

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar dan jaringan terluar dari tubuh. Kulit memiliki luas sekitar 16.000 cm<sup>2</sup> pada orang dewasa dan sekitar 8% bagian dari berat tubuh. Fungsi utama kulit adalah sebagai pelindung dari lingkungan luar, sinar ultraviolet, menjaga hidrasi kulit, dan mengatur suhu tubuh. Fungsi kulit dipengaruhi usia, ras, kelamin dan gen. Kulit yang lebih tua cenderung kehilangan fleksibilitas seiring bertambahnya usia. Kulit Negroid atau Mongoloid memiliki kemampuan melindungi dari cahaya lebih baik daripada kulit Kaukasia karena perbedaan jumlah melanin yang menyerap sinar ultraviolet (Pugliese, 2001).

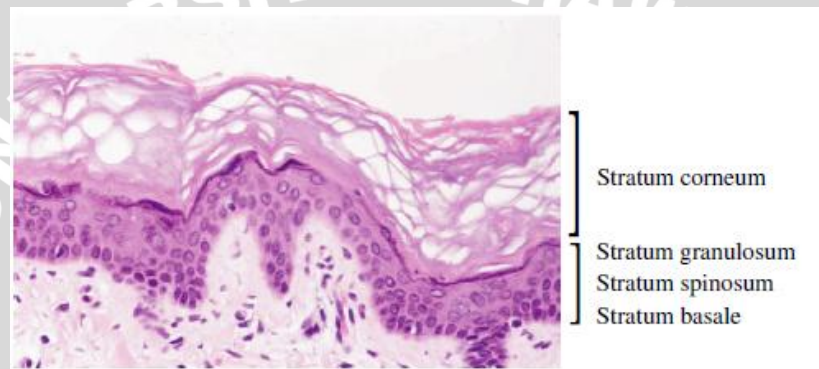
##### 2.1.1 Epidermis

Epidermis adalah lapisan terluar kulit. Rata-rata ketebalannya sekitar 0,2 mm. Melanin terdapat pada epidermis. Melanin merupakan penyerap cahaya paling dominan pada epidermis yang disebut kromofor. Ketika kulit terpapar sinar matahari, melanosom teraktivasi dan memproduksi melanin, kemudian menyebar ke lapisan epidermis, dan bergerak naik menuju permukaan kulit. Melanin dibagi menjadi dua tipe, *eumelanin* dan *pheomelanin*. *Eumelanin* adalah kromofor cokelat hitam atau gelap yang biasanya ditemukan di rambut dan mata. *Pheomelanin* adalah berwarna kuning atau cokelat kemerahan yang terdapat pada rambut (Igarashi, *et, al*, 2005).

Kulit memiliki sel keratinosit yang menghasilkan protein disebut keratin. Keratinosit melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan luar, misalnya stimulasi, gesekan dan mempertahankan kelembaban. Keratinosit dibagi menjadi sel

*basale* dan sel *horny*. Sel *basale* berperan mereproduksi keratinosit. Sel *horny* berperan melindungi dari lingkungan luar. Melanosit membawa melanin untuk menyerap cahaya di kulit. Umumnya ada 1.000-2.000 melanosit dalam 1mm<sup>2</sup> di kulit (Igarashi, *et, al*, 2005).

Epidermis dibagi menjadi lima lapisan. Dari bagian bawah (terdalam) *stratum basale* (lapisan basal), *stratum spinosum* (lapisan prickle), *stratum granulosum* (lapisan granular), *stratum lucidum* dan *stratum corneum* (lapisan *horny*).



**Gambar 2.1. Struktur Epidermis (Igarashi, *et, al*, 2005).**

#### 2.1.1.1 *Stratum basale* (sel basal layer)

*Stratum basale* merupakan lapisan terdalam epidermis yang membentuk batas dengan dermis. Keratinosit diproduksi pada lapisan ini. *Stratum basale* berisi sekitar 8% air. Saat penuaan, *Stratum basale* menjadi lebih tipis dan kehilangan kemampuan untuk mempertahankan air. Melanosit juga terletak pada lapisan ini (Igarashi, *et, al*, 2005).

#### 2.1.1.2. *Stratum spinosum* (prickle sel lapisan)

Sel penghasil antigen ditemukan di *Stratum spinosum* sebagai sistem imun kulit dan memiliki ketebalan sekitar 50-150  $\mu$ m (Igarashi, *et, al*, 2005).

### 2.1.1.3. *Stratum granulosum* (granular sel lapisan)

*Stratum granulosum* terdiri dari 2-4 Lapisan granular sel. Ketebalannya sekitar 3  $\mu\text{m}$ . Pada lapisan ini, terjadi proses keratinosit (Igarashi, *et, al*, 2005).

### 2.1.1.4 *Stratum lucidum*

*Stratum lucidum* hanya dapat ditemukan di telapak kaki dan telapak tangan. Lapisan ini berfungsi sebagai hidrasi kulit (Igarashi, *et, al*, 2005).

### 2.1.1.5 *Stratum corneum* (Lapisan tanduk / *horny*)

Merupakan lapisan terluar epidermis. Ketebalannya antara 8-15  $\mu\text{m}$ . Lapisan ini berfungsi mencegah kulit mengalami dehidrasi. Lapisan tanduk terdapat *ceramide* yang berperan penting dalam retensi air. Lapisan tanduk mengandung *Natural Moisturizing Factor* (NMF) yang berperan dalam mempertahankan kelembaban kulit. Kulit yang tidak memiliki NMF cenderung sangat kering (Igarashi, *et, al*, 2005).

