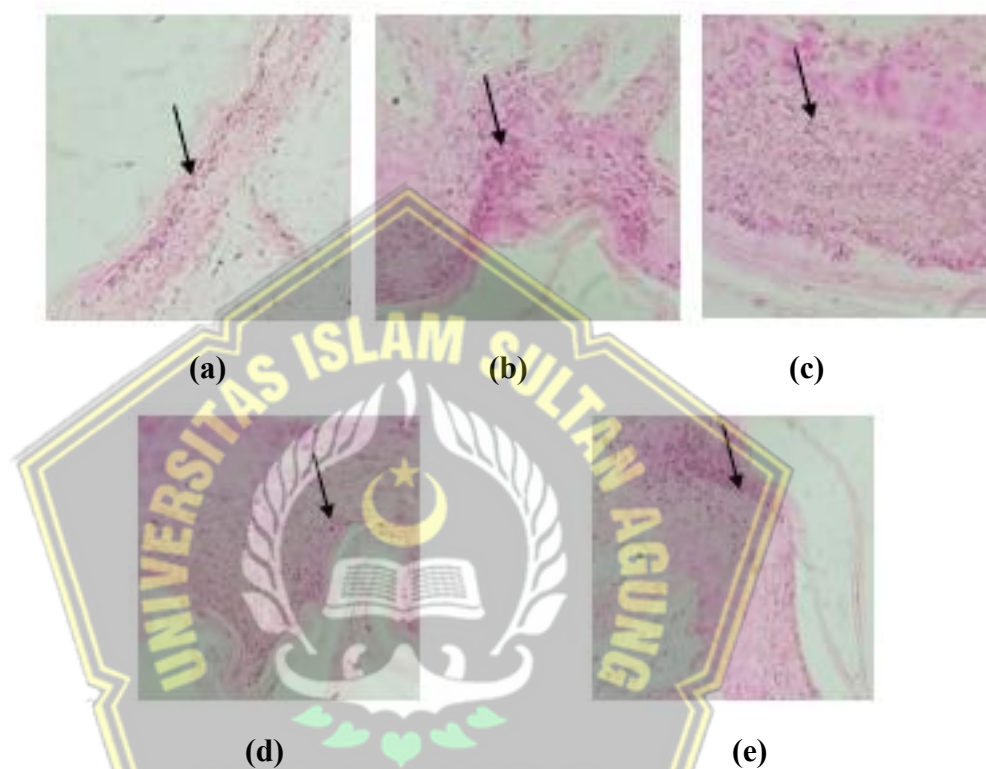


Gambar 5.3 Kadar MITF dari jaringan kulit pada tiap kelompok perlakuan

5.1.3 Total Melanin pada Jaringan Kulit

Hasil pengamatan histopatologi kulit mencit dengan pewarnaan *Masson Fontana* disajikan pada gambar 5.4. Granula melanin di lapisan basal epidermis pada kulit mencit kelompok I tampak lebih sedikit dan tersebar tipis (Gambar 5.4A). pada kelompok kontrol negatif yang dipapar UV-B (K2) (Gambar 5.4B) menunjukkan jumlah granula melanin yang lebih banyak dibandingkan K1. Jaringan kulit pada kelompok kontrol positif (K3) memperlihatkan penumpukan granula melanin sangat padat dan pekat hingga ke lapisan suprabasal (Gambar 5.4C). pada kelompok perlakuan K4 menampilkan jumlah granula melanin yang lebih sedikit dan cukup padat di beberapa area (Gambar 5.4D). pada kelompok K5 yang diberi serum ekstrak mulberry 10% memperlihatkan penurunan intensitas

pewarnaan yang lebih jelas, dengan distribusi granula yang lebih sedikit dan warna yang lebih pucat.



Gambar 5.4 Pengamatan histopatologi kulit mencit dengan pewarnaan *Masson Fontana* pada kelompok: (a) sehat (K1); (b) kontrol negatif (K2); (c) kontrol positif (K3); (d) perlakuan 5% (K4); (e) perlakuan 10% (K5). Tanda panah hitam menunjukkan granula melanin yang berwarna coklat.

Hasil uji perhitungan granula melanin pada preparat histologi jaringan kulit menunjukkan total melanin sebagaimana disajikan pada tabel 5.2. Kelompok kontrol sehat (K1) memiliki total melanin rata-rata sebesar $35,45 \pm 4,43$, sama dengan kelompok yang dipapar UV-B (K2) yaitu sebesar $35,40 \pm 4,22$. Pemberian hidrokuinon (K3) menunjukkan peningkatan total melanin dengan nilai rata-rata

44,06 $\pm$ 3,92. Pemberian serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 5% (K4) menunjukkan total melanin rata-rata 38,40 $\pm$ 3,03, dan serum ekstrak mulberry dengan konsentrasi 10% (K5) memiliki nilai rata-rata 34,80 $\pm$ 1,77.

