

**LAPORAN AKHIR  
PENELITIAN DOSEN UTAMA**



**MEKANISME ANTIHIPERPIGMENTASI EKSTRAK LIDAH BUAYA (Aloe vera)  
SEBAGAI KANDIDAT TERAPI MELASMA**

**TIM PENGUSUL**

**Ketua** : Dr. Titik Respati, drg., MSc., PH (0405096505)  
**Anggota** : 1. Deis Hikmawati, dr., SpKK., M.Kes (0417017003)  
          2. Yuniarti, drg., M.Kes (0426068102)  
          3. Aldi Fernando Sobandi (10100115151)  
          4. Zetananda Kirana Fauziyah (10100118195)

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN PADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS ISLAM BANDUNG  
SEPTEMBER 2019**

## RINGKASAN

Melasma adalah peningkatan pigmentasi kulit atau hipermelanosis simetris ditandai dengan cahaya yang tidak beraturan sampai kelabu makula coklat. Melasma berasal dari kata Yunani melas artinya berwarna hitam, sebelumnya dikenal sebagai Chloasma, kata Yunani lain yang berarti warna hijau, meskipun istilah itu lebih sering digunakan untuk melasma kasus selama kehamilan. Makula dan tambalan hiperpigmentasi paling sering berkembang di area kulit yang terpapar sinar matahari. Melasma adalah dianggap sebagai hipermelanosis kronis yang didapat dari kulit, peningkatan pigmentasi dan fitur foto rusak yang menjadi ciri melasma termasuk solar elastosis, meskipun patogenesis utama masih belum diketahui.

Prevalensi penderita melasma di banyak negara hingga saat ini belum diketahui secara pasti, meskipun melasma merupakan kelainan hiperpigmentasi yang paling sering dijumpai. Prevalensi melasma bervariasi antara 1.5 persen hingga 33.3 persen tergantung dari populasi, dan pada wanita hamil prevalensinya kurang lebih 50-70 persen. Di Asia Tenggara prevalensi penderita melasma 40 persen dari pasien yang datang ke klinik-klinik dermatologi.

Pengobatan yang umum dilakukan untuk mengatasi melasma masih memiliki efek samping seperti pemberian hidrokuinon dapat menyebabkan rasa terbakar, merah, dan hipopigmentasi pada wajah, serta uji pada hewan menunjukkan bahwa hidrokuinon dapat menyebabkan kerusakan ginjal. Tretinoin, retinoid (RA), dapat menyebabkan kecacatan pada bayi dalam kandungan. Asam azelaic (AA) tetapi senyawa ini diketahui kurang efektif sehingga hasil yang didapatkan tidak maksimal. Lidah buaya (Aloe vera) yang banyak mengandung antioksidan dan bahan aktif lain sering digunakan untuk membuat kulit lebih terang dan penyembuhan melasma, tetapi bukti ilmiah dan penelitian mekanisme kerja dari bahan alam tersebut masih sangat kurang. Berdasarkan latar belakang di atas perlu diteliti mengenai efektivitas dan mekanisme ekstrak etanol lidah buaya pada terapi melasma.

Kesimpulan penelitian ini adalah ekstrak etanol lidah buaya tidak bersifat toksik pada kultur sel mouse melanoma B16. Secara *in silico* kandungan lidah buaya memiliki target protein-protein yang berperan pada proses melanogenesis, ekstrak etanol lidah buaya berpengaruh pada ekspresi gen NF $\kappa$ B dan IL10 pada kultur sel mouse melanoma B16.

Hasil penelitian ini dapat menghasilkan kandidat agen antihiperpigmentasi atau melasma yang efektif dan aman sehingga diharapkan memiliki efektifitas yang tinggi dan efek samping yang rendah.

## PRAKATA

Bismillahirrahmanirahim

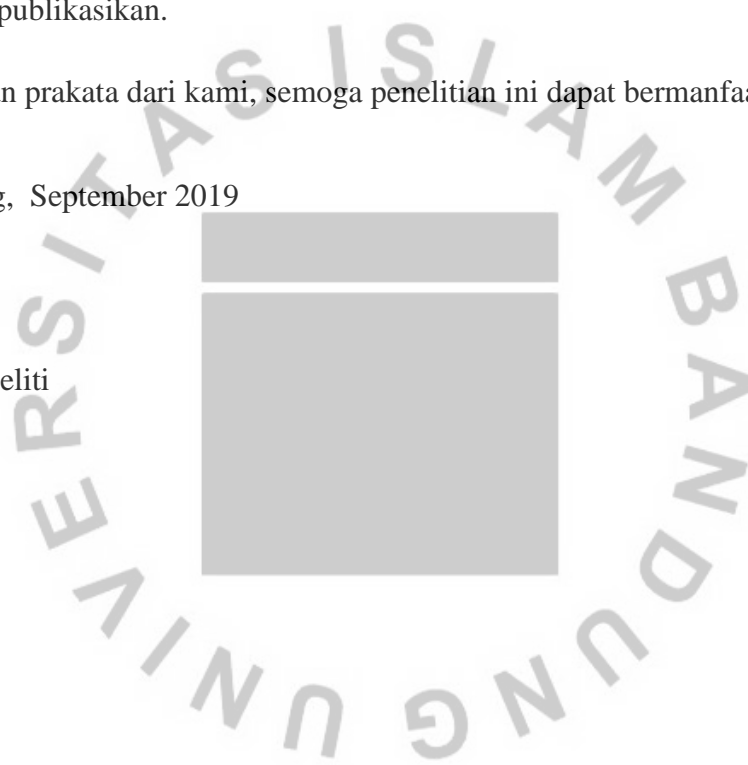
Segala puji bagi Allah Subhanahu wata'ala, Tuhan Semesta Alam, yang atas berkat rahmat-Nya lah kegiatan Penelitian yang berjudul **MEKANISME ANTIHIPERPIGMENTASI EKTRAKS LIDAH BUAYA (Aloe vera) SEBAGAI KANDIDAT TERAPI MELASA** ini telah berhasil dilaksanakan.

Penelitian ini telah dilaksanakan seluruhnya (100%), dan telah menghasilkan satu buah artikel untuk dipublikasikan.