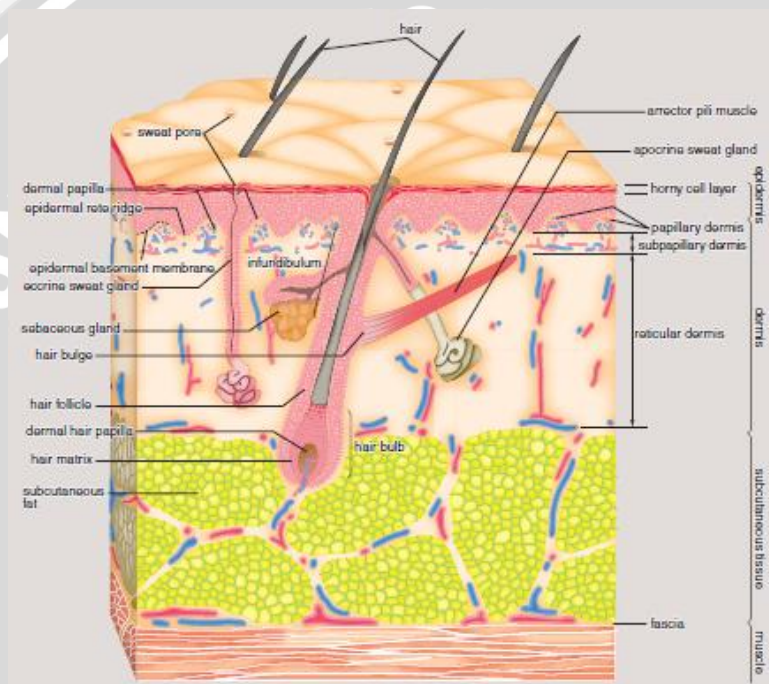
### 2.1.2 Dermis

Dermis adalah lapisan kedua dari kulit, di bawah lapisan epidermis. Lapisan ini lebih tebal dari pada epidermis dengan ketebalan antara 1-4 mm. Komponen utama dermis adalah serat elastin dan kolagen. Serat elastin adalah protein yang terdapat pada dermis (Akazaki, *et, al*, 2002). Serat elastin berperan dalam memberikan dukungan struktural pada dermis (Igarashi, *et, al*, 2005). Serat kolagen adalah serat yang paling banyak ditemukan di dermis yang berfungsi sebagai elastisitas kulit (Alberts, *et, al*, 1998). Elastisitas kulit akan berubah sekitar usia tiga puluh tahun dan akhirnya menimbulkan kerutan (Igarashi, *et, al*, 2005). Dermis memiliki dua lapisan, lapisan *papillary* dan lapisan *retikuler*. Lapisan *papillary* mencakup serabut saraf, kapiler dan air. Pada lapisan ini, serat kolagen membentuk jaringan yang lebih halus daripada lapisan *retikuler*. Lapisan *retikuler* merupakan lapisan bagian bawah dermis. Lapisan

*retikuler* lebih tebal dari pada lapisan *papillary* dan terdapat lebih sedikit serabut saraf dan pembuluh kapiler (Igarashi, *et, al*, 2005).

### 2.1.3 Subkutan

Subkutan, atau hipodermis adalah lapisan ketiga di bawah dermis. Subkutan merupakan lapisan elastis dan memiliki sel lemak yang bekerja pada pembuluh darah dan ujung saraf. Ketebalan lapisan subkutan antara 4-9 mm (Igarashi, *et, al*, 2005).



**Gambar 2.2. Struktur Kulit (Nakagawa, 2001).**

### 2.1.4 Ukuran Vesikel Penetrasi ke dalam Kulit

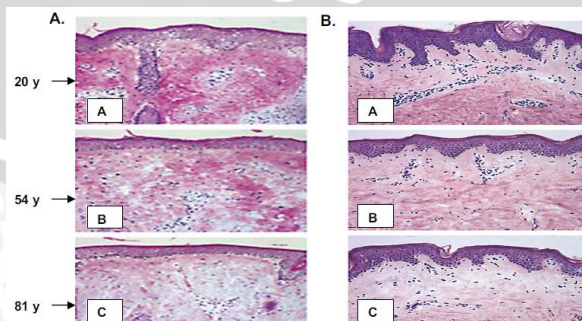
Kemampuan vesikel dalam penetrasi ditentukan oleh ukuran vesikel yang dimiliki, kemampuan penetrasi vesikel ke dalam kulit seperti pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1 Rentang ukuran Vesikel yang dapat Penetrasi ke Dermal (Poland, et al, 2013).**

Size Range (nm) <sup>2</sup>	Minimal Penetration Depth	Reference	Maximal Penetration Depth	Reference
0-5	SC	63,67,68	SB	69
5-10			SC	63,70-74
10-20	SC	22,63,65,66,72-75-79	Dermis	80,81
20-40	SC	63,66,73,82-87	Dermis*	64,84,88,89
40-60	SC	63,73,76	SB	90
60-80	SC	76	Dermis**	64
80-100			SC	22,82
100-250			SC	22,79,82,90,91
250-500			SC <sup>§</sup>	15,82,84,85,90,92
500-1000+			SC <sup>§</sup>	64,89,92

