

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Melasma merupakan kondisi hiperpigmentasi pada kulit wajah. Melasma berasal dari kata asal “melas” dari bahasa Yunani yang berarti hitam. Manifestasi klinis melasma berupa makula berwarna coklat cerah hingga, berbatas tidak jelas pada wajah terutama dahi, pipi, hidung, pelipis, bagian atas bibir, dagu hingga leher. Paparan sinar matahari, kehamilan, dan penggunaan kontrasepsi oral merupakan faktor resiko melasma (Rodrigues et al., 2019).

Prevalensi melasma di dunia adalah 1% dan 9% – 50% pada populasi yang beresiko tinggi. Angka prevalensi dipengaruhi oleh variasi warna kulit, etnis, paparan sinar matahari, dan geografis (Oluwatobi et al., 2017). Melasma dapat terjadi pada perempuan dan laki-laki dari berbagai etnik dan tipe kulit, namun kelainan ini kerap terjadi pada perempuan dengan tipe kulit III, IV, dan V seperti populasi ras Asia, Hispanik, Latin – Amerika, dan Afro – Amerika (Asditya dan Sukanto, 2017). Kejadian melasma lebih tinggi pada perempuan berusia 30 – 40 tahun, terutama pada individu keturunan etnis Hispanik, Asia, Afrika, dan Timur Tengah (Chang, 2020). Di Indonesia, data prevalensi melasma masih terbatas. Data terbaru melaporkan sebanyak 4% dari total kasus penyakit kulit di Indonesia merupakan kasus melasma. Pada tahun 2011 dari RSCM Jakarta menyebutkan bahwa sebanyak 18,1% dari total 3.763 kunjungan ke poliklinik dermatologi merupakan pasien melasma dengan dominasi pasien perempuan (Melyawati et al., 2014).

Melasma merupakan kelainan hiperpigmentasi yang didapat. Kelainan ini umum terjadi pada wajah sehingga mudah sekali terlihat. Karakteristik melasma adalah kronis, residivistis, dan sulit ditangani, sehingga mempengaruhi kondisi psikologis, sosial, dan kesejahteraan fisik penderitanya (Suryawati dan Dewi, 2017). Terapi *gold standar* melasma yaitu *hydroquinone* dan *triple combination creams*. Terapi *hydroquinone* diketahui mempunyai banyak efek samping jangka pendek dan jangka panjang, oleh karena itu beberapa alternatif perawatan telah berkembang seperti *tranexamic acid*, *azelaic acid*, *kojic acid*, *ascorbic acid*, *arbutin*, *chemical peels*, *ruzinol* (4-n-butylresorcinol), *silymarin* dan laser. Ekstrak bahan alami juga digunakan sebagai perawatan melasma antara lain *green tea extracts*, *grape seed extract*, *aloesin*, *licorice*, *coffee berry*, *pycnogenol*, dan kedelai (Sarkar et al., 2014). Probiotik juga dikembangkan sebagai terapi melasma. Penelitian Zhang (2017) menyatakan bahwa bakteri asam laktat pada fermentasi susu dapat menghambat produksi melanin. Asam laktat yang diproduksi bakteri probiotik dapat menghambat aktivitas enzim *tyrosinase* dan mengurangi melanogenesis. Aplikasi topikal asam laktat diketahui sebagai perawatan efektif lesi pigmentasi seperti melasma (Hong et al., 2022).