Demikian prakata dari kami, semoga penelitian ini dapat bermanfaat bagi ilmu pengetahuan

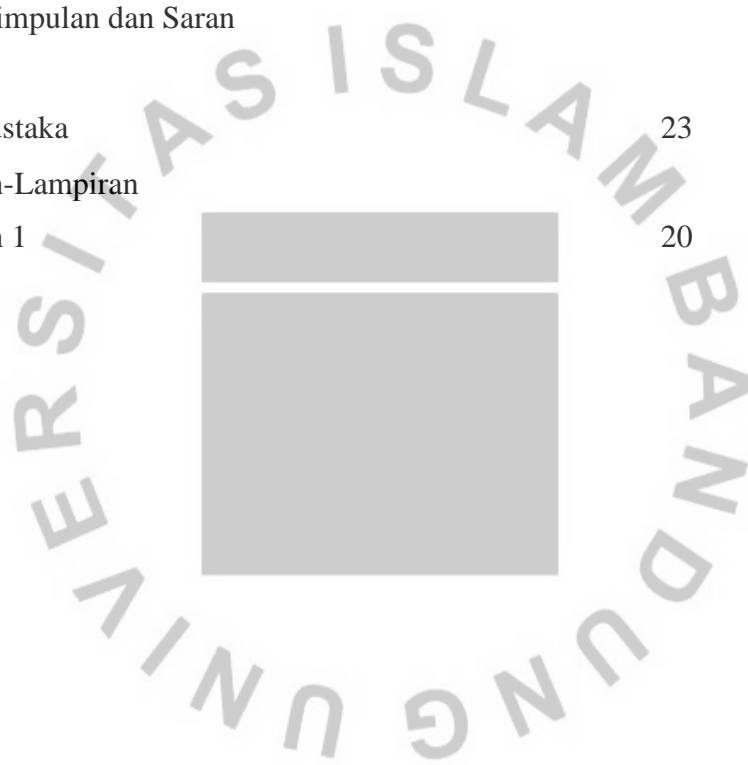
Bandung, September 2019

Tim Peneliti



**DAFTAR ISI**

Halaman Pengesahan	i
Daftar Isi	1
Ringkasan	2
BAB 1. Latar Belakang	2
BAB 2. Tinjauan Pustaka	6
BAB 3. Tujuan dan Manfaat Penelitian	11
BAB 4. Metode Penelitian	12
BAB 5 Hasil Penelitian	15
BAB 6 Simpulan dan Saran	20
Daftar Pustaka	23
Lampiran-Lampiran	
Lampiran 1	20



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang Penelitian

Melasma adalah peningkatan pigmentasi kulit atau hipermelanosis simetris ditandai dengan cahaya yang tidak beraturan sampai kelabu makula coklat. Melasma merupakan hipermelanosis kronis pada kulit yang paling sering dijumpai Melasma merupakan kelainan hiperpigmentasi yang paling sering dijumpai.(1-3)

Warna kulit yang hitam pada penderita melasma sering memberikan dampak negatif, seperti timbulnya rasa malu, rendah diri dan ketidakpuasan pada penampilannya. Tingkat keberhasilan terapi yang belum maksimal tidak jarang menyebabkan rasa tidak nyaman ,stress. dan akan sangat mempengaruhi kualitas hidup penderita.(4, 5). Gambaran melasma biasanya hiperpigmentasi simetris, ireguler, bergerigi, pada daerah tertentu. Lokasi melasma pada wajah yang paling umum adalah pipi, bibir atas, dagu, dan dahi, tetapi daerah lain yang terkena sinar matahari mungkin juga sesekali terlibat (6). Faktor resiko terjadinya melasma, yaitu genetika, sinar matahari, usia, jenis kelamin, hormonal, kehamilam, disfungsi tiroid, kosmetik, dan obat-obatan.(5, 7)

Pengobatan yang umum dilakukan untuk mengatasi melasma masih memiliki efek samping seperti pemberian hidrokuinon dapat menyebabkan rasa terbakar, merah, dan hipopikmentasi pada wajah, serta uji pada hewan menunjukkan bahwa hidrokuinon dapat menyebabkan kerusakan ginjal (8) Tretinoin, retinoid (RA), dapat menyebabkan kecacatan pada bayi dalam kandungan. Asam azelaic (AA) tetapi senyawa ini diketahui kurang efektif sehingga hasil yang didapatkan tidak maksimal.

Lidah buaya (Aloe vera) yang banyak mengandung antioksidan dan bahan aktif lain sering digunakan untuk membuat kulit lebih terang dan penyembuhan melasma, tetapi bukti ilmiah dan penelitian mekanisme kerja dari bahan alam tersebut masih sangat kurang.(9) Berdasarkan latar belakang di atas perlu diteliti mengenai efektivitas dan mekanisme ekstrak etanol lidah buaya pada terapi melasma

**Rumusan masalah**

Rumusan masalah pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol lidah buaya memiliki sifat sitotoksik pada Mouse Melanoma B16 Cell line
2. Apakah kandungan ekstrak etanol lidah buaya dapat menurunkan kadar melanin?
3. Apakah ekstrak etanol dan ekstrak methanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) dapat menurunkan ekspresi gen NF $\kappa$ B pada kultur sel Mouse Melanoma B16?



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Melasma

Melasma merupakan kelainan hipermelanosis yang predominannya mengenai wajah, dan berdasarkan distribusi lesi dibedakan tiga tipe yaitu: tipe sentro fasial, malar dan tipe mandibular. Sedangkan berdasarkan pemeriksaan lampu Wood fenotip melasma dibagi menjadi empat yaitu: fenotip epidermal jika dengan lampu Wood bewarna coklat terang; fenotip dermal jika dengan pemeriksaan bewarna coklat atau abu-kebiruan; fenotip mixed melasma jika bewarna hitam-kecoklatan, dan fenotip *indertiminate* atau tanpa gejala biasa pada penderita dengan warna kulit yang sangat hitam. Patogenesis melasma belum jelas di ketahui, beberapa faktor berperan dalam terjadinya kelainan hipermelanosis tersebut yaitu: paparan ultraviolet, genetika dan hormonal. Melasma lebih banyak terjadi pada kulit yang lebih gelap atau sering terjadi pada tipe kulit III-V ([10](#), [11](#))

Faktor genetik sebagai salah satu penyebab melasma hingga saat ini belum banyak diteliti. Pewarisan keturunan penderita melasma terjadi karena adanya interaksi beberapa faktor genetik (poligenetik) atau dan bersifat non Mendelian. Selain itu adanya pengaruh lingkungan terhadap faktor genetik atau epigenetik juga merupakan salah satu terjadinya melasma. Gen yang berperan dalam melanogenesis pada epigenetic aalah H19RNA dan miR145 yang akan meningkatkan produksi tirosinase. ([12](#))

### 2.2. Terapi Melasma

Hidrokuinon (HQ; dihydroxybenzene) memiliki struktural mirip dengan prekursor melanin. HQ menghambat konversi DOPA menjadi melanin dengan memblokir aktivitas tirosinase dan menghambat pembentukan, melanisasi, dan degradasimelanosom. Hidrokuinon juga mempengaruhi struktur membran dan melanosit akhirnya menyebabkan nekrosis keseluruhan ([13](#)) Untuk pasien yang menjalani terapi HQ, medis biasa tindak lanjut sangat penting: setiap 3 bulan untuk tinggi kulit fototipe (Fitzpatrick tipe V dan VI) pasien dan setiap 6 bulan untuk kulit yang lebih terang jenis. Efek samping yang umum adalah eritema dan terbakar, ochronosis dan depigmentasi seperti confetti.

Tretinoin Tretinoin, retinoid (RA), menghambat transkrips enzim tirosinase sintesis kunci melanin kunci. Tretinoin memainkan peran penting dalam krim

kombinasi tiga (dijelaskan nanti) dan digunakan sebagai kulit kimia. (14) Asam azelaic (AA) bersifat anti-proliferasi dan sitotoksik secara selektif menuju hiperaktif melanosit, menghambat tirosinase dan enzim dengan mitokondria oksidoreduktase dengan efek minimal pada kulit yang berpigmen normal. (15)

### 2.3. Melanogenesis

Melanocytes dalam epidermis bertanggung jawab untuk memproduksi melanosit, pigment gelap/hitam yang berfungsi melindungi kulit dari radiasi ultraviolet. (16) Melanin dibentuk pada proses melanogenesis melalui kombinasi reaksi kimia dan reaksi enzimatik. Melanogenesis terjadi di organelles special, melanosomes, pada melanosit. The biosynthetic pathway of melanogenesis has been elucidated, where two types of melanin are synthesized within melanosomes: eumelanin and pheomelanin (17)

Melanosit mensintesis banyak melanosom sekretorik mengandung protein dan melanin, yang kemudian ditransfer ke keratinosit tetangga (18). Sebelum dilepaskan dari melanosit, melanosom berpindah dari daerah perinuklear ke sel perifer melalui melanisasi oleh enzim yang diperlukan untuk sintesis melanin, termasuk tirosinase (TYR), protein terkait tirosinase 1 (TYRP1), dan dopachrome tautomerase (DCT). (19).

Transkripsi enzim melanogenetik ini diatur oleh microphthalmia-associated faktor transkripsi (MITF), yang merupakan faktor transkripsi master perkembangan, diferensiasi, dan kelangsungan hidup melanosit. Transportasi antarseluler melanosomes membutuhkan beberapa langkah, termasuk transportasi jarak jauh dua arah pada mikrotubulus ke permukaan apikal, transfer ke filamen aktin, transport jarak pendek ireversibel oleh dinamika aktin, dan mengikat ke cytomembrane (20)

Transport melanosome ke ujung dendrit melanosit, melanosome di transfer dari tempat asalnya yaitu perikarion melanosit ke ujung dendrit melanosit. Transport melanosome di mikrotubul secara parallel menuju dendrit di atur oleh *kinesin* dan sitoplasma *dynein*. Pergerakannya secara sentrifugal dan anterograde oleh kinesin sedangkan sitoplasma *dynein* bergerak secara sentripetal. Di ujung dendrit melanosome ditangkap oleh filament aktin, diperantarai oleh myosin-Va (myo-Va) melalui protein Rab27A dan *melanophilin* (Mlph). (21)



Transfer melanosome dari melanosit merupakan merupakan langkah utama pigmentasi normal. keratinosit mengekspresikan *Protease Activated receptor-2* (PAR-2). Aktivasi PAR-2 akan meningkatkan aktivasi fagositosis keratinosit. Peningkatan melalui PAR-2 diduga disebabkan oleh perubahan jumlah dan ukuran panjang membran pada keratinosit.(22)

#### **2.4. Manfaat Aloe vera yang berkaitan pada Kesehatan Kulit**

##### **Aloesin**

Aloesin adalah senyawa hidroksimetil kromon alami yang berasal dari tanaman lidah buaya . Aloesin secara kompetitif menghambat fungsi tirosinase dengan menghambat hidroksilasi tirosin menjadi DOPA dan oksidasi DOPA menjadi dopaquinone . Studi pada melanosit manusia normal yang diobati dengan aloesin, menunjukkan penurunan tergantung pada aktivitas tirosinase Sifat hidrofilik dari senyawa ini mengurangi penetrasi kulit aloesin, karenanya, kombinasi pengobatan aloesin dengan arbutin telah dipelajari untuk menilai efek sinergis pada tirosinase aktivitas. Keduanya memiliki mekanisme aksi yang berbeda di mana aloesin menunjukkan nonkompetitif penghambatan sementara arbutin menghambat secara kompetitif . Pengujian aloesin mengungkapkan tidak sitotoksitas, yang menjadikannya alternatif yang baik untuk pengganti hidrokuinon.(23-25)

##### **Antioksidan**

Banyak mengandung vitamin seperti vitamin A, C, B, choline, B12, dan asam folat E yang berfungsi sebagai antioksidan. Radiasi ultraviolet mempengaruhi proliferasi melanosit dan produksi dan sekresi faktor parakrin dan autokrin yang merangsang melanogenesis. Radiasi UV juga dapat menghasilkan reaktif spesies oksigen (ROS) di kulit yang dapat menyebabkan melanogenesis, kerusakan DNA, proliferasi dan atau apoptosis melanosit.(26)

Paparan sinar ultra violet dapat merusak antioksidan yang ada pada kulit. Aplikasi antioksidan topikal memiliki kapasitas untuk mencegah kerusakan oksidatif pada kulit . Agen redoks yang mampu membersihkan ROS yang dihasilkan di kulit dapat menghambat rasul kedua yang dapat merangsang melanogenesis. Agen redoks juga bisa mempengaruhi pigmentasi kulit dengan berinteraksi dengan tembaga di

situs aktif tyrosinase atau dengan o-kuinon untuk menghambat polimerisasi oksidatif zat antara melanin.(27)

### **Arbutin**

Arbutin (hydroquinone-O- $\beta$ -D-glucopyranoside), merupakan turunan dari hydroquinone, yang berasal dari tanaman seperti cranberry, blueberry, gandum, lidah buaya, dan pir. Arbutin digunakan sebagai pengobatan untuk kelainan hiperpigmenter, dan menampilkan sitotoksitas melanosit yang lebih rendah dibandingkan hidrokuinon. Arbutin menghambat melanogenesis dengan mengikat secara kompetitif dan reversible tirosinase tanpa mempengaruhi transkripsi mRNA tirosinase. Selain itu arbutin menghambat pematangan melanosom, kemungkinan oleh pengaruhnya yang dilaporkan terhadap aktivitas DHICA polimerase dan protein Pmel-17. Deoxyarbutin (dA), bentuk sintesis arbutin disintesis tanpa gugus hidroksil, memberikan pengobatan yang menjanjikan untuk mengurangi hiperpigmentasi kulit,. dA menunjukkan penghambatan reversibel aktivitas tirosinase dengan terkait pencerah kulit pada sistem model kelinci percobaan dan pada kulit manusia, artinya dA tidak secara permanen menghancurkan melanosit.(24, 28, 29)

### **2.5 State of the Art**

Melasma atau hiperpigmentasi kulit memberikan dampak negatif, seperti timbulnya rasa malu, rendah diri dan ketidakpuasan pada penampilannya. Tingkat keberhasilan terapi yang belum maksimal tidak jarang menyebabkan rasa tidak nyaman, stress, dan akan sangat mempengaruhi kualitas hidup penderita.

Terapi yang sering diberikan pada Melasma adalah pemberian Hidrokuinon efek samping berupa reaksi iritasi, okronosis eksogen, bersifat sitotoksik terhadap sel melanosit sehingga dapat menimbulkan hipopigmentasi permanen, dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan memicu terjadinya kanker. Sehingga perlu dikembangkan bahan alam yang efektif dapat mengobati hiperpigmentasi yang aman digunakan dalam jangka panjang.

Kandungan lidah buaya banyak memiliki manfaat yang berkaitan dengan kesehatan kulit karena mengandung Aloesin dan Arbutin yang terbukti lebih efektif dan aman dari hidrokuinon, Asam amino yang dapat membentuk protein seperti kolagen, hormone seperti Auxin dan Gibberllin yang berfungsi sebagai antiinflamasi

dan berperan pada percepatan penyembuhan luka, Banyak mengandung vitamin seperti vitamin A, C, B, choline, B12, dan asam folat E yang berfungsi sebagai antioksidan. Dengan penelitian ini diharapkan dapat menemukan obat antihiperpigmentasi yang aman dalam penggunaan jangka panjang.

## 2.6. Road Map

2015-2017	2018	2019	2020
Penelitian mengenai faktor resiko untuk terjadinya hiperpigmentasi dan melasma	Mekanisme Antihiperpigmentasi Ekstrak Lidah Buaya (Aloe Vera) Sebagai Kandidat Terapi Melasma	Isolasi Zat Aktif dari Lidah buaya, serta pembuatan nano partikel sediaan lidah buaya	Uji Klinis pada Manusia
Merokok dan Penuaan Dini berupa Wrinkles Seputar Wajah Sekuriti Universitas Islam Bandung Hubungan Merokok dan Perubahan Hiperpigmentasi Daerah Wajah Satpam Unisba pada Tahun 2015	Journal Dermatology	Disertasi dan publikasi Journal International	Paten dan Publikasi

### **BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **Tujuan Umum**

Untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol lidah buaya sebagai bahan alam kandidat terapi melasma, sedangkan tujuan adalah :

1. Untuk menganalisis efek sitotoksik ekstrak etanol lidah buaya pada Mouse Melanoma B16 Cell line
2. Untuk menganalisis secara insilico efek kandungan ekstrak etanol lidah buaya pada menurunkan kadar melanin?
3. Untuk menganalisis efek ekstrak etanol dan ekstrak methanol lidah buaya (*Aloe vera* L.) pada ekspresi gen NFκB pada kultur sel Mouse Melanoma B16?

#### **Manfaat Penelitian**

Sejalan dengan meningkatnya kebutuhan dan keinginan masyarakat untuk memiliki penampilan yang baik, beredar berbagai kosmetik yang diajukan untuk mengobati hiperpigmentasi atau melasma, namun banyak dari bahan yang beredar mengandung bahan berbahaya bagi kesehatan. Kosmetik yang ditarik oleh Badan pengawas Obat dan Makanan (BPOM) umumy mengandung merkuri dan hidrokuinon.

Penggunaan hidrokuinon sebagai pengobatan hiperpigmentasi dapat memiliki efek samping berupa reaksi iritasi, okronosis eksogen, bersifat sitotoksik terhadap sel melanosit sehingga dapat menimbulkan hipopigmentasi permanen, serta uji pada hewan coba hidrokuinon dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan memicu terjadinya kanker. Sehingga perlu dikembangkan bahan alam yang efektif dapat mengobati hiperpigmentasi yang aman digunakan dalam jangka panjang.

## BAB 4. METODE PENELITIAN

### 4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni *in vitro*, dna penelitiain *in silico* dengan rancangan penelitian *randomize post test only control grup design*. Pengambilan sampel secara acak untuk dimasukan sebagai kelompok eksperimen dan kontrol. Alokasi sampel penelitian kepada kelompok percobaan dilakukan dengan cara *random allocation*