## 2.2. Penuaan

Penuaan adalah suatu proses menghilangnya kemampuan jaringan dalam mempertahankan dan memperbaiki strukturnya secara perlahan-lahan (Cunningham, 2003). Radikal bebas merupakan faktor utama yang mempengaruhi proses penuaan dini. Radikal bebas menyebabkan kerusakan pada kulit dengan merusak enzim antioksidan yang dapat merusak struktur elastin dan kolagen. Manifestasi klinis adanya kerusakan tersebut menyebabkan kulit keriput, kering dan tidak elastis (Fisher, 2002). Penuaan dibagi menjadi penuaan intrinsik dan ekstrinsik :



**Gambar 2.3. Sampel Tiga Kulit Sehat dengan Usia 20 Tahun, 54 Tahun, dan 81 Tahun. Perbedaan Adanya Paparan Matahari (A) dengan Kulit yang Terlindung dari Paparan Sinar Matahari (B) (Chung, Yano et al, 2002).**

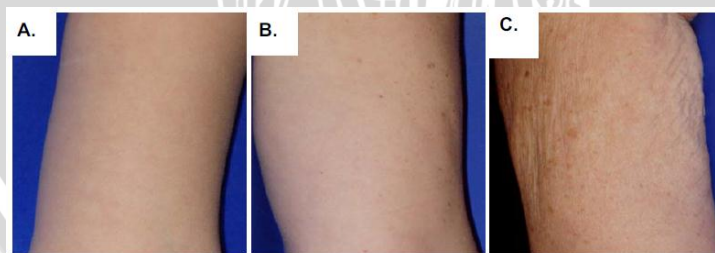


### 2.2.1 Penuaan Intrinsik

Penuaan dipengaruhi oleh faktor pertumbuhan, penurunan estrogen, testosteron, *dehydroepiandrosterone* (DHEA), sulfat ester (DHEAS), melatonin, insulin, kortisol, dan tiroksin seiring bertambahnya usia. Penuaan secara intrinsik tergantung pada waktu. Perubahan terjadi akibat pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Puizina, 2008). Biasanya kulit yang mengalami penuaan akan ditandai dengan kulit yang kurang terhidrasi, kurang elastis dan mudah mengalami iritasi (Farage dan Maibach, 2006). Manifestasi klinis dari penuaan akibat bertambahnya usia: xerosis dan keriput (Puizina, 2008).

### 2.2.2 Penuaan Ekstrinsik

Penuaan ekstrinsik terjadi karena beberapa faktor: radiasi pengion, stres fisik, psikologis, konsumsi alkohol, kurang gizi, pencemaran lingkungan dan paparan radiasi UV. Radiasi UV memberikan pengaruh paling tinggi, sekitar 80% dari masalah penuaan. Radiasi dibagi menjadi UVA dan UVB. UVB (290-320 nm), maupun UVA (320-400 nm) mempengaruhi perubahan kulit yang disebabkan radiasi UV. UVB mempengaruhi perubahan terutama di tingkat epidermis, dimana sebagian besar UVB diserap di lapisan epidermis yang dapat merusak DNA dalam keratinosit dan melanosit (Farage dan Maibach, 2006).



**Gambar 2.4. Kondisi Kulit Salah Satu Orang yang Terpapar UV Bagian Lengan. Foto Diambil dari Usia 10 Tahun (A), 45 Tahun (B) Dan 70 Tahun (C) (Ashcroft et al, 1997).**

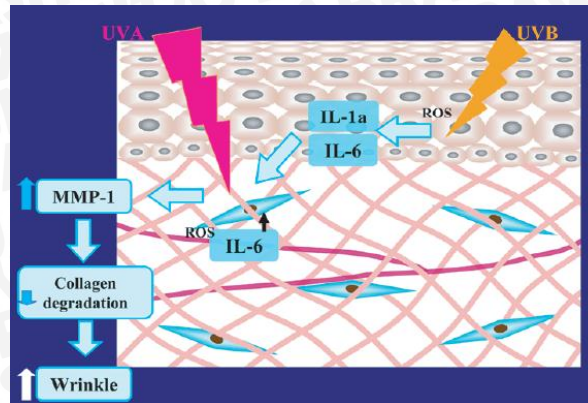
UVB akan mengaktifasi timidin dimer setelah paparan matahari dengan membentuk ikatan kovalen yang kuat. Sel-sel yang terpapar sengatan matahari

selama 8-12 jam akan mengurangi produksi DNA. UVA menembus lebih dalam ke dalam dermis. UVA berperan dalam patogenesis photoaging. Mekanisme radiasi UV menyebabkan penuaan kulit berawal dari Matriks ekstraseluler dermis yang terdiri dari tipe I dan III kolagen, elastin, proteoglikan, dan fibronektin. Photoaging kulit ditandai dengan perubahan jaringan ikat dermal. Adanya Photoaging, fibril kolagen dan elastin akan terakumulasi, tipe I dan III kolagen akan berkurang, sedangkan elastin meningkat (Farage dan Maibach, 2006).

Radiasi UV mendegradasi enzim kolagen, meningkatkan *matrix metalloproteinases* (MMP), dan faktor *Xeroderma Pigmentosum Factor* (XPF). Aktivasi XPF, merupakan tanda awal adanya kerutan. Di dasar kulit yang mengalami keriput. Beberapa MMP yang mendegradasi dermis: MMP-1 yang berikatan dengan kolagen tipe I, II, dan III, dan degradasi MMP-9 (gelatinase) tipe IV dan V dan gelatin (Farage dan Maibach, 2006).