Kombucha merupakan salah satu minuman probiotik yang berasal dari teh yang difermentasi dengan kultur simbiosis bakteri dan jamur yang disebut SCOBY (*Symbiotic Cultures of Bacteria and Yeasts*). Kombucha merupakan campuran teh dengan 10% gula, 10% *sourdough* dari fermentasi sebelumnya dan SCOBY (Jakubczyk et al., 2020). Kombinasi SCOBY dengan gula pada teh menginisiasi fermentasi dan membentuk komposisi bioaktif. Fermentasi dilakukan pada temperatur ruangan selama 7 sampai dengan 14 hari. Seluruh jenis teh dapat digunakan untuk membuat kombucha namun perpaduan teh hitam dengan gula putih (*saccharose*) merupakan komposisi dan kandungan nutrisi terbaik (Villareal et al., 2018). Manfaat yang diperoleh dari kombucha antara lain antibakteri, antioksidan, antidiabetes, mampu menurunkan konsentrasi kolesterol, menguatkan sistem imun, dan menstimulasi detoksifikasi liver (Kapp dan Sumner, 2019). Kombucha juga mengandung mineral (kalium, mangan, ion fluoride), vitamin (E, K, B), asam amino theanine yang merupakan turunan glutamin, dan komposisi yang terbentuk selama fermentasi seperti *catechins* dan *flavonoid* (Ivanišová et al., 2020).

Formulasi kombucha sebagai bahan perawatan kulit semakin berkembang. Studi yang meneliti mengenai efek kombucha terhadap melasma. Penelitian Pakravan et al (2018) menyatakan bahwa vitamin B3 pada kombucha merupakan precursor *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD) yang menurun saat terjadi penuaan sel dan penurunan kolagen. Vitamin B3 j menstimulasi sintesis *epidermal ceramide* dan mengurangi hiperpigmentasi. Teh kombucha juga mempunyai kandungan dan manfaat ekstrak teh hitam. Penelitian Kim et al (2015) menyatakan bahwa ekstrak teh hitam menghambat akumulasi dan sintesis melanin yang mana lebih efektif daripada arbutin. Ekstrak teh hitam mampu mengurangi kadar protein *tyrosinase*. Saat penelitian ini dilakukan, belum ada penelitian yang menganalisis mengenai efektivitas teh kombucha yang diformulasikan dalam serum *nanoemulsi*.

Nanoemulsi merupakan system penghantaran obat yang dapat memperbaiki kelarutan senyawa aktif yang memiliki kelarutan yang buruk dengan ukuran partikel yang sangat kecil, stabil, transparan berkisar dari 0-200 nm yang bertujuan untuk meningkatkan stabilitas zat aktif dan memperbaiki absorbs (Taher et al., 2017). Keunggulan nanoemulsi yaitu tidak menimbulkan masalah stabilitas seperti *creaming*, *sedimentation*, *flocculation* yang ditemukan pada mikroemulsi, tidak toksik dan tidak mengiritasi kulit. Nanoemulsi dapat diproduksi dengan kadar surfaktan yang lebih rendah daripada mikroemulsi yaitu 5–10%, w/w (Kilinc et al., 2022).

Studi mengenai bahan alami untuk bahan perawatan kulit telah banyak dilakukan (Huang et al., 2011; Gupta and Jain, 2011; Hassan et al., 2015). Formulasi produk perawatan kulit sebaiknya mengandung bahan yang tepat dan spesifik terhadap keluhan kulit. Serum wajah (*facial serum*) merupakan salah satu formula atau sediaan produk perawatan kulit dengan bahan aktif. Menurut Sasidharan et al., (2014), serum wajah adalah emulsi terkonsentrasi tinggi berbahan dasar air atau minyak. Konsentrasi bahan aktif serum berjumlah 10 kali lebih banyak dibandingkan konsentrasi di dalam krim wajah. Serum wajah juga terdiri dari komponen berukuran sangat kecil sehingga dapat meresap lebih dalam dan memberikan efek yang lebih cepat.

Screening fitokimia adalah pemeriksaan kualitatif untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam suatu tanaman herbal. Uji ini dibutuhkan untuk memperoleh informasi mengenai kandungan senyawa-senyawa kimia pada teh kombucha, sehingga dapat dipahami potensi penggunaannya dalam bidang farmasi dan kesehatan. Dalam bidang farmasi, identifikasi senyawa kimia dalam tumbuhan sangat penting karena banyak senyawa alami yang memiliki potensi farmakologis, seperti antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker. Dengan mengetahui kandungan senyawa kimia dalam tumbuhan, dapat dilakukan pengembangan formula ekstrak kombucha yang lebih efektif dan aman (Tiwari et al., 2011).