### 4.2 Populasi dan Sampel

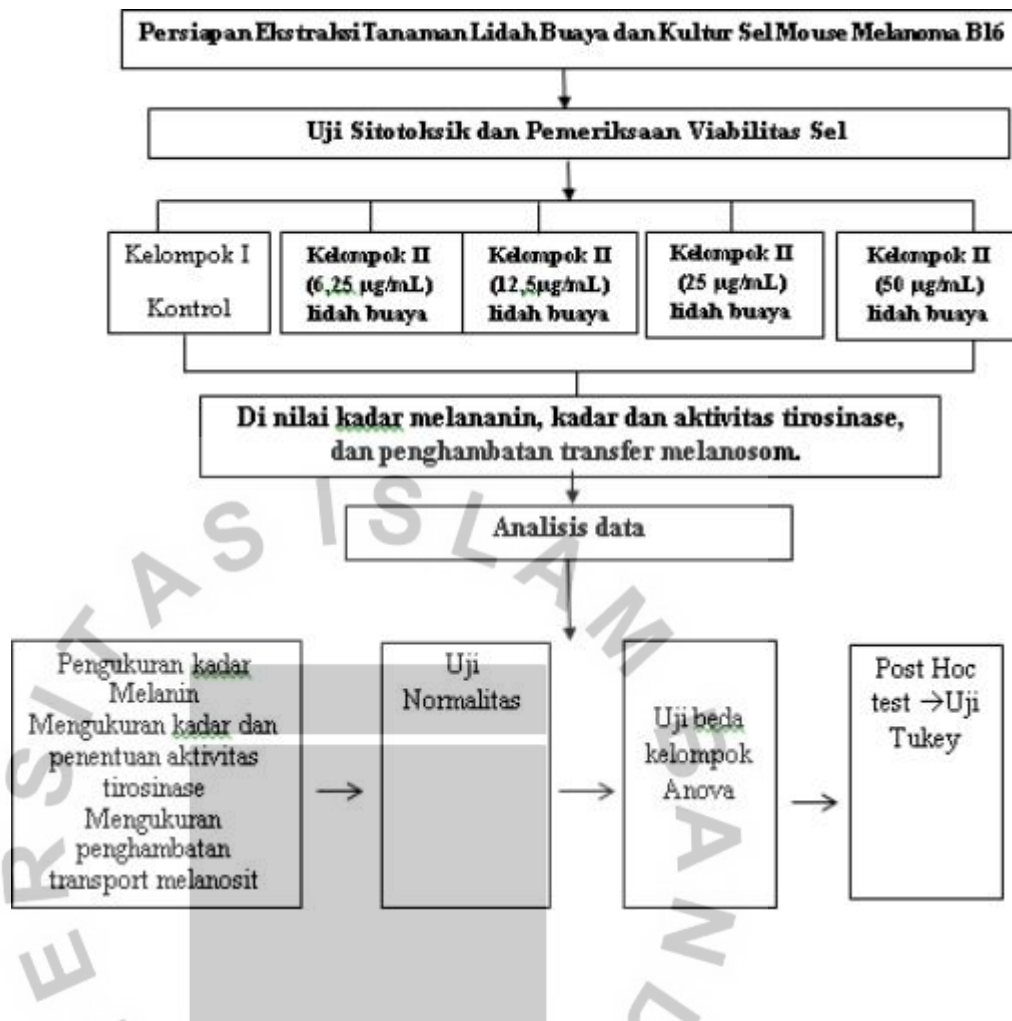
Subjek penelitian ini adalah mouse melanoma B16 cell line, sedangkan bahan uji pada penelitian ini adalah ekstrak etanol dan metanol lidah buaya (Aloe Vera). Aloe Vera diambil dari Kebun Unit Konservasi Budidaya Biofarmaka, Pusat Studi Biofarmaka, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat, Indonesia.

#### Variabel Penelitian

Variabel penelitian pada pada penelitian ini adalah variable bebas, variable terikat dan variable terkendali.

- a. Variabel bebas adalah: konsentrasi senyawa sediaan lidah buaya.
- b. Variabel terikat adalah: kematian sel B16, kadar melanin, konsentrasi tirosinase, aktifitas tirosinase, dan penghambatan transport melanosom.
- c. Variable terkendali adalah: suhu, waktu inkubasi , dan media pertumbuhan sel B16.

## Tahapan Penelitian



Gambar 2. Alur Penelitian

### 4.3 Teknik Pengumpulan Data

- Sitotoksik ditentukan dengan metode MTT
- Kadar dan hambatan Transport melanosit dilihat menggunakan ekspresi gen NfKB dengan qPCR

#### 4.4 Teknik Analisis

Data hasil penelitian akan dipresentasikan data kuantitatif (kadar melanosit, kadar enzim tirosin dan aktivitasnya, serta penghambatan transport melanosit.

Data hasil penelitian akan dipresentasikan berupa hasil dalam bentuk table

,karena data merupakan data numerik, maka perlu dilakukan uji normalitas perkelompok perlakuan. Jika data terdistribusi normal, maka dilakukan uji parametrik berupa uji beda dua kelompok menggunakan annova test (ANOVA). Lalu dilakukan analisis lanjut dengan posthoc untuk melihat pada kelompok paling bermakna. Untuk uji korelasi dilakukan dengan uji Pearson. Jika data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji non parametric.

#### 4.5 Cara Penafsiran

Kadar enzim tirosin dan aktivitasnya, serta penghambatan transport melanosit. tiap kelompok diuji normalitasnya, lalu dirata-ratakan. Rata-rata presentasi antar kelompok dibandingkan menggunakan uji beda. Bila ada salah satu kelompok yang memiliki perbedaan kadar enzim tirosin dan aktivitasnya, serta penghambatan transport melanosit, maka dilakukan uji lanjutan untuk melihat kelompok perlakuan yang paling berbeda dengan kelompok kontrol negatif.

#### 4.6 Teknik Penyimpulan

Bila rata-rata kadar enzim tirosin dan aktivitasnya, serta penghambatan transport melanosit. lebih rendah dan uji beda perbedaan rata-rata kadar enzim tirosin dan aktivitasnya, serta penghambatan transport melanosit. nilai  $P < 0,05$  menunjukkan bahwa senyawa yang dapat menghambat pembentukan melanosit dan efektif sebagai antihiperpigmentasi.

## BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Hasil Penelitian

#### 5.1.1 Aktivitas sitiotoksik Aloe vera pada mouse melanoma

Hasil uji sitotoksik Aloe vera pada kultur sel mouse melanoma B-16 menunjukkan IC50 ekstrak etanol lidah buaya adalah 6565.135 ug/mL, data dapat dilihat pada tabel 5.1

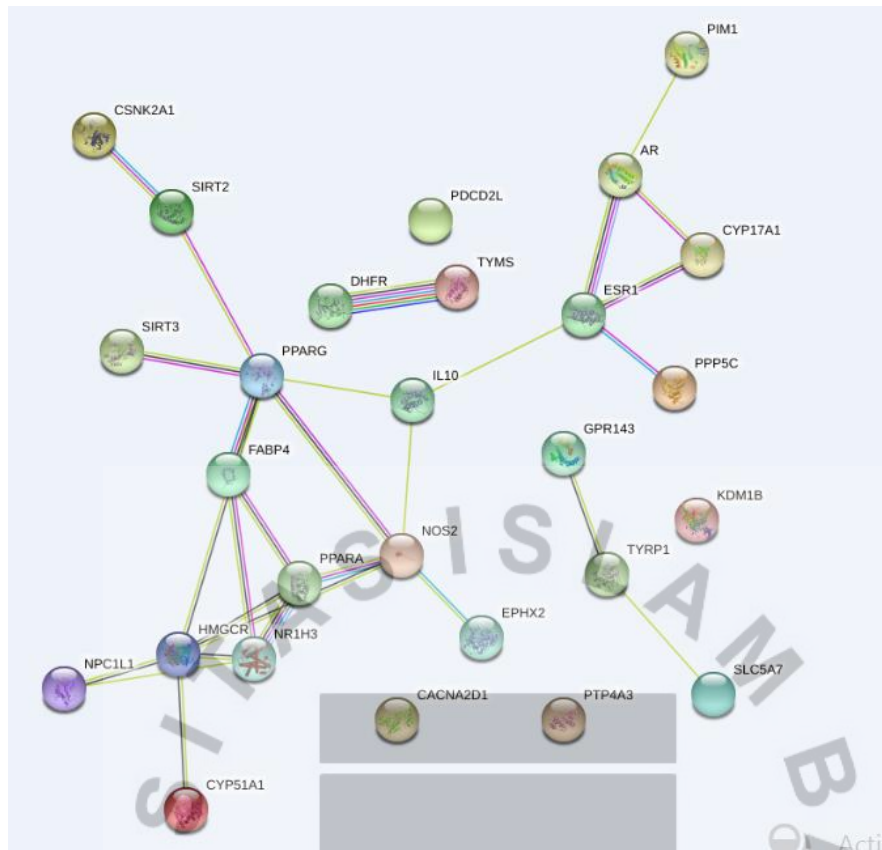
Tabel 5.1 Analisis probit uji sitotoksi

Probability	95% Confidence Limits for konsentrasi		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT <sup>a</sup>			
.010	3.784E8	.	.
.020	1.047E8	.	.
.030	46366171.78	.	.
.040	25115566.75	.	.
.050	15253251.49	.	.
.060	9977422.534	.	.
.070	6876772.875	.	.
.080	4927889.890	.	.
.090	3639490.528	.	.
.100	2753491.867	.	.
.150	867485.639	.	.
.200	346409.205	.	.
.250	157802.681	.	.
.300	77698.716	.	.
.350	40345.380	.	.
.400	21662.932	.	.
.450	11869.025	.	.
.500	6565.317	.	.
.550	3631.586	.	.
.600	1989.730	.	.
.650	1068.360	.	.
.700	554.750	.	.
.750	273.494	.	.
.800	124.429	.	.
.850	49.688	.	.

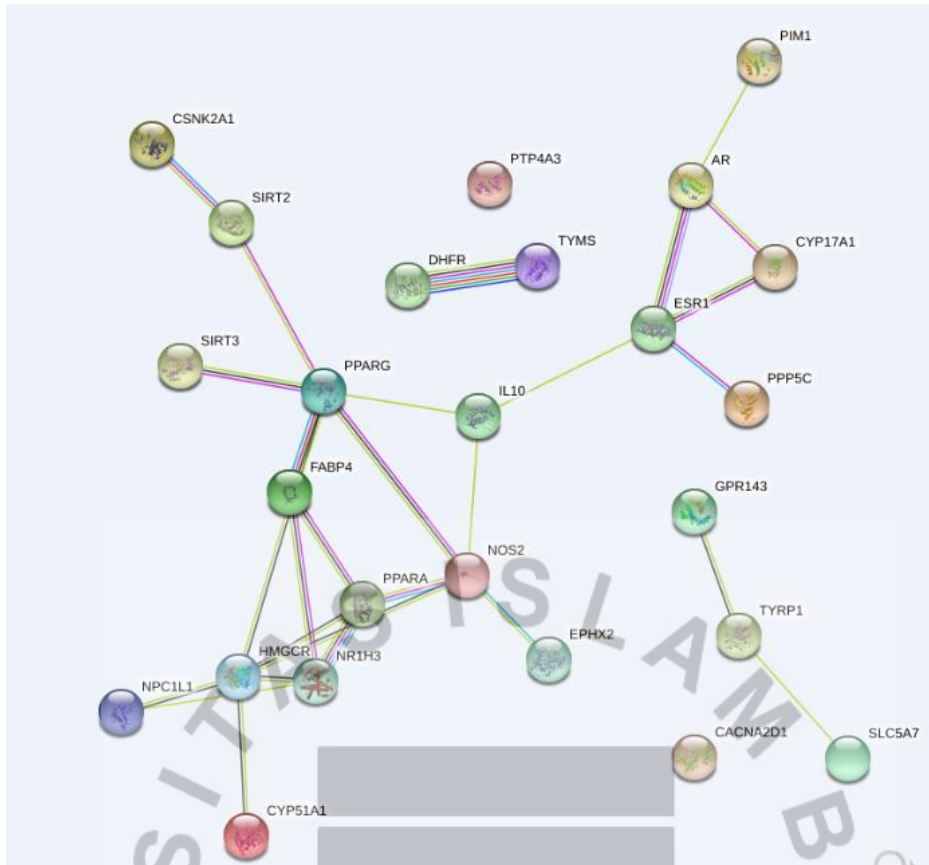
#### 5.1.2. Hasil Uji In silico

Hasil Uji In silico target protein yang berperan pada proses melanogenesis dapat dilihat pada gambar di bawah





Gambar 5.1 Target IL10 dan INOS dari kandungan Aloe vera



Gambar 5.2. Target enzyme tirosinase oleh kandungan lidah buaya

### 5.1.3 Pengukuran Ekspresi Gen NFkB pada Kultur Sel Mouse Melanoma B-16

Setelah dilakukan pengujian dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirsak pada kultur sel mouse melasma B-16, selanjutnya dilakukan pengukuran ekspresi gen NFkB pada 6 kelompok uji menggunakan qRT-PCR. Data yang didapatkan dianalisis dengan metode kuantifikasi relatif metode comparative threshold cycle analysis atau perbandingan delta delta threshold ( $\Delta\Delta CT$  atau DDCT) karena belum ada kurva yang dapat dijadikan standar sehingga tidak digunakan perhitungan secara absolut. Metode ini membandingkan target dengan nilai referensi yang dipilih yaitu level ekspresi housekeeping gene yang sesuai, di mana pada penelitian ini menggunakan gen GAPDH. Agar nilai CT valid, efisiensi pada saat amplifikasi dari gen target harus sama dengan saat amplifikasi gen referensi dalam penelitian ini sama dengan 100%. Nilai yang diperoleh merupakan nilai perbandingan relatif terhadap kontrol

menggunakan perhitungan berdasarkan rumus Livak berikut:

$\Delta\text{CT}$  eksperimen = CT target pada eksperimen - CT housekeeping gene pada eksperimen.

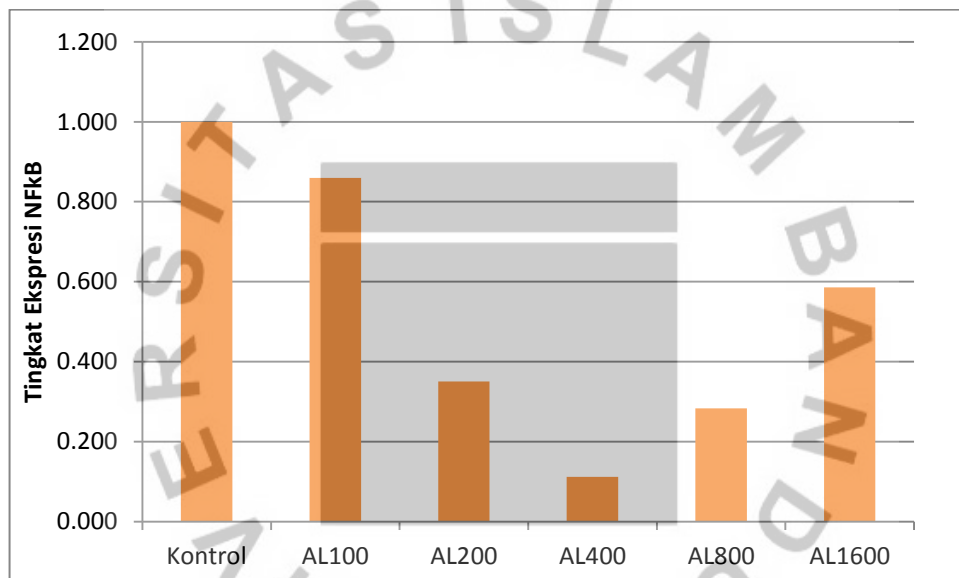
$\Delta\text{CT}$  kontrol = CT target pada kontrol - CT housekeeping gene pada kontrol.

$\Delta\Delta\text{CT}$  =  $\Delta\text{CT}$  kontrol -  $\Delta\text{CT}$  eksperimen

Perbandingan level ekspresi didapat dengan menggunakan persamaan:

Perbandingan level ekspresi =  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$

Hasil analisis ekspresi gen NFkB dapat dilihat pada Gambar 5.3.



**Gambar. 5.3. Analisis Ekspresi Gen NFkB**

Keterangan:

Kontrol: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang tidak diberi ekstrak etanol lidah buaya

AL100: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang diberi ekstrak etanol lidah buaya konsentarsi 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$

AL200: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang diberi ekstrak etanol lidah buaya konsentarsi 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$

AL400: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang diberi ekstrak etanol lidah buaya konsentarsi 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$

AL800: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang diberi ekstrak etanol lidah buaya konsentarsi 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$

AL1600: Kultur sel Mouse Melanoma B-16 yang diberi ekstrak etanol lidah buaya konsentarsi 1600 $\mu\text{g}/\text{mL}$

## 5.2 Pembahasan

Terdapat lebih dari 200 senyawa yang ditemukan di Aloe barbadensis, sekitar 75 di antaranya memiliki aktivitas biologis, daun Aloe Vera mengandung beragam senyawa, termasuk antrakuinon (misalnya alopemodin), antrone dan glikosida mereka (mis. 10- (1, 5 'anhydroglucosyl) - aloemodin-9-anthrone, juga dikenal sebagai aloin A dan B), kromon, bohydrate mobil, protein, glikoprotein, asam amino, asam organik, lipid, gula, vitamin dan mineral. Selama berabad-abad, telah digunakan secara medis untuk berbagai penyakit seperti demam ringan, luka dan luka bakar, gangguan pencernaan, diabetes, vitalitas seksual dan masalah kesuburan untuk kanker, modulasi kekebalan tubuh, AIDS dan berbagai penyakit kulit (30)

Melasma terjadi karena adanya proses pembentukan melanin yang berlebih, sehingga target terapi melasma adalah Penghambatan proliferasi melanosit, menghambat formasi melanosome, meningkatkan degradasi melanosome. Bahan depigmentasi dapat di golongkan berdasarkan cara kerja yaitu (i) menghambat tirosinase atau menghambat transkripsi tirosinase, *Tyrosinase related Protein* (TRP)1, TRP-2 dan peroksidase, (ii) menghambat transfer melanosome (iii) sitotoksik melanosit Transkripsi gen yang mengkode tirosinase di atur oleh *microphthalmia associated transkripsi factor* (MITF). Studi Picardo dan Carrera, telah menunjukkan bahwa aloesin dari Aloe vera bekerja sebagai inhibitor tirosinase yang tidak kompetitif, mempengaruhi aksi kompleks tirosinase di substratum dan mengurangi konversi DOPA menjadi melanin.. Tan et al. dan Cheng et al. telah melaporkan bahwa aloin yang diisolasi dari ekstrak daun A. vera bertindak sebagai pencerah kulit alami yang tidak hanya dapat mengikat enzim tyrosinase tetapi juga pada kompleks enzim-substrat, yang menyebabkan inaktivasi enzim yang mengakibatkan pencerah kulit.(31)

Aloesin (2-acetyl-8-beta-D-glucopyranosyl-7-hydroxy-5-methylchromone) adalah senyawa alami lain, yang diperoleh dari lidah buaya (Aloe barbadensis miller), yang secara kompetitif menghambat tyrosinase. Senyawa ini relatif aman menjadikannya bahan aktif yang menjanjikan sebagai agen pemutih kulit untuk aplikasi kosmetik

penelitian ini mengkonfirmasi komponen A. vera sebagai tyrosinase potensial dan penghambat PMMoV (32)

Aloe (*Xanthorrhoeaceae*), yang terdiri dari sekitar 400 spesies, adalah tanaman abadi yang telah digunakan sebagai obat tradisional selama sekitar 3000 tahun<sup>1</sup>. Spesies yang paling terkenal adalah Aloe vera L., tanaman tanpa batang yang tumbuh hingga 100 cm. Daunnya yang hijau mengandung bahan yang bening, tidak berwarna, dan tidak enak; gel ini digunakan dalam kosmetik, minuman kesehatan dan minuman, dan obat-obatan<sup>1</sup>. Zat yang mengandung A. vera ini terdiri dari 99,5% air dan bahan aktif 0,5%, termasuk vitamin, polisakarida, senyawa fenolik dan asam organik<sup>2</sup>. Gel tanaman ini memiliki banyak aktivitas biologis, termasuk aktivitas anti-inflamasi<sup>3,4</sup>, anti-virus<sup>4</sup>, anti-bakteri<sup>4</sup>, anti-kanker<sup>3,4</sup>, anti-diabetes<sup>4</sup> dan anti-alergi<sup>4</sup>; itu juga memberikan perlindungan terhadap radiasi<sup>4</sup>. Fitokimia utama dalam gel ini adalah turunan dari antrakuinon dan C-glukosilantone: aloin A dan B, emodin, desoksialoin, aloinosida B dan C, dan elgonica dimer A<sup>1,5</sup>. Aloesin, aloe emodin dan aloin A telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan<sup>6</sup>, sedangkan aloinoside B dan C diketahui menghambat aktivitas epoksida hidrolase dan fosfodiesterase-4D<sup>5,7</sup> yang larut. (33)

## BAB. 6 SIMPULAN DAN SARAN

### 6.1 Simpulan

1. Ekstrak Aloe vera tidak bersifat toksik pada sel kultur mouse melanoma
2. Secara *in silico* kandungan lidah buaya berpengaruh pada protein-protein yang berperan pada melanogenesis.
3. EKstrak etanol lidah buaya menurunkan ekspresi gen NF $\kappa$ B kultur sel mouse melanoma B16



## DAFTAR PUSTAKA

1. Sarkar R, Arora P, Garg VK, Sonthalia S, Gokhale N. Melasma update. *Indian dermatology online journal*. 2014;5(4):426.
2. Achar A, Rathi SK. Melasma: a clinico-epidemiological study of 312 cases. *Indian journal of dermatology*. 2011;56(4):380.
3. Handel AC, Miot LDB, Miot HA. Melasma: a clinical and epidemiological review. *Anais brasileiros de dermatologia*. 2014;89(5):771-82.
4. Ali R, Aman S, Nadeem M, Kazmi AH. Quality of life in patients of melasma. *Journal of Pakistan Association of Dermatology*. 2016;23(2):143-8.
5. Handel A, Lima P, Tonolli V, Miot L, Miot HA. Risk factors for facial melasma in women: a case-control study. *British Journal of Dermatology*. 2014;171(3):588-94.
6. Hexsel D, Rodrigues T, Dal'Forno T, Zechmeister-Prado D, Lima M. Melasma and pregnancy in southern Brazil. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2009;23(3):367-8.
7. Moin A, Jabery Z, Fallah N. Prevalence and awareness of melasma during pregnancy. *International journal of dermatology*. 2006;45(3):285-8.
8. Bandyopadhyay D. Topical treatment of melasma. *Indian journal of dermatology*. 2009;54(4):303.
9. Sahu PK, Giri DD, Singh R, Pandey P, Gupta S, Shrivastava AK, et al. Therapeutic and Medicinal Uses of *Aloe vera*: A Review. *Pharmacology & Pharmacy*. 2013;04(08):599-610.
10. Tamega AdA, Miot L, Bonfietti C, Gige T, Marques MEA, Miot HA. Clinical patterns and epidemiological characteristics of facial melasma in Brazilian women. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(2):151-6.
11. Ritter C, Fiss D, Borges da Costa J, de Carvalho R, Bauermann G, Cestari T. Extra-facial melasma: clinical, histopathological, and immunohistochemical case-control study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2013;27(9):1088-94.
12. Guarneri F. Etiopathogenesis of Melasma. *Pigmentary Disorders S*. 2014;1:2376-0427.
13. Prignano F, Ortonne J-P, Buggiani G, Lotti T. Therapeutical approaches in melasma. *Dermatologic clinics*. 2007;25(3):337-42.
14. Lee J, Jung E, Lee J, Huh S, Boo Y, Hyun C, et al. Mechanisms of melanogenesis inhibition by 2, 5-dimethyl-4-hydroxy-3 (2H)-furanone. *British Journal of Dermatology*. 2007;157(2):242-8.
15. Solano F, Briganti S, Picardo M, Ghanem G. Hypopigmenting agents: an updated review on biological, chemical and clinical aspects. *Pigment cell research*. 2006;19(6):550-71.
16. Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature*. 2007;445(7130):843.
17. Chang T-S. An updated review of tyrosinase inhibitors. *International journal of molecular sciences*. 2009;10(6):2440-75.
18. Kondo T, Hearing VJ. Update on the regulation of mammalian melanocyte function and skin pigmentation. *Expert review of dermatology*. 2011;6(1):97-108.
19. Hearing VJ. Determination of melanin synthetic pathways. *The Journal of investigative dermatology*. 2011;131(E1):E8-E11.



20. Kuroda TS, Fukuda M. Rab27A-binding protein Slp2-a is required for peripheral melanosome distribution and elongated cell shape in melanocytes. *Nature cell biology*. 2004;6(12):1195.
21. Borovansky J, Riley PA. *Melanins and Melanosomes: Biosynthesis, Structure, Physiological and Pathological Functions*: John Wiley & Sons; 2011.
22. Huizing M, Helip-Wooley A, Westbroek W, Gunay-Aygun M, Gahl WA. Disorders of lysosome-related organelle biogenesis: clinical and molecular genetics. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2008;9:359-86.
23. Zhu W, Gao J, editors. *The use of botanical extracts as topical skin-lightening agents for the improvement of skin pigmentation disorders*. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*; 2008: Elsevier.
24. Picardo M, Carrera M. New and experimental treatments of cloasma and other hypermelanoses. *Dermatologic Clinics*. 2007;25(3):353-62.
25. Draelos ZD. Skin lightening preparations and the hydroquinone controversy. *Dermatologic Therapy*. 2007;20(5):308-13.
26. Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi M, et al. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment cell research*. 2003;16(6):629-38.
27. Berson DS. Natural antioxidants. *Journal of drugs in dermatology: JDD*. 2008;7(7 Suppl):s7-12.
28. Badreshia-Bansal S, Draelos ZD. Insight into skin lightening cosmeceuticals for women of color. *Journal of drugs in dermatology: JDD*. 2007;6(1):32-9.
29. Boissy RE, Visscher M, DeLong MA. DeoxyArbutin: a novel reversible tyrosinase inhibitor with effective in vivo skin lightening potency. *Experimental dermatology*. 2005;14(8):601-8.
30. BM Gupta, KK MUEen Ahmed, SM Dhawan, Riu Gupta. Aloe Vera (Medicinal plant) research: a scientometric assesment on global publications output during 2007-16. *Pharmacogn J*. 2018;10(1): 1-8
31. Sharique A Ali\* , Ram K Choudhary, Ishrat Naaz and Ayesha S Ali. Understanding the Challenges of Melanogenesis: Key Role of Bioactive Compounds in the Treatment of Hyperpigmentory Disorders. *Pigmentary Disorders J*. 2015, 2:11
32. Sulekha KUMARI, Steven Tien Guan THNG, Navin Kumar VERMA and Hemant K. GAUTAM. Melanogenesis Inhibitors. *Acta Derm Venereol* 2018; 98: 924–931
33. Jang Hoon Kim, Ju-Yeon Yoon, Seo Young Yang, Seung-Kook Choi, Sun Jung Kwon, In Sook Cho, Min Hee Jeong, Young Ho Kim & Gug Seoun Choi Tyrosinase inhibitory component from aloe vera and their antiviral activity. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2017 Dec;32(1):78-83