Aktivasi MMP dipicu oleh UVA dan UVB. Radiasi UVA menghasilkan ROS yang mempengaruhi peroksidase lemak dan memutuskan rantai DNA kulit. Radiasi UVB menyebabkan aktivitas MMP dan kerusakan DNA. Kerusakan tipe I dan II memberikan masalah lebih serius dibanding jenis III dan IV karena melanosomes pada lapisan epidermis yang berfungsi sebagai perlindungan UVA dan UVB masih relatif baik (Farage dan Maibach, 2006).

Teori radikal bebas adalah teori yang menjelaskan penyebab penuaan kulit. Senyawa ini terbentuk ketika molekul oksigen ( $O_2$ ) bergabung dengan molekul lain yang menyebabkan elektron tidak stabil. Molekul oksigen akan berikatan dengan elektron stabil, namun salah satu ikatan elektronnya sangat reaktif kemudian akan menyebabkan kematian sel (Farage dan Maibach, 2006).



Gambar 2.5. Hubungan UV-ROS dan Penuaan (Ichihashi, 2009).

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan secara umum dibagi menjadi antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim Superoksida Dismutase (SOD), katalase, dan glutation peroksidase. Antioksidan non-enzimatis dibagi menjadi 2 kelompok: Antioksidan larut lemak, seperti karotenoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin. Antioksidan larut air seperti asam askorbat (Winarsi, 2007)

Antioksidan enzimatis dan non-enzimatis bekerja dengan melawan aktivitas oksidan dalam tubuh. Terjadinya stres oksidatif dapat dihambat oleh enzim-enzim antioksidan dalam tubuh dan antioksidan non-enzimatik. Secara fisiologis, terdapat sistem pertahanan tubuh dari radikal bebas (Winarsi, 2007) :

1. Sistem pertahanan preventif, dilakukan oleh kelompok oksidan sekunder. Pembentukan senyawa ROS dihambat dengan cara pengkelat dan jika sudah terbentuk senyawa akan dirusak.
2. Sistem pertahanan, melalui pemutusan rantai radikal berantai, dilakukan oleh kelompok antioksidan primer.

Berdasarkan mekanisme kerja, terdapat antioksidan primer, sekunder, dan tersier (Winarsi, 2007) :



### 2.3.1 Antioksidan Primer (Antioksidan Endogen / Antioksidan Enzimatis)

Antioksidan primer meliputi enzim Superoksida Dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH-Px). Antioksidan primer bekerja dengan memberikan atom Hidrogen ( $H^+$ ) secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk akan segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil, dan mencegah pembentukan senyawa radikal baru. Sebagai antioksidan, enzim-enzim tersebut akan menghambat pembentukan radikal bebas dengan memutus reaksi berantai kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. Enzim katalase dan glutathion peroksidase bekerja dengan cara mengubah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2$  dan  $O_2$ , sedangkan SOD bekerja dengan cara mengkatalis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi  $H_2O_2$  (Winarsi, 2007).

### 2.3.2 Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogen / Antioksidan Non-Enzimatis)

Terbentuknya senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelat atau dirusak pembentukannya. Antioksidan sekunder bekerja dengan memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas. Antioksidan sekunder meliputi vitamin C, vitamin E, flavonoid (Winarsi, 2007).

### 2.3.3 Antioksidan Tersier

Antioksidan tersier meliputi sistem enzim *DNA-repair* dan metionin sulfoksida reduktase. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas. Kerusakan pada DNA mitokondria mengawali terjadinya penyakit degenerasi kardiovaskuler dan penuaan. Senyawa hidrogen peroksida mampu menghambat pertumbuhan dan apoptosis sel (Winarsi, 2007).

## 2.4. Jeruk Purut

### 2.4.1 Klasifikasi Jeruk Purut

Klasifikasi daun jeruk purut sebagai berikut (Rukmana, 2003) :

Kerajaan	: Plantae
Subkerajaan	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Rosidae
Bangsa	: Sapindales
Suku	: Rutaceae
Marga	: <i>Citrus</i>
Jenis	: <i>Citrus hystrix</i> D.C.



Gambar 2.6. Jeruk Purut (Rukmana, 2003)

### 2.4.2 Habitat dan Morfologi

Jeruk Purut adalah tanaman perdu yang dimanfaatkan terutama buah dan daunnya. Jeruk Purut memiliki nama daerah Jeruk Purut (Sunda), Jeruk Linglang (Bali), Mude Matang Busur (Flores), Usi Ela (Ambon) (Kurniawati, 2010). Tumbuhannya rindang berbentuk pohon kecil (perdu), ranting berduri, dan daunnya berbentuk khas, seperti dua helai yang tersusun vertikal, permukaannya tebal dan licin. Buahnya kecil biasanya berdiameter 2 cm, membulat dengan tonjolan-tonjolan serta permukaan kulitnya kasar dan tebal. Tanaman ini akan

tumbuh subur jika dirawat, disiram dengan cukup air, menyukai tempat yang terpapar sinar matahari yang cukup (Kurniawati, 2010).

#### **2.4.3 Kandungan Daun Jeruk Purut**

Daun jeruk purut mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, terpenoid dan saponin (Umi, 2015). Kulit buah jeruk purut mengandung saponin, tanin (1%) dan steroid (Kurniawati, 2010). Aktivitas antioksidan pada daun jeruk purut menurut Saleh, *et al*, (2010) adalah 1 mg/mL. Daun jeruk purut juga memiliki efek lain, untuk mengatasi badan letih dan lemah dengan menyediakan dua genggam daun jeruk purut segar, direbus dalam 3 L air sampai mendidih, kemudian dituang dalam 1 ember air hangat untuk mandi (Dalimarta, 2000).

### **2.5 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman dengan pelarut yang sesuai. Tujuan ekstraksi adalah untuk mengambil senyawa kimia yang terdapat pada bahan ekstraksi. Ekstraksi berdasarkan perpindahan zat ke dalam pelarut yang sesuai (Depkes RI, 2000).

#### **2.5.1 Metode Dingin**

##### **2.5.1.1 Maserasi**

Maserasi bertujuan mengambil zat yang tidak tahan terhadap pemanasan. Prinsip dasar dari maserasi adalah melarutnya zat yang diinginkan ke dalam pelarut yang sesuai dengan metode difusi. Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan simplisia ke dalam bejana, kemudian direndam dengan pelarut, lalu ditutup dan dibiarkan selama 24 hingga 48 jam, ditempatkan di lokasi yang terlindung dari cahaya sambil diaduk sekali-kali setiap hari lalu diperas dan ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut. Kelebihan dari maserasi yaitu sederhana, alat dan bahan mudah diperoleh, juga dapat mengekstrak zat yang

tidak tahan panas. Kekurangan dari maserasi adalah prosesnya lama jika dibandingkan dengan ekstraksi cara panas (Depkes RI, 2000).

### **2.5.1.2 Perkolasi**

Perkolasi dilakukan dengan cara membasahi simplisia menggunakan pelarut, kemudian mencampurkan simplisia dengan cairan pelarut dalam bejana tertutup. Massa dipindahkan ke dalam perkolator, ditambahkan cairan pelarut. Perkolator ditutup dibiarkan selama 24 jam, namun harus dipastikan simplisia tetap terendam. Pelarut yang digunakan harus ada pergantian secara terus menerus agar terjaga perbedaan gradien konsentrasi. Dalam proses perkolasi proses difusi yang berlangsung dipengaruhi oleh kecepatan perkolasi, kuantitas pelarut, dan konsanta difusi zat dalam pelarut (Depkes RI, 2000).

## **2.5.2 Metode Panas**

### **2.5.2.1 Infus**

Ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air. Bejana infus terendam dalam air mendidih, temperatur dijaga sekitar 96-98°C selama 15 hingga 20 menit (Depkes RI, 2000).

### **2.5.2.2 Soxhletasi**

Ekstraksi dengan cara soxhlet yaitu metode ekstraksi secara berkesinambungan. Cairan pelarut dipanaskan sampai menguap. Uap pelarut akan naik melalui pipa, kemudian diembunkan lagi oleh pendingin. Cairan pelarut turun untuk menyari zat aktif dalam simplisia. Selanjutnya bila cairan penyari mencapai pipa sifon, maka seluruh cairan akan turun ke labu alas bulat dan terjadi proses sirkulasi (Depkes RI, 2000).

### **2.5.2.3 Distilasi Uap**

Merupakan metode distilasi untuk mengambil bahan mudah menguap seperti minyak atsiri dari bahan alam dengan uap air. Distilasi uap dilaksanakan berdasarkan perbedaan tekanan parsial kandungan senyawa yang mudah

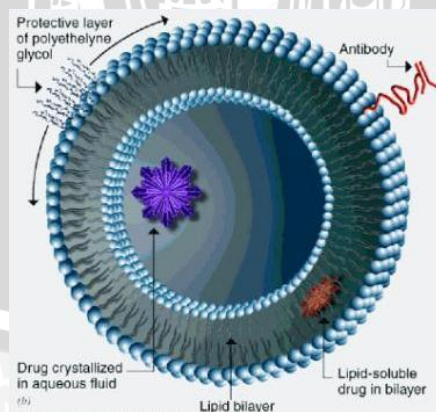
menguap dan fase uap air secara kontinu sampai sempurna dan diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran menjadi destilat air bersama senyawa kandungan (Depkes RI, 2000).

## 2.6 Sistem Penghantaran Obat

Sistem penghantaran Obat secara transdermal membantu pelepasan obat secara terkontrol dan mengurangi masuknya obat ke sirkulasi sistemik. *Penetration enhancer* pada sediaan transdermal dapat mempermudah transfer obat secara topikal melalui kulit. Sistem vesikel merupakan salah satu pendekatan penghantaran obat transdermal (Pratima dan Shailee, 2012).

### 2.6.1 Liposom

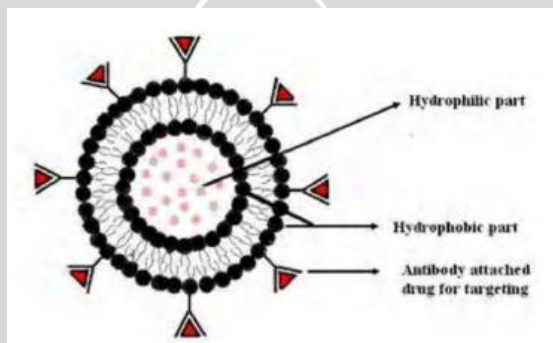
Liposom adalah vesikel sederhana yang dapat merusak membran biologis. Liposom pertama kali diperkenalkan oleh ahli hematologi Inggris Dr. Alec D. Bangham FRS (Pratima dan Shailee, 2012). Vesikel liposom dibagi menjadi 3: vesikel multilamellar, oligolamellar dan unilamellar. Vesikel multilamellar ukurannya  $<0,5 \mu\text{m}$ , vesikel oligolamellar antara  $0,1 - 1,0 \mu\text{m}$ , dan Vesikel unilamellar antara  $20\text{nm}$  sampai  $>100 \text{nm}$  (Dual, *et al*, 2012).



Gambar 2.7 . Struktur Liposom (Gupta, *et al*, 2012).

## 2.6.2 Niosom

Niosom adalah sistem penghantaran obat enkapsulasi dalam vesikel. Vesikel niosom terdiri dari 2 lapis bahan aktif permukaan non-ionik. Niosom secara struktur sama dengan liposom, namun penghantaran obat niosom lebih besar pada target penghantaran. Suspensi vesikel adalah pembawa basis air, akibatnya memberikan kepatuhan lebih tinggi pada pasien dibandingkan dengan bentuk sediaan berminyak. Niosom memiliki rangka dasar terdiri dari bagian hidrofilik, amfifilik, dan lipofilik secara bersama dan hasilnya dapat menyediakan molekul obat dengan kisaran yang besar pada kelarutan (Makeshwar dan Wasankar, 2013).

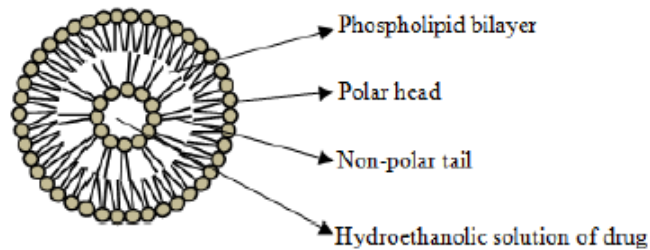


Gambar 2.8. Struktur Niosom (Makeshwar, 2013).

## 2.6.3 Etosom

### 2.6.3.1 Definisi

Etosom adalah sistem penghantaran obat terutama terdiri dari fosfolipid, etanol dan air sebagai pelarut bebas. Adanya etanol mengakibatkan penurunan transisi suhu dari lipid stratum korneum dan meningkatkan fluiditas. Etanol akan berinteraksi dengan kutub polar pada kulit sehingga meningkatkan permeabilitas membran (Jeswani dan Swarnlata, 2014).



**Gambar 2.9. Struktur Etosom (Rakesh, 2014).**

### 2.6.3.2 Keuntungan dan Kerugian Etosom

Keunikan struktur etosom yaitu adanya etanol bersamaan dengan vesikel akan membuat efisiensi penjejakan molekul obat (Dragicevic dan Maibach, 2016).

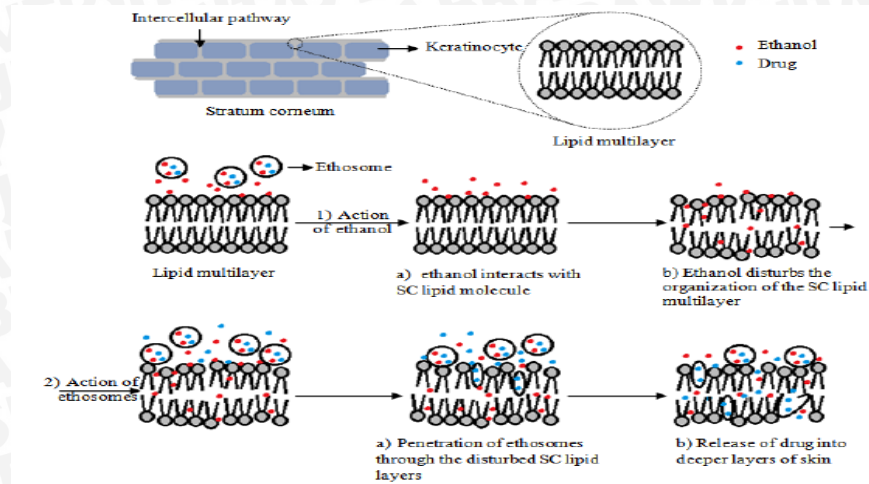
Keuntungan etosom sebagai berikut (Rakesh, 2014) :

1. Menghantarkan obat yang bersifat hidrofil dan lipofilik.
2. komposisi etosom aman dan komponennya telah disetujui dibidang farmasi dan kosmetik.
3. Etosom dapat dikembangkan dalam sediaan setengah padat (gel atau krim) yang dapat meningkatkan kepatuhan pasien

Menurut Kumar, 2016, etosom memiliki kerugian ketika transfer etosom dari lapisan lipid dapat terjadi perubahan konsentrasi bahan obat (Kumar, 2016).

### 2.6.3.3 Mekanisme Penetrasi

Mekanisme penetrasi ke kulit pada etosom ditimbulkan oleh efek etanol dan efek etosom. Efek etanol memiliki sifat permeasi dan mengganggu stratum korneum, mengurangi kepadatan lipid bilayer, kemudian permeabilitas membran akan meningkat. Efek etosom secara fleksibel beinteraksi dengan mengganggu struktur stratum korneum dan meningkatkan penetrasi ke kulit (Rakesh, 2012).



Gambar 2.10. Mekanisme Efek Etanol dan Efek Etosom (Rakesh, 2014).

### 2.6.3.4 Komponen Penyusun

Komponen penyusun etosom pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komponen penyusun Etosom (Kumar, 2016)

Bahan	Contoh	Kegunaan
<b>Fosfolipid</b>	<i>Soya phosphatidyl choline</i> <i>Egg phosphatidyl choline</i> <i>Dipalmityl phosphatidyl choline</i> <i>Distearyl phosphatidyl Choline</i>	Membentuk komponen vesikel
<b>Poli glikol</b>	Propilen glikol	Sebagai <i>penetration enhancer</i> ke kulit
<b>Alkohol</b>	Etanol Isopropil alkohol	Sebagai <i>penetration enhancer</i> ke kulit dan membentuk membran vesikel yang halus
<b>Kolesterol</b>	Kolesterol	Menstabilkan membran vesikel
<b>Pewarna</b>	Rhodamine-123 Rhodamine red Fluorescene Isothiocynate(FITC) 6 – Carboxy fluorescence	Sebagai studi karakterisasi
<b>Pembawa</b>	Karbopol 934	Sebagai pembentuk gel

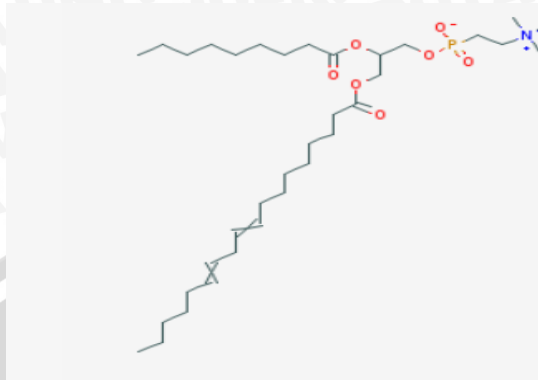
#### 2.6.3.4.1 Bahan Formulasi Etosom

##### 2.6.3.4.1.1 Lesitin Kedelai

Lesitin kedelai digunakan untuk membentuk komponen vesikel. Rentang konsentrasi yang digunakan dalam formulasi etosom yaitu 1-3%. Penggunaan



lesitin telur lebih baik dibandingkan lesitin kedelai karena sesuai dengan pH fisiologis kulit manusia (Jeswani, 2014).

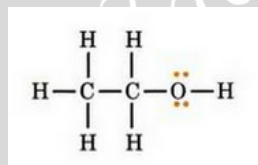


**Gambar 2.11 Struktur Lesitin Telur (Pubchem, 2016).**

#### 2.6.3.4.1.2 Etanol

Etanol digunakan untuk membentuk membran vesikel yang halus. Selain itu etanol berfungsi sebagai penetration enhancer sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel kulit. Rentang penggunaan konsentrasi etanol yang digunakan dalam formulasi etosom yaitu berkisar antara 30-50%. Etanol memiliki rantai pendek dibanding Isopropanol yang menyebabkan etanol lebih larut dalam air yang memudahkan etanol memberikan efek fluiditas (Turner, et, al, 2004).

Etanol sebagai komponen penyusun etosom karena memiliki efek etanol dengan mengganggu stratum korneum, dan meningkatkan permeabilitas membran (Rakesh, 2012).

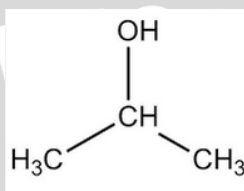


**Gambar 2.12 Struktur Etanol (Muchtaridi dan Sandri, 2006).**

#### 2.6.3.4.1.3 Isopropanol

Golongan alkohol yang digunakan pada etosom adalah etanol dan isopropanol. Keduanya memiliki struktur yang berbeda, pada etanol memiliki

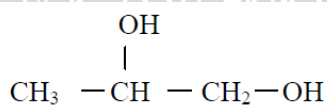
struktur C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O sementara pada Isopropanol C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O. Isopropanol lebih beracun dari etanol. Isopropanol dimetabolisme di hati dan akan menjadi aseton (Turner, et al, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Lecheheb, 2012, menyatakan bahwa penyerapan etanol maupun isopropanol pada 14 orang relawan yang melakukan disinfeksi tangan, adanya isopropanol yang mudah di absorpsi di dermal membahayakan bagi tubuh karena dapat diubah menjadi aseton dan memiliki waktu eliminasi lebih lama dibanding etanol (Lecheheb, et al 2012).



**Gambar 2.13 Struktur Isopropanol (Pudjaatmaka dan Hadyana, 2002).**

#### 2.6.3.4.1.4 Propilen Glikol

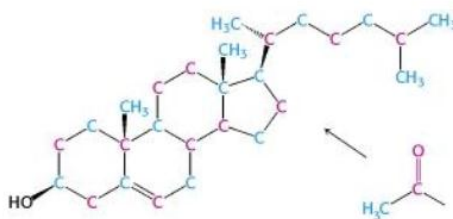
Etosom yang mengandung propilen glikol akan meningkatkan penetrasi obat ke jaringan kulit yang lebih dalam yang dapat memberikan efek secara sistemik, pada penelitian ini akan membantu peran etanol untuk penetrasi menuju dermis. Sifat propilen glikol mudah larut dalam air dingin dan air panas memudahkan dalam pembuatan etosom. Rentang penggunaan propilen glikol sebagai *penetration enhancer* 10% (b/v) (Jain, 2011).



**Gambar 2.14 Struktur Propilen Glikol (Barel et, al, 2001).**

#### 2.6.3.4.1.5 Kolesterol

Kolesterol pada pembuatan etosom digunakan dalam rentang 0,1-1% (b/v). Kolesterol berperan menstabilkan membran vesikel ketika penetrasi ke dermis (Shelke, et al, 2015).



**Gambar 2.15 Struktur Kolesterol (Berg *et,al*, 2002).**

### **2.6.3.5 Metode Pembuatan Etosom**

#### **2.6.3.5.1 Metode Panas**

Mendispersikan fosfolipid (Soya) dalam penangas aquades bersuhu 40°C sampai terbentuk koloid. Dalam wadah terpisah, etanol dan propilen glikol dicampur dan dipanaskan sampai 40°C. Setelah keduanya mencapai 40°C, etanol dan propilen glikol ditambahkan ke Soya dan aquades. Ekstrak dilarutkan dalam etanol karena sifat polaritasnya sama (Pratima dan Shailee, 2012). Campuran di stirer 700 rpm minimal selama 5 menit (Charyulu, *et al*, 2013). Ukuran vesikel etosom akan menurun menggunakan metode sonikasi. Etosom disonikasi pada suhu 40°C menggunakan Sonikator dalam 3 siklus selama 5 menit dan rentang tiap siklus 5 menit (Pratima dan Shailee, 2012).

#### **2.6.3.5.2 Metode Dingin**

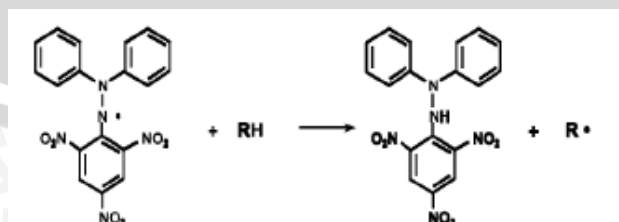
Metode dingin merupakan metode yang paling umum digunakan untuk formulasi etosom. Soya, Ekstrak, dan Kolesterol dilarutkan dalam etanol 85% pada suhu ruang dalam wadah tertutup dengan pengadukan yang kuat menggunakan stirrer dengan kecepatan 700 rpm. Propilen glikol ditambahkan selama pengadukan. Campuran dipanaskan sampai 40°C dalam penangas aquades. Dalam wadah terpisah, aquades dipanaskan sampai 30°C dan ditambahkan ke campuran (Soya, Ekstrak, Kolesterol, Etanol 85%, propilen glikol) kemudian diaduk selama 5 menit dengan kecepatan 700 rpm dalam

wadah tertutup. Ukuran vesikel etosom akan menurun menggunakan metode sonikasi (Pratima dan Shailee, 2012).

## 2.7 Metode Uji Nilai Antioksidan

### 2.7.1 Metode $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH)

Metode penentuan antioksidan yang dapat digunakan pada antipenuaan adalah  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl (DPPH). Metode DPPH banyak digunakan sebagai penentuan kadar antioksidan pada antipenuaan karena memiliki aktivitas *scavenging* dengan menerima elektron atau  $H^+$  radikal agar menjadi molekul stabil. Metode DPPH merupakan metode yang cepat, akurat, sederhana, murah, digunakan untuk mengukur kemampuan senyawa yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas (Kedare, 2011). Korelasi antara kadar senyawa golongan fenolik atau flavonoid dengan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH sangat tinggi. Larutan DPPH berwarna ungu akan memberikan serapan absorbansi maksimum pada panjang gelombang 520 nm. Peredaman warna DPPH terjadi karena adanya senyawa yang dapat memberikan radikal hidrogen kepada radikal DPPH (*1,1-diphenil- 2-pikrilhidrazil*) sehingga tereduksi menjadi DPPH-H (*1,1-diphenil-2-pikrilhidrazin*). Larutan DPPH akan mengoksidasi senyawa dalam ekstrak tanaman yang ditandai dengan memudarnya warna larutan dari ungu menjadi kuning (Prakash, 2001).



Gambar 2.16 . Reaksi Penangkapan Hidrogen oleh DPPH (Prakash, 2001).

### 2.7.2 Metode *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP)

Metode lain yang dapat menentukan nilai antioksidan adalah Metode FRAP dengan menggunakan  $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$  kompleks besiligan 2,4,6-tripiridil-triazin sebagai pereaksi. Kompleks biru  $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{3+}$  akan berfungsi sebagai zat pengoksidasi dan akan mengalami reduksi menjadi  $\text{Fe}(\text{TPTZ})_2^{2+}$  yang berwarna kuning. Namun aktivitas FRAP lebih kecil dibandingkan DPPH karena larutan FRAP bersifat kurang stabil sehingga harus dibuat secara segera dan harus segera digunakan (Then, *et al*, 2003).

### 2.8. Klasifikasi Nilai Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah sifatnya yang mudah rusak jika terpapar oksigen, cahaya, suhu tinggi, dan pengeringan. Aktivitas antioksidan dibagi berdasarkan nilai IC 50, rentang masing-masing nilai IC 50 memiliki interpretasi yang berbeda seperti pada Tabel 2.3 (Ariyanto, 2006).

**Tabel 2.3 Klasifikasi Nilai Antioksidan Berdasarkan IC 50 (Ariyanto, 2006).**

Nilai Antioksidan	Interpretasi
IC 50 < 50 ppm	Sangat Kuat
50-100 ppm	Kuat
101-150 ppm	Sedang
IC 50 > 150 ppm	Lemah