Teh kombucha kaya akan antioksidan, terutama polifenol. Kombucha teh hitam mencapai kadar polifenol tertinggi pada hari ke-14 fermentasi (Jakubczyk et al., 2020). Antioksidan adalah senyawa yang mencegah atau memperlambat oksidasi dengan menghalangi reaksi berantai. Pengujian aktivitas antioksidan penting untuk menilai efektivitas sampel dan memahami mekanismenya (Maryam et al., 2016). Antioksidan non-enzimatis, seperti polifenol, diuji melalui reaksi reduksi radikal bebas atau pengkhelatan ion radikal bebas (Rachman et al., 2017). Metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sering digunakan karena sederhana, cepat, murah, dan sensitif (Purwanti, 2019). DPPH, radikal bebas sintetis yang larut dalam etanol dan metanol, bereaksi dengan antioksidan melalui mekanisme donor hidrogen dan elektron (Apak et al., 2013; Malik et al., 2013).

Pengobatan dengan bahan alami biasanya memiliki toksisitas rendah, tetapi uji toksisitas tetap diperlukan. Metode MTT (Microculture Tetrazolium Assay) umum digunakan untuk uji sitotoksik *in vitro*. MTT adalah metode kolorimetrik yang menggunakan garam tetrazolium diubah menjadi kristal formazan oleh sel hidup. Kristal formazan ini berwarna ungu dan dibaca absorbansinya dengan ELISA reader. Uji sitotoksik menentukan nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration 50%), yaitu konsentrasi yang menghambat 50% proliferasi sel dan menunjukkan potensi toksisitas suatu senyawa. Semakin besar IC₅₀, semakin rendah toksisitas senyawa tersebut. Uji ini memberikan informasi tentang persentase sel yang bertahan hidup dan perubahan fungsi sel spesifik pada organ target (Ghasemi, 2021).

Berdasarkan data dan teori yang telah dipaparkan, maka penulis tertarik untuk menguji serum nanoemulsi ekstrak kombucha meliputi penapisan fitokimia, uji antioksidan, dan uji sitotoksitas terhadap sel melanosit pada kondisi melasma.

1.2. Rumusan Masalah

- Bagaimana hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak teh kombucha?
- Bagaimana kadar uji senyawa flavonoid pada ekstrak teh kombucha?
- Apakah ekstrak teh kombucha dapat diformulasikan sebagai sediaan nanoemulsi?
- Bagaimana evaluasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha?
- Bagaimana hasil uji efektivitas antioksidan pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha yang menghambat enzim tirosinase dengan metoda DPPH?
- Bagaimana hasil uji sitotoksitas pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha dengan pada sel melanosit dengan menggunakan metode MTT *Assay*?

1.3. Tujuan Penelitian

a. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisa senyawa fitokimia, kadar flavonoid, uji antioksidan dan uji sitotoksik serum nanoemulsi teh kombucha terhadap sel melanosit pada melasma

b. Tujuan Khusus

- Mengetahui hasil uji skrining fitokimia pada ekstrak teh kombucha
- Mengetahui kadar uji senyawa flavonoid pada ekstrak teh kombucha
- Mengetahui ekstrak teh kombucha dapat diformulasikan sebagai sediaan nanoemulsi
- Mengevaluasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha
- Menganalisis hasil uji efektivitas antioksidan pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha yang menghambat enzim tirosinase dengan metoda DPPH?
- Menganalisis hasil uji sitotoksitas pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha dengan pada sel melanosit dengan menggunakan metode MTT *Assay*

1.4. State of the Art

Teh kombucha dikenal sebagai minuman berenergi di negara-negara di Asia. Saat ini formulasi kombucha sebagai bahan perawatan kulit semakin berkembang. Studi yang meneliti mengenai efek kombucha terhadap *acne* telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Ziemiowska et al (2022) yang menganalisis efek kombucha pada toner wajah menunjukkan efek positif terhadap metabolisme dan viabilitas kