

BAB II

KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA PEMIKIRAN, DAN HIPOTESIS

2.1. Kajian Pustaka

2.1.1. *Skin Aging* dan *Antiaging*: Pengertian dan Mekanisme *Skin Aging*

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia, memiliki 3 lapisan yaitu epidermis, dermis dan subkutan.^{6,23} Layaknya organ lain, kulit juga mengalami proses penuaan.³ Penuaan adalah proses penurunan progresif dalam fungsi maksimal dan kapasitas cadangan semua organ dalam tubuh, termasuk kulit.³ Semua jaringan pembentuk struktur kulit mengalami penuaan seperti matriks ekstraseluler (MES), fibroblas, jaringan elastis dan sebagainya.^{4-6,24} Penuaan kulit mencakup 2 proses yaitu secara intrinsik (*chronologic*) dan ekstrinsik (*photoaging*).^{3,25}

Penuaan intrinsik didasari oleh perubahan waktu, ini adalah alasan mengapa sering disebut juga dengan proses secara *chronologic*.³ Perubahannya terjadi akibat dari kerusakan endogen secara kumulatif karena pembentukan berkelanjutan dari ROS, yang dihasilkan oleh metabolisme seluler oksidatif.^{3,7} Penuaan intrinsik kulit terjadi sebagai konsekuensi alami dari perubahan fisiologis dari waktu ke waktu namun tidak dapat diubah.²⁵ Penuaan intrinsik ditandai dengan kerutan halus dan epidermis yang menipis.⁶

Penuaan ekstrinsik adalah perubahan yang disebabkan oleh gangguan lingkungan bersifat kronis contohnya paparan sinar matahari.³ Penuaan ekstrinsik

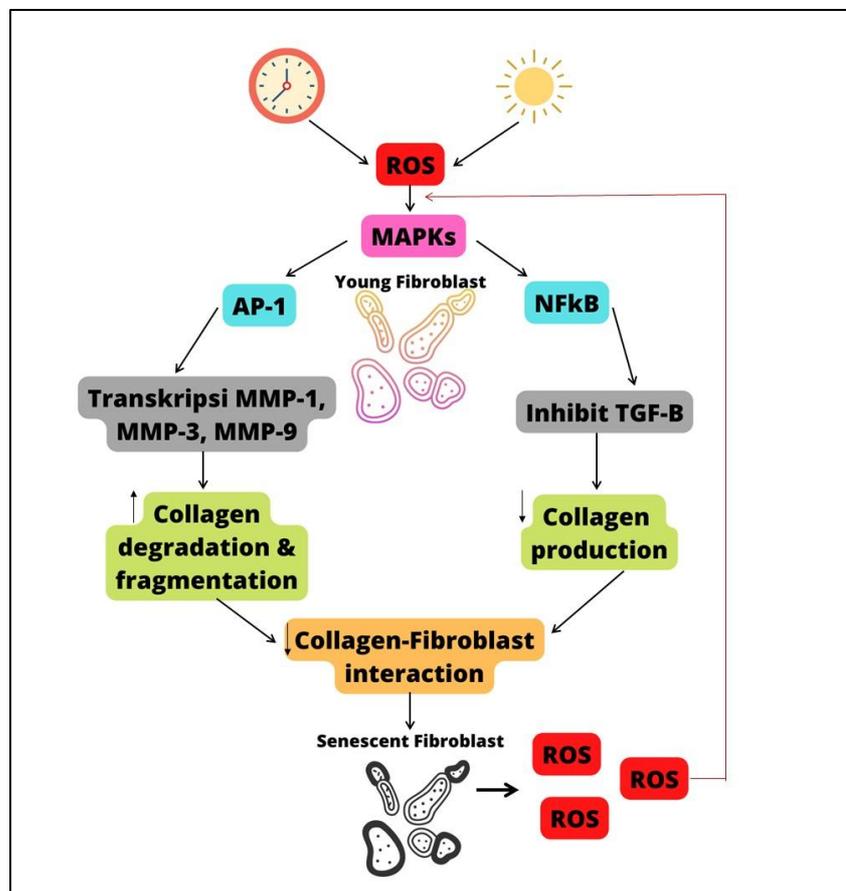
berkembang karena beberapa faktor, seperti radiasi ionisasi, stres fisik dan psikologis yang kronis, asupan alkohol, gizi buruk, makan berlebihan, polusi lingkungan, dan paparan radiasi UV. Radiasi UV berkontribusi sekitar 80% dari faktor lain, hal ini yang mencerminkan peran besar sinar matahari terhadap proses penuaan ekstrinsik sehingga sering disebut *photoaging*.^{3,7} Faktor-faktor tersebut tidak bersifat mutlak tetapi dapat dikontrol, termasuk paparan sinar matahari, polusi atau nikotin, gerakan otot berulang seperti menyipitkan mata atau mengerutkan kening, dan komponen gaya hidup lainnya seperti diet, posisi tidur, dan kesehatan secara keseluruhan.²⁵ Berbeda dengan tanda penuaan intrinsik, penuaan ekstrinsik ditandai dengan kerutan yang lebih dalam (*wrinkling*), kekenduran kulit dan hiperpigmentasi yang disebabkan oleh paparan sinar matahari secara kronis.^{3,6,23}