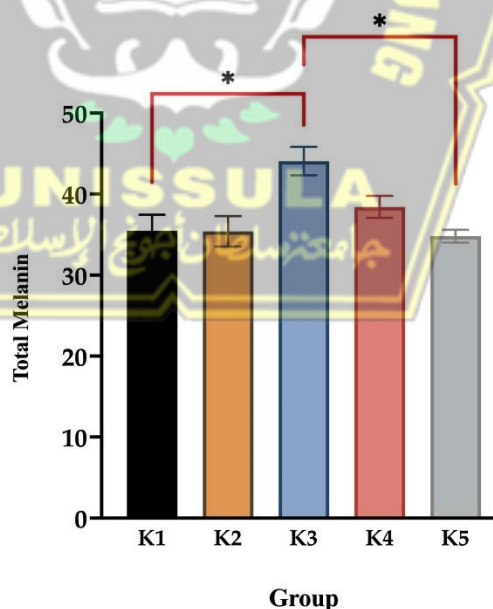
Tabel 5.3 Total Melanin pada Jaringan Kulit

Kelompok Perlakuan	Total Melanin	Nilai <i>p</i> hasil uji		
		Normalitas distribusi data dengan Saphiro Wilk	Homogenitas varian data dengan Levene Test	Beda dengan One Way ANOVA
Kontrol sehat (K1)	35,45 $\pm$ 4,43	0,096	0,088	0,003
Kontrol negatif /UVB (K2)	35,40 $\pm$ 4,22	0,406		
Kontrol Positif UVB+Hidrokuinon 2% (K3)	44,06 $\pm$ 3,92	0,273		
UVB+Serum ekstrak mulberry 5% (K4)	38,40 $\pm$ 3,03	0,325		
UVB+Serum ekstrak mulberry 10% (K4)	34,80 $\pm$ 1,77	0,216		

Hasil uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok (K1, K2, K3, K4, dan K5) memiliki data total melanin yang berdistribusi normal ($p > 0,05$). Hasil uji *Levene's Test* menunjukkan bahwa data total melanin memiliki varians yang homogen dengan nilai $p = 0,088$ ($p > 0,05$). Karena data memenuhi syarat parametrik, uji perbedaan antar kelompok dianalisis menggunakan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,003$ ($p < 0,05$), yang mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan

antara setidaknya satu pasang kelompok perlakuan. Hasil uji *Post Hoc* HSD menunjukkan bahwa K1 berbeda signifikan dan K3 berbeda dengan K5 (Tabel 5.3 dan Gambar 5.5).

Selanjutnya, analisis lebih lanjut menunjukkan bahwa antara kelompok K1 dan K3, terdapat perbedaan signifikan dengan *p*-value sebesar 0,010. Begitu pula, antara K2 dan K3 juga ditemukan perbedaan signifikan dengan *p*-value sebesar 0,009. Serta antara kelompok K3 dan K5 juga ditemukan perbedaan signifikan dengan *p*-value 0,005. Hasil ini mengindikasikan adanya perbedaan yang cukup jelas antara kelompok-kelompok tertentu yang mendapat perlakuan, yang menggambarkan dampak perlakuan terhadap data yang diamati.



Gambar 5.5 Total melanin dari jaringan kulit mencit pada tiap kelompok perlakuan

Tabel 5.4 Uji *post hoc* Tukey HSD Total Melanin pada masing-masing Kelompok

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.	Interval Kepercayaan 95%	
			Batas Bawah	Batas Atas
K1	K2	1,000	-8,4179	13,5059
	K3	0,010*	-19,3799	2,5439
	K4	0,704	-17,0119	4,9119
	K5	0,998	-12,6879	8,2359
K2	K3	0,009*	-21,9239	-0,0001
	K4	0,687	-19,5559	2,3679
	K5	0,999	-16,2319	5,6919
K3	K4	0,135	-8,5939	13,3299
	K5	0,005*	-5,2699	16,6539
K4	K5	0,529	-7,6379	14,2859

Tanda * menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan

5.2 Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa paparan sinar UV-B pada kelompok K2 (kontrol negatif) dapat menginduksi hiperpigmentasi pada kulit mencit, yang terlihat dari peningkatan kadar total melanin. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa UV-B dapat meningkatkan sintesis melanin melalui jalur pensinyalan yang melibatkan peningkatan produksi *reactive oxygen species* (ROS), yang pada gilirannya memicu stres oksidatif dan kerusakan pada protein regulator melanogenesis.⁶⁹ UV-B merangsang peningkatan kadar *Microphthalmia-associated Transcription Factor* (MITF), faktor transkripsi utama dalam melanogenesis, yang mengatur gen-gen seperti tyrosinase dan TYRP1, yang terlibat dalam produksi melanin.⁷⁰ Penelitian ini sejalan dengan temuan bahwa paparan UV-B menyebabkan peningkatan aktivitas MITF yang

berujung pada hiperpigmentasi kulit, yang berperan dalam pembentukan melanin pada lapisan epidermis.^{62,71,72}