Kulit seperti organ tubuh lain yang terus-menerus terpapar ROS yang dihasilkan dari sumber ekstrinsik dan intrinsik, seperti radiasi UV dan pro-oksidan secara metabolik.^{3,6} Meskipun secara endogen kulit mengandung jaringan enzim dan molekul nonenzimatik antioksidan seperti superoksida dismutase dan vitamin E, sistem ini tidak sepenuhnya efektif dan cenderung memburuk seiring bertambahnya usia.³

Mekanisme penuaan kulit ini terjadi dengan adanya perubahan fibroblas, kolagen dan serat elastis akibat ROS yang dihasilkan dari proses penuaan. Proses ini mengaktifkan *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) dan merangsang faktor transkripsi, termasuk *activator protein 1* (AP-1) yang memainkan peran penting dalam regulasi transkripsi dari MMP-1, MMP-3, dan MMP-9. Sedangkan

nuclear factor-κB (NF- κB) sebagai mediator respon terhadap iradiasi UV (photoaging). Selain itu, proses upregulasi MMP-1 dan MMP-3 juga terjadi pada fibroblas dermal.⁶

MMP-1 adalah protease utama yang memulai fragmentasi serat kolagen sebagai enzim *collagenase*, yang didominasi tipe I dan III. Setelah pembelahan oleh MMP-1, kolagen dapat didegradasi lebih lanjut oleh MMP-3 dan MMP-9.^{5,6}



Gambar 2.1 Mekanisme penuaan Kulit.⁶

Aktivasi *activator protein 1* (AP-1) dan *nuclear factor-κB* (NF-κB) meningkatkan ekspresi MMP dan menghambat sinyal *transforming growth factor-β* (TGF-β), yang mengarah pada fragmentasi dan reduksi biosintetik kolagen.⁶ Kontak antara fibroblas dalam MES menurunkan ukuran fibroblas

dermal.⁶ Fibroblas yang lebih tua menghasilkan jumlah ROS yang lebih besar sehingga dapat mengekspresikan MMP dan menghambat jalur sinyal TGF— β , hal ini yang menyebabkan umpan balik positif sehingga mempercepat penuaan kulit.⁶ *Metalloprotease* dapat diinduksi oleh kerusakan oksidatif dan proses glikasi yang dapat merusak integritas kolagen dan jaringan elastis baik pada kulit maupun pembuluh darah.³ Proses glikasi ini dapat terhambat dengan adanya antioksidan pada organ tersebut.³

Hialuronidase adalah enzim yang memecah atau mendegradasikan asam hialuronat (AH) yang merupakan salah satu fibroblas dalam memproduksi komponen MES.^{8,26} AH adalah polimer linier sederhana yang merupakan disakarida sederhana diulang ribuan kali, sehingga menciptakan molekul hidrofilik besar yang memberikan hidrasi, berkontribusi pada turgor dan fleksibilitas kulit yang sehat.²⁴ Degradasi AH oleh hialuronidase berkaitan dengan hilangnya kelembapan kulit, seperti yang biasa ditemukan pada kulit yang menua.¹⁴

Proteolitik lain yang terlibat dalam degradasi MES adalah elastase yang berperan penting dalam pemecahan elastin, protein penting yang ditemukan dalam MES.²⁷ Elastin berperan dalam elastisitas kulit, seiring bertambahnya usia sifat elastisitas kulit sangat berdampak pada estetika dan kesehatan kulit.²⁸ Efek *antiaging* dengan menghambat aktivitas enzim elastase berguna untuk mencegah hilangnya elastisitas kulit dan munculnya kekenduran.²⁷

Enzim tirosinase adalah enzim paling penting pada proses sintesis melanin yang berperan dalam perlindungan kulit dari UV.¹⁶ Peningkatan produksi melanin

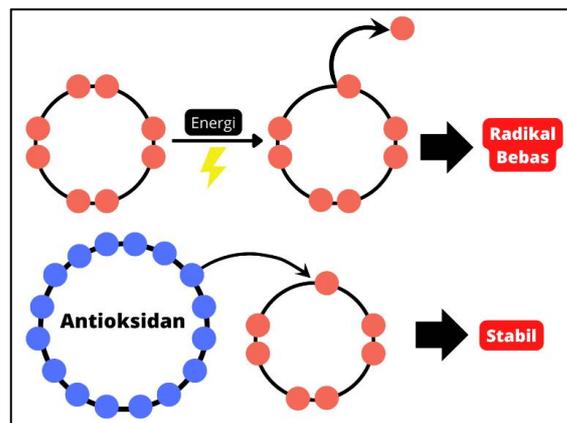
dapat menyebabkan hiperpigmentasi kulit.^{13,16,29} Proses depigmentasi kulit dapat dilakukan dengan penghambatan dari aktivitas enzim tirosinase.¹⁶ Pada penelitian sebelumnya, beberapa senyawa fitokimia temu kunci ditemukan memiliki aktivitas yang kuat dalam menghambat melanogenesis.¹³

2.1.2. Radikal Bebas dan Antioksidan: Mekanisme Radikal Bebas dan Antioksidan

Kulit berfungsi sebagai organ pelindung yang memainkan peran penting dalam mempertahankan homeostasis dan paparan toksik baik eksternal maupun internal yang memicu pembentukan radikal bebas.⁹ Radikal bebas terbentuk ketika molekul oksigen memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan.³⁰ ROS terbentuk oleh sel-sel organisme aerobik dan dapat menginisiasi reaksi autokatalitik hal ini bersifat progresif seiring dengan penambahan usia.⁴ Molekul yang bereaksi dengan ROS akan diubah menjadi radikal bebas dan menyebabkan kerusakan sel yang lebih luas.⁴ Pembentukan ROS dapat menginisiasi proses stres oksidatif yang berperan sebagai faktor penting dalam memodulasi perubahan pada proses penuaan kulit.^{4,6}

Antioksidan adalah molekul yang menjadi penghambat proses oksidasi meski dengan konsentrasi yang kecil.³⁰ Pembentukan antioksidan secara fisiologis berperan dalam menyeimbangkan antara faktor prooksidan dan antioksidan.³⁰ Molekul ini mampu menstabilkan atau menonaktifkan radikal bebas sebelum menyerang sel, dan menghambat ataupun menunda oksidasi.⁴

Molekul oksigen yang tidak berpasangan akan mencari dan merebut elektron untuk melepaskan energi ekstra agar kembali ke kondisi stabil. Reaksi oksidasi akan terus berlanjut apabila radikal bebas tidak berikatan dengan antioksidan sehingga membentuk kaskade yang menyebabkan kerusakan sel dan menginduksi penuaan.³⁰



Gambar 2.2 Mekanisme antioksidan menetralkan radikal bebas.³⁰

Antioksidan secara umum diklasifikasikan menjadi endogen dan eksogen.⁹ Meskipun memiliki antioksidan endogen, tubuh tetap membutuhkan suplementasi nutrisi secara eksogen sebagai pendukung antioksidan endogen.³ Contoh jenis eksogen yang saat ini biasanya dikonsumsi berasal dari buah-buahan dan tanaman herbal yang mengandung banyak vitamin dan flavonoid alami yang baik sebagai antioksidan non-enzimatik.^{3,4}

Tanaman memiliki banyak kandungan natural flavonoid dengan kadar antioksidan yang tinggi.³ Hal ini juga disebutkan dalam beberapa penelitian sebelumnya mengenai beberapa tumbuhan seperti kulit manggis, ubi, dan kayu secang yang terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antioksidan.^{29,31,32}

2.1.3. Temu Kunci: Taksonomi, Morfologi, Kandungan dan Fungsi Fitokimia

Temu Kunci

Temu kunci merupakan tanaman asli daerah tropis seperti Asia Utara, Asia Tenggara dan China termasuk Indonesia.¹⁸ Biasanya digunakan sebagai bumbu masakan, pengobatan tradisional pasca melahirkan, keputihan bahkan membantu kecantikan gadis remaja dan sebagai obat pencegah keputihan bagi wanita.³³ Temu kunci merupakan famili *Zingiberaceae* dengan genus *Boesenbergia* dan spesies *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.^{34,35}

Daun temu kunci ini lebar dengan warna hijau muda, sedangkan pelepah daunnya berwarna merah. Terdiri dari 3-5 helai daun berbentuk elips-lonjong berselubung merah dengan lebar sekitar 7-9 cm dan panjangnya sekitar 10-20cm pada masing-masing tunasnya.³³ Helai daun berdiri tegak dengan ujung daunnya runcing, permukaannya halus tetapi agak berambut pada bagian bawahnya.¹⁷ Daunnya digunakan oleh penduduk setempat untuk meredakan alergi dan keracunan makanan.³³

Rimpang temu kunci berada di bawah tanah berbentuk bulat dengan diameter 1,5-2 cm, terkadang berbentuk ramping seperti jari tangan sehingga sering dikenal dengan “*fingerroot*” berwarna coklat luarnya dan kuning di bagian dalam.^{33,36} Biasanya rimpang dipanen setelah tanaman berusia sembilan bulan.¹⁷ Tanaman ini banyak tumbuh dari daerah tropis dataran rendah dan lembab yang memiliki udara dan tata air yang baik dengan tanah yang subur.³⁵ Biasanya berbunga pada bulan Januari-Februari dan April-Juni. Habitat tanaman ini adalah tumbuh liar seperti di hutan-hutan jati.³⁵ Rasa dari rimpang temu kunci ini sedikit pahit tapi

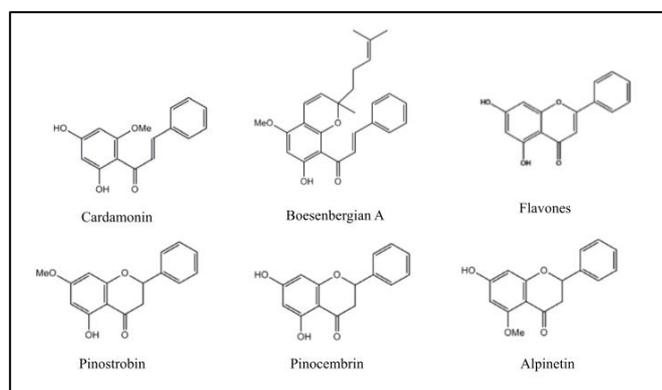
menyegarkan. Memiliki aroma lebih kuat daripada kencur dan kunyit serta sangat spesifik.¹⁷ Rimpang temu kunci digunakan penduduk Thailand untuk mengobati penyakit radang, sebagai antijamur, antiparasit, dan *aphrodisiac*.³³ (Gambar 2.5)

Pada penelitian sebelumnya rimpang temu kunci merupakan organ dengan manfaat biologis paling banyak diantara organ lainnya, juga didukung dengan banyaknya kandungan fitokimia yang ditemukan dalam rimpang temu kunci salah satunya flavonoid.^{13,33,37,38}



Gambar 2.3 Morfologi rimpang temu kunci.^{28,30}

Flavonoid adalah salah satu contoh antioksidan yang banyak dijumpai pada komposisi tanaman tradisional atau herbal.^{9,30} Begitupun dengan tanaman temu kunci, kandungan kimia dalam tanaman temu kunci terdiri berbagai minyak atsiri atau *essential oil* (EO), beberapa senyawa flavonoid, alkaloid dan *polyfenol* yang telah menunjukkan banyak aktivitas biologis.^{13,21}



Gambar 2.4 Beberapa struktur senyawa aktif pada temu kunci.¹³

Flavonoid merupakan metabolit sekunder berukuran besar yang terdapat pada rimpang temu kunci.³⁸ Lebih dari 51 flavonoid dari temu kunci telah diisolasi dan dikonfirmasi strukturnya.¹³ Namun hanya terdapat 3 jenis utama flavonoid dalam temu kunci yaitu *chalcones* (cardamonin & Boesenbergian A), *flavanones* (pinostrobin, pinocembrin dan alpinetin), and *flavones*.^{13,21} Pinostrobin merupakan jenis flavanones paling dominan dari kandungan dalam temu kunci.³⁸ Dalam Farmakope Herbal Indonesia, senyawa pinostrobin digunakan sebagai senyawa penanda dalam pemeriksaan profil metabolit dari botani, ekstrak dan sediaan herbal rimpang temu kunci.¹³

Pada penelitian sebelumnya oleh Chahyadi,dkk tahun 2014 kandungan fitokimia ekstrak temu kunci memiliki efek protektif sebagai *antiaging* pada sel fibroblas kulit terhadap radiasi UV. Sinar UV menginduksi *photoaging* dengan mengatur aktivitas MMP dan mengurangi sintesis kolagen.¹³ Dalam kisaran 0,001 hingga 0,1 M, dapat mengurangi efek radiasi UV pada sel fibroblas dengan mengurangi ekspresi MMP-1 dan meningkatkan ekspresi prokolagen tipe-1. Dikemukakan bahwa didapati hasil yang signifikan dalam mengurangi ekspresi MMP-1 yang diinduksi UV.¹³ Hal ini juga didukung dengan adanya efek penghambatan pada ekstrak temu kunci dalam biosintesis melanogenesis dan aktivitas tirosinase yang memiliki aktivitas kuat dalam menghambat melanogenesis yang juga berperan dalam proses penuaan.¹³

2.1.4. *Molecular Docking*

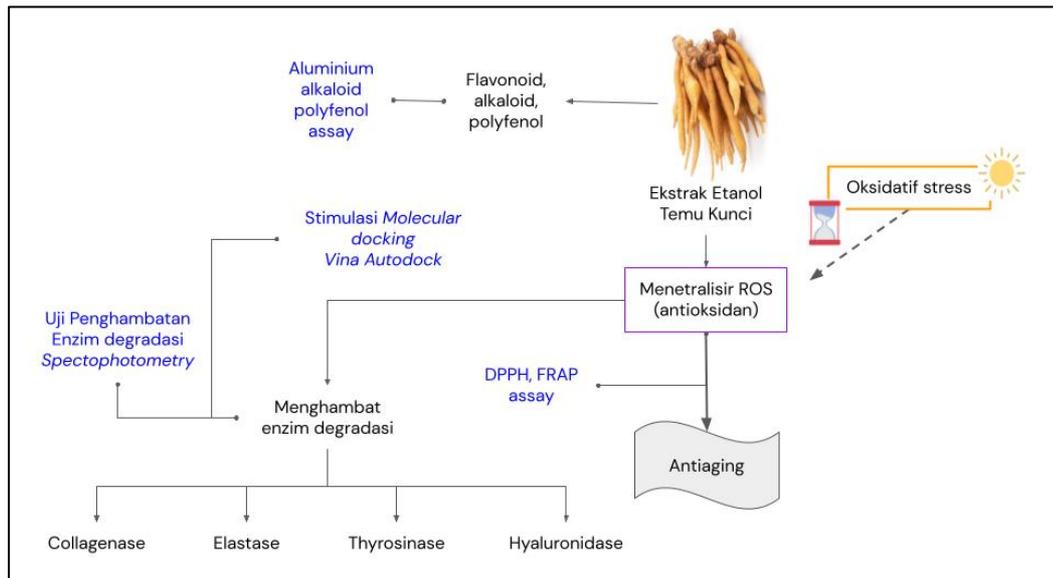
Molecular docking adalah program komputerisasi yang mensimulasikan interaksi yang terjadi ketika protein bertemu dengan substrat, inhibitor, atau ligan lainnya.³⁹ Uji ini dapat dilakukan menggunakan berbagai aplikasi dan jenis tampilan seperti 2D atau 3D.^{29,40,41} Simulasi *molecular docking* dilakukan untuk mengetahui kemungkinan cara pengikatan kandungan fitokimia temu kunci terhadap protein yang berkaitan dengan proses penuaan dimodelkan dengan menggunakan *molecular docking*.²⁹

2.2. Kerangka Pemikiran

Temu kunci memiliki kandungan Flavonoid yang dapat berperan sebagai antioksidan eksogen.³⁸ Zat aktif pada ekstrak temu kunci memberikan efek *antiaging* dengan menghambat aktivitas ROS sebagai hasil dari proses penuaan.^{13,21} Kandungan flavonoid yang menghambat ROS dari jalur ekstrinsik dan intrinsik juga akan menghambat aktivitas enzim elastase, kollagenase, tirosinase, dan hialuronidase.^{13,21,36,42} Dengan penghambatan ROS dan enzim degradasi yang memungkinkan temu kunci menjadi salah satu antioksidan yang berpotensi memiliki efek penuaan pada kulit.^{13,16,32}

Pada penelitian ini yang akan dilakukan adalah mendeskripsikan potensi kandungan aktif dalam ekstrak etanol temu kunci untuk melihat efek *antiaging* pada kulit dengan penghambatan berbagai enzim degradasi yang berperan dalam proses penuaan kulit.

Berdasarkan uraian diatas dapat disusun kerangka pemikiran dalam penelitian ini yaitu:



Gambar 2. 5 Diagram Kerangka Pemikiran Penelitian.^{5,13,16,21,29,43,44}

2.3. Hipotesis

1. Ekstrak temu kunci memiliki kandungan fitokimia yang bersifat antioksidan.
2. Ekstrak temu kunci dapat menghambat aktivitas enzim yang menginduksi proses penuaan akibat oksidatif stress.
3. Ekstrak temu kunci memiliki sifat antioksidan yang berperan sebagai *antiaging* kulit.