Pada perbandingan antara kelompok mencit sehat (K1) dan kelompok kontrol negatif (K2), kadar MITF dan total melanin pada K2 lebih tinggi, yang sesuai dengan teori bahwa UV-B memicu aktivasi jalur melanogenesis. Namun, peningkatan MITF pada K2 tidak terlalu tinggi dibandingkan dengan perkiraan awal. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh paparan UV-B berkepanjangan yang memicu kerusakan sel *melanocyte* dan respons stres oksidatif, yang pada tahap awal meningkatkan kadar MITF sebagai upaya merespons kerusakan, tetapi pada fase lebih lanjut justru menurunkan kadar MITF akibat kelelahan seluler.⁷² Kerusakan melanosit yang terjadi akibat paparan UV-B yang berkepanjangan pada kelompok K2 juga mempengaruhi kapasitas sel untuk memproduksi melanin. Proses apoptosis melanosit yang terjadi sebagai respons terhadap kerusakan oksidatif berlebih berkontribusi pada penurunan kemampuan melanosit untuk menghasilkan melanin. Penurunan jumlah melanosit aktif ini memengaruhi proses melanogenesis dan menyebabkan penurunan produksi melanin meskipun MITF masih teraktivasi. Selain itu, penipisan epidermis juga terjadi akibat kerusakan seluler, yang pada gilirannya dapat mengubah distribusi melanin di lapisan epidermis, menyebabkan hiperpigmentasi yang lebih tidak merata. Semua mekanisme ini berkontribusi pada penurunan kadar melanin dan MITF yang tidak setinggi yang diperkirakan pada kelompok K2 meskipun paparan UV-B awalnya menginduksi respons melanogenesis.⁷³

Sesuai dengan kerangka konsep yang menyatakan bahwa ekstrak mulberry dapat menurunkan ekspresi MITF dan mengurangi sintesis melanin melalui jalur pensinyalan cAMP/PKA/CREB, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak mulberry pada kelompok K3 (hidrokuinon) dan K5 (mulberry 10%) secara signifikan menurunkan kadar total melanin pada kulit mencit yang terpapar UV-B. Penggunaan hidrokuinon, yang dikenal sebagai agen depigmentasi kulit, dapat menghambat enzim tirosinase, yang berperan dalam proses sintesis melanin.⁷⁴ Meskipun demikian, pemberian hidrokuinon pada kelompok K3 justru tidak menurunkan kadar melanin secara signifikan dibandingkan dengan kelompok K5 yang diberi ekstrak mulberry 10%. Pada kelompok K3, meskipun ada penurunan melanin, penggunaan hidrokuinon dapat memperburuk efek paradoksikal hiperpigmentasi. Hal ini terjadi karena meskipun hidrokuinon menghambat enzim tirosinase, penggunaan dosis tinggi atau jangka panjang dapat menyebabkan akumulasi stres oksidatif dan inflamasi pada kulit, yang merusak melanosit. Kerusakan ini memicu pelepasan mediator inflamasi seperti endotelin-1 dan prostaglandin yang justru merangsang melanogenesis dan menimbulkan fenomena hiperpigmentasi rebound.⁷⁵

Sebaliknya, pemberian ekstrak mulberry pada kelompok K5 (10%) menunjukkan penurunan kadar melanin yang lebih signifikan dibandingkan dengan kelompok K4 yang diberi mulberry 5%. Hal ini mungkin disebabkan oleh kandungan flavonoid yang lebih tinggi pada dosis yang lebih besar, yang memperkuat kemampuan ekstrak mulberry dalam menurunkan produksi melanin,

sehingga semakin tinggi efeknya dalam antihiperpigmentasi.⁴² Ini mengindikasikan bahwa ekstrak mulberry memiliki potensi lebih kuat dalam menghambat melanogenesis, berkat kandungan senyawa bioaktif seperti mulberroside, flavonoid, dan oksiresveratrol, yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan yang berperan dalam mengurangi stres oksidatif melalui jalur Nrf2/HO-1, yang juga terlibat dalam menghambat jalur pensinyalan yang mengaktifkan MITF.^{23,76} Melalui mekanisme ini, ekstrak mulberry berpotensi lebih efektif dalam mengatasi peningkatan melanin yang disebabkan oleh paparan UV-B.^{6,77}

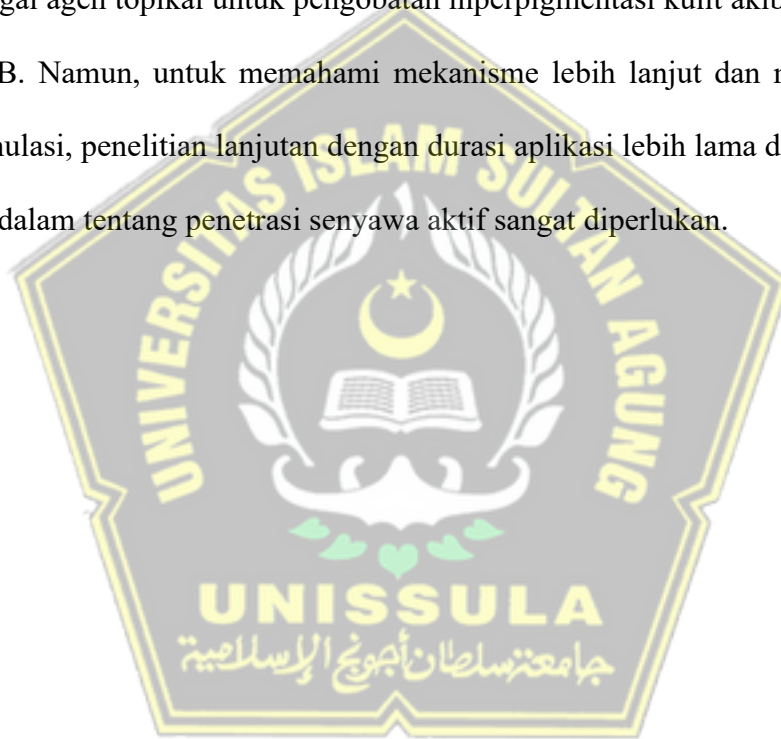
Hasil pemeriksaan histopatologi kulit mencit yang diperoleh dari pewarnaan *Masson-Fontana* menggunakan alat dermoskop riester ri-scope® ri-derma mendukung temuan kuantitatif ini, di mana granula melanin pada kelompok K5 terlihat lebih sedikit dan tersebar lebih merata, dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (K3) yang menunjukkan penumpukan melanin yang padat di lapisan suprabasal. Penurunan intensitas granula melanin pada K5 juga menunjukkan bahwa konsentrasi tinggi ekstrak mulberry berpotensi mengurangi pembentukan melanin akibat paparan UV-B secara lebih efektif.⁷⁵ Meskipun pada kelompok K4 juga terlihat penurunan, hasilnya belum sebanyak pada K5, yang mengonfirmasi bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak mulberry, semakin efektif penurunan kadar melanin yang terjadi. Gambaran ini secara visual mendukung hasil kuantitatif bahwa pemberian serum ekstrak mulberry, khususnya

pada konsentrasi 10% efektif menurunkan kadar melanin pada kulit mencit yang mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B.

Namun, keterbatasan penelitian ini terletak pada kadar ROS yang tidak diukur secara langsung, sehingga hubungan kuantitatif antara paparan ultraviolet-B, peningkatan ROS, dan perubahan kadar MITF belum dapat dipastikan.¹⁷ Selain itu, durasi perlakuan yang singkat (hanya 5 hari) juga menjadi keterbatasan, karena penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa waktu aplikasi yang lebih lama dibutuhkan untuk mengoptimalkan efek senyawa aktif dalam ekstrak mulberry. Penelitian lanjutan dengan pengukuran ROS secara langsung dan durasi aplikasi lebih lama diperlukan untuk memastikan efektivitas ekstrak mulberry dalam menurunkan produksi melanin.⁷² Selain itu, mekanisme lain di luar antiinflamasi, antioksidan, dan inhibisi tirosinase juga perlu dipertimbangkan. Mekanisme tambahan yang mungkin berperan meliputi regulasi ekspresi gen melalui mekanisme epigenetik seperti microRNA yang berpengaruh terhadap diferensiasi melanosit, modulasi angiogenesis melalui faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) yang dapat meningkatkan melanogenesis, serta interaksi parakrin antara keratinosit dan melanosit melalui mediator seperti α -Melanocyte Stimulating Hormone (α -MSH), stem cell factor, dan endotelin-1 yang turut mengatur pigmentasi.¹⁵ Penelitian lebih lanjut terkait pengukuran kadar ROS dan durasi aplikasi yang lebih lama diperlukan untuk memastikan efektivitas ekstrak mulberry dalam mengurangi produksi melanin secara optimal. Faktor lain yang perlu dipertimbangkan adalah interaksi antara senyawa dalam ekstrak mulberry

dengan berbagai komponen kulit, yang mungkin memengaruhi mekanisme kerjanya dalam menghambat melanogenesis.⁷⁸

Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa ekstrak mulberry, khususnya pada konsentrasi 10%, berpotensi untuk mengurangi sintesis melanin pada kulit yang terpapar UV-B. Hal ini menunjukkan bahwa mulberry memiliki potensi sebagai agen topikal untuk pengobatan hiperpigmentasi kulit akibat paparan sinar UV-B. Namun, untuk memahami mekanisme lebih lanjut dan mengoptimalkan formulasi, penelitian lanjutan dengan durasi aplikasi lebih lama dan analisis lebih mendalam tentang penetrasi senyawa aktif sangat diperlukan.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian serum ekstrak mulberry (*Morus alba* L.) 5% ($38,40 \pm 3,03$) dan 10% ($34,80 \pm 1,77$) berpengaruh signifikan terhadap penurunan total melanin pada mencit C57BL/6 yang mengalami hiperpigmentasi akibat paparan UV-B. Konsentrasi ekstrak mulberry 10% menunjukkan penurunan yang lebih signifikan dibandingkan dengan kontrol positif.
2. Pemberian serum ekstrak mulberry 5% ($32,02 \pm 9,85$) dan 10% ($28,70 \pm 3,81$) tidak memberikan penurunan yang signifikan terhadap kadar MITF pada mencit hiperpigmentasi akibat paparan UV-B, jika dibandingkan dengan kontrol positif ($34,39 \pm 2,95$).
3. Ekstrak mulberry dapat mengurangi kadar total melanin melalui mekanisme yang berkaitan dengan aktivitas antioksidan, namun tidak secara langsung memengaruhi kadar MITF.

6.2 Saran

Penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lanjutan mengukur kadar ROS dari sampel darah sehingga mengetahui efek paparan UV-B terhadap kenaikan hiperpigmentasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gazali M, Suhardani MN, Husni A, et al. In Vitro Tyrosinase Inhibitory Activity of Ethanol Extract of Seaweed *Ulva lactuca*. *J Pengolah Has Perikan Indones* 2024;27(7):564–585.
2. Allgisna KN, Hindun S, Rantika N. Review: Perbandingan Beberapa Ekstrak Kulit Buah sebagai Anti-hiperpigmentasi. *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2021;3(2):335–342.
3. Lu W, Zhang J, Wu Y, Sun W, Jiang Z, Luo X. Engineered NF- κ B siRNA-encapsulating exosomes as a modality for therapy of skin lesions. *Front Immunol* 2023;14.
4. Adani Lubis N, Karmila Jusuf N. Tata Laksana Hiperpigmentasi pada Area Lipatan. *PERDOSKI* 2024;97–139.
5. Nautiyal A, Wairkar S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2021;34(6):1000–1014.
6. 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.
7. Khanpara P, Sojitra N. A Review on Medicinal Activities of Mulberry Weed. *Journal of Medicinal Plants Studies* 2022;10(5):103–111.
8. Yenny SW, Lestari W. Sebuah Studi yang Membandingkan Penggunaan Asam Kojic 4% dengan Krim Mulberry untuk Pengobatan Melasma. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 2022;22(2):1412–1026.
9. 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.

10. Maretha DE, Afriansyah D, Wati DS, et al. Test Comparison of Seeds and Skins Extract of Duku's Fruit (*Lansium domesticum* Corr.) Against the Amount of Melanin Pigment of Skin Mencit (*Mus musculus*) to Prevent Premature Aging of the Skin. *Advances in Traditional Medicine* 2022;22(4):875–883.
11. 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).
12. Intan Permata Murti I. Formulation of Nanostructured Lipid Carrier Gel From Mulberry Root Extract (*Morus alba* L.) as Whitening Agent using Zebrafish Modelling Formulasi Gel Nanostructured Lipid Carriers Ekstrak Akar Murbei (*Morus alba* L.) sebagai Pencerah Kulit pada Model Zebrafish. *JURNAL ILMU KEFARMASIAN INDONESIA* 2023;21(2).
13. Huyen NT, Thu DK, Tien NM, et al. Tyrosinase Inhibitory Impact of *Morus alba* L. Root Bark: In Vitro and In Silico Studies. *Research Journal of Pharmacognosy* 2024;11(4):27–37.
14. Nguyen LTH. Biological Activities of Paper Mulberry (*Broussonetia papyrifera*): More than a Skin-Lightening Agent. *Cosmetics*. 2022;9(6).
15. Brenner M, Yamaguchi Y. UVB and Skin Damage: Mechanisms and Preventive Measures. *Journal of Dermatology Research* 2022;11(2):75–88.
16. Zang D, Maimaiti Z, Mamat N, et al. Pigmentation Effects of Kaliziri Standard Extracts on Melanocytes, C57BL/6 mice of Hydroquinone- Induced and Guinea Pigs of Hydrogen Peroxide- Induced Hyperpigmentation Model [Homepage on the Internet]. 2021;Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-870219/v1>
17. Roider E, Lakatos AIT, McConnell AM, et al. MITF regulates IDH1, NNT, and a transcriptional program protecting melanoma from reactive oxygen species. *Sci Rep* [homepage on the Internet] 2024;14(1):21527. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-72031-9>

18. Kim JS, Lee EB, Choi JH, et al. Antioxidant and Immune Stimulating Effects of *Allium cepa* Skin in the RAW 264.7 Cells and in the C57BL/6 Mouse Immunosuppressed by Cyclophosphamide. *Antioxidants* 2023;12(4).
19. Juliana Carron, Caroline Torricelli, Janet Keller Silva, Lilian de Oliveira Coser, Carmen Silvia Passos Lima, Gustavo Jacob Lourenço. Intronic Variants of MITF (rs7623610) and CREB1 (rs10932201) Genes May Enhance Splicing Efficiency in Human Melanoma Cell Line. 2021;823.
20. Wang JH, Hwang SJ, Lee SK, Choi Y, Byun CK, Son CG. Anti-Melanogenic Effects of Fractioned *Cynanchum atratum* by Regulation of cAMP/MITF Pathway in a UVB-Stimulated Mice Model. *Cells* 2023;12(10).
21. Pan C, Liu X, Zheng Y, et al. The mechanisms of melanogenesis inhibition by glabridin: molecular docking, PKA/MITF and MAPK/MITF pathways. *Food Science and Human Wellness* 2022;12(1):212–222.
22. Sánchez-del-Campo L, Martí-Díaz R, Montenegro MF, et al. MITF induces escape from innate immunity in melanoma. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* 2021;40(1).
23. Slominski RM, Sarna T, Płonka PM, Raman C, Brożyna AA, Slominski AT. Melanoma, Melanin, and Melanogenesis: The Yin and Yang Relationship. *Front Oncol.* 2022;12.
24. Kang MH, Jang GY, Ji YJ, et al. Antioxidant and Anti-Melanogenic Activities of Heat-Treated Licorice (*Wongam*, *Glycyrrhiza glabra* × *G. uralensis*) Extract. *Curr Issues Mol Biol* 2021;43:1171–1187.
25. Lv J, Yang Y, Jia B, Li S, Zhang X, Gao R. The Inhibitory Effect of Curcumin Derivative J147 on Melanogenesis and Melanosome Transport by Facilitating ERK-Mediated MITF Degradation. *Front Pharmacol* 2021;12.
26. Kim SH, Lee J, Jung J, et al. Interruption of p38MAPK-MSK1-CREB-MITF-M pathway to prevent hyperpigmentation in the skin. *Int J Biol Sci* 2024;20(5):1688–1704.

27. Chauhan JS, Hölzel M, Lambert JP, Buffa FM, Goding CR. The MITF regulatory network in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2022;35(5):517–533.
28. Oppezzo A, Rosselli F. The underestimated role of the microphthalmia-associated transcription factor (MiTF) in normal and pathological haematopoiesis. *Cell Biosci.* 2021;11(1).
29. Sarna T, Swartz HM, Zadlo A. Interaction of Melanin with Metal Ions Modulates Their Cytotoxic Potential. *Appl Magn Reson.* 2022;53(1):105–121.
30. Moreiras H, Seabra MC, Barral DC. Melanin transfer in the epidermis: The pursuit of skin pigmentation control mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9).
31. 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.
32. Hasegawa S, Enomoto K, Mizutani T, Okano Y, Tanaka T, Sakai O. Skin Diagnostic Method Using Fontana-Masson Stained Images of Stratum Corneum Cells. *IEICE Trans Inf Syst* 2024;E107.D(8):1070–1078.
33. Yu F, Lu Y, Zhong Z, et al. Mitf Involved in Innate Immunity by Activating Tyrosinase-Mediated Melanin Synthesis in Pteris penguin. *Front Immunol* 2021;12.
34. Putu Khrisna Dharma Jaya, Putu Indah Budi Apsari, Pande Made Alitta Cantika Putri Nadya Dewi, Dewa Ayu Agus Sri Laksemi, I Ketut Cahyadi Adi Winata Sutarta. Effects of Moringa oleifera Extract as an Immunomodulator of Lymphocyte Cells and Macrophages in BALB/c Mice Infected with Plasmodium berghei. *Folia Medica Indonesiana* 2023;59(3):214–221.
35. Soyata A, Chaerunisaa AY. Whitening Agent : Mekanisme, Sumber dari Alam dan Teknologi Formulasinya. *Majalah Farmasetika* 2021;6(2):169.
36. Syaifullah A, Kristiningrum N, Pangaribowo DA, Wulandari L. Penentuan Kadar Flavonoid Total dan Klasifikasi Serbuk Daun Murbei (Morus alba L.) Berbeda Ketinggian Tempat Tanam

[Homepage on the Internet]. 2024; Available from: <https://journal.unej.ac.id/agropharmacy>

37. Laela DS, Mulyanti S, Nurnaningsih H. Efektivitas Sari Buah Mulberry (*Morus alba* L) pada Plak Gigi Sebagai Alternatif Pengganti Disclosing Solution. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Depkes Bandung* 2021;13(1):186–194.
38. Aulia Syaquina Z. *Morus alba* (Murbei). 2021;
39. Ayu Putu Widiastriani I, Udayani NNW, Putri Triansyah GA, Mahita Kumari Dewi NPE, Eva Wulandari NLW, Sri Prabandari AAS. Artikel Review: Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research* [homepage on the Internet] 2024;6(2). Available from: <https://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr/article/view/27055>
40. Hao J, Gao Y, Xue J, et al. Phytochemicals, Pharmacological Effects and Molecular Mechanisms of Mulberry. *Foods*. 2022;11(8).
41. Liu X, Rao J, Wang K, Wang M, Yao T, Qiu F. Highly Potent Inhibition of Tyrosinase by Mulberrosides and the Inhibitory Mechanism in Vitro. *Chem Biodivers* 2022;19(1).
42. 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).
43. 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).
44. Fatima M, Dar MA, Dhanavade MJ, et al. Biosynthesis and Pharmacological Activities of the Bioactive Compounds of White Mulberry (*Morus alba*): Current Paradigms and Future Challenges. *Biology (Basel)*. 2024;13(7).
45. San L, Aung M, Nararatwanchai T. A Comparative Study of The Efficacy Between 5% *Morinda citrifolia* Fruit Extract Cream and Placebo Cream for Treatment of Melasma. 2021;

46. Kim JH, Kim TI, Ma JY. Synergistic effects of novel herbal decoctions from *Panax ginseng* and *Morus alba* on tyrosinase activity and melanogenesis in vitro. *Heliyon* 2022;8(2).
47. Sawiji RT. Pengaruh Variasi Konsentrasi Gelling Agent (Xanthan Gum dan Carbopol) pada Sediaan Serum dengan bahan Aktif Retinoic Acid. *Acta Holistica Pharmaciana* 2024;6(1):1–10.
48. Fitri N, Tanjungsari AA, Himmi SK, Solihat NN. Formulation of Nanoemulsion of Gotu Kola (*Centella asiatica* (L.) Urban) Leaves Extract as Active Ingredients to Produce Antioxidant Facial Serum. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis* [homepage on the Internet] 2024;84–95. Available from: <https://journal.uui.ac.id/Eksakta/article/view/28464>
49. Febrika Zebua N, Safriana RJ, Aisyah S, et al. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Nilai SPF Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp) pada Sediaan Serum Wajah. *Forte Journal* [homepage on the Internet] 2023;03(01):87–96. Available from: <https://www.ojs.unhaj.ac.id/index.php/fj>
50. Virlando Suryadinata R, Prawitasari DS, Rochim IP, et al. The Efficacy of Flavonoid in Red Mulberry on Reducing Free Radicals and Alveolar Macrophages Due to Cigarette Smoke Exposure in Wistar Rats. 2021; Available from: <https://doi.org/10.22435/mgmi.v12i2.4021>; Copyright
51. Pranidya Tilarso D, Maghfiroh A, Jihan Amira K, Studi Farmasi P, Karya Putra Bangsa Jalan Raya Tulungagung-Blitar StikK, Timur J. Artikel Penelitian PENGARUH GELLING AGENT PADA SEDIAAN SERUM JERAWAT KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU DAN BUAH BELIMBING WULUH. *Jurnal Farmasi Indonesia | AFAMEDIS* [homepage on the Internet] 3(1):22–26. Available from: <https://www.journal-afamedis.com/index.php/afamedis>
52. Patidar M, Deshmukh N, Mandloi N, Patidar B, Solanki L, Pillai S. FORMULATION AND EVALUATION OF FACE SERUM CONTAIN PHYTOSOME OF GINGEROL OIL, CARICA PAPAYA PULP EXTRACT AND ALOE VERA GEL ‘Vidhya Vihar’, Borawan. *Certified Journal | 726 World Journal of*

Pharmaceutical Research SJIF Impact Factor 8084 [homepage on the Internet] 2023;12:726–740. Available from: www.wjpr.net

53. Prasetyo BF. Uji Aktivitas Antioksidan dan Daya Hambat Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Azolla filiculoides Lam. Jurnal Sains Farmasi & Klinis 2021;8(1):53.
54. Fitria N, Padua Ratu A. Karakteristik dan Stabilitas Sediaan Serum Ekstrak Buah Kersen(*Muntingia calabura* L.) dengan Variasi Konsentrasi. Pharmamedica Journal 2022;7(1):17–27.
55. Widyaningrum N, Arief TA, Darma Y, Ningrum A. Optimization, Characterization, and Primary Irritation Test of Serum Based on Simplex Lattice Design. 2024;14(2):176–184. Available from: <https://doi.org/10.22435/jki.v14i1.6650>
56. Gromkowska-Kępa KJ, Puścion-Jakubik A, Markiewicz-Żukowska R, Socha K. The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. J Cosmet Dermatol. 2021;20(11):3427–3431.
57. Hart PH, Norval M. More Than Effects in Skin: Ultraviolet Radiation-Induced Changes in Immune Cells in Human Blood. Front Immunol. 2021;12.
58. Maddaleno AS, Camargo J, Mitjans M, Vinardell MP. Melanogenesis and Melasma Treatment. Journal of Cosmetics [homepage on the Internet] 2021; Available from: <https://doi.org/10.3390/cosmetics>
59. Pan C, Liu X, Zheng Y, et al. The mechanisms of melanogenesis inhibition by glabridin: molecular docking, PKA/MITF and MAPK/MITF pathways. Food Science and Human Wellness 2022;12(1):212–222.
60. Kaminski K, Kazimierzak U, Kolenda T. Oxidative stress in melanogenesis and melanoma development. Współczesna Onkologia. 2022;26(1):1–7.
61. Schuster B, Sammain A. Hyperpigmentation in Skin of Colour: Therapeutical Benefits of isobutylamido-thiazolyl-resorcinol (Thiamidol®), An Effective Tyrosinase Inhibitor, in Phototypes IV–VI. JEADV Clinical Practice. 2024;3(3):801–806.

62. 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).
63. Nautiyal A, Wairkar S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies. *Pigment Cell Melanoma Res* 2021;34(6):1000–1014.
64. Maeda K. Mechanism of Action of Topical Tranexamic Acid in the Treatment of Melasma and Sun-Induced Skin Hyperpigmentation. *Cosmetics*. 2022;9(5).
65. Mar K, Khalid B, Maazi M, Ahmed R, Wang OJ, Khosravi-Hafshejani T. Treatment of Post-Inflammatory Hyperpigmentation in Skin of Colour: A Systematic Review. *J Cutan Med Surg*. 2024;
66. Bossart S, Ramelet AA, Willenberg T, et al. Skin Hyperpigmentation Index Facilitating Quantification of Hyperpigmentation in Clinical Practice. *Dermatology*. 2021;237(3):486–488.
67. Zhang Y, Li Y, Wang W. The effects of UVB on melanogenesis and its mitigation with natural extracts. *Phytomedicine* 2023;
68. 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>
69. Rong J, Shan C, Liu S, et al. Skin resistance to UVB-induced oxidative stress and hyperpigmentation by the topical use of *Lactobacillus helveticus* NS8-fermented milk supernatant. *J Appl Microbiol* 2017;123(2):511–523.
70. Wang JH, Hwang SJ, Lee SK, Choi Y, Byun CK, Son CG. Anti-Melanogenic Effects of Fractioned *Cynanchum atratum* by Regulation of cAMP/MITF Pathway in a UVB-Stimulated Mice Model. *Cells* 2023;12(10).
71. Sandhu, Sunmeet N, Shekhar R. Dermoscopy of disorders of hyperpigmentation. *Pigment International* [homepage on the Internet] 2021; Available from: www.pigmentinternational.com

72. Yoon JH, Jo CS, Hwang JS. Comprehensive Analysis of Exosomal MicroRNAs Derived from UVB-Irradiated Keratinocytes as Potential Melanogenesis Regulators. *Int J Mol Sci* 2024;25(6).
73. Kwon MS, Kim SJ, Park JH. Cellular Mechanisms in Melasma: Melanocyte Hyperactivity and Dermal Alterations. *Journal of Clinical Aesthetic Dermatology* 2023;16(1):12–22.
74. Imam TH, Smith LC, Patel A. Role of Inflammatory Mediators in Melasma. *International Journal of Dermatology Research* 2021;14(4):310–320.
75. Kim KS, Choi YJ, Jang DS, Lee S. 2-O- β -d-Glucopyranosyl-4,6-dihydroxybenzaldehyde Isolated from *Morus alba* (Mulberry) Fruits Suppresses Damage by Regulating Oxidative and Inflammatory Responses in TNF- α -Induced Human Dermal Fibroblasts. *Int J Mol Sci* 2022;23(23).
76. 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.
77. Zhu Y, Li Q. Mitf involved in shell pigmentation by activating tyrosinase-mediated melanin 2 synthesis in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) [Homepage on the Internet]. 2021; Available from: <https://ssrn.com/abstract=4596835>
78. Juanjuan Chen, Yang Liu, Zhao Zhao, Jie Qiu. Oxidative stress in the skin: Impact and related protection. *Int J Cosmet Sci* 2021;43(5):495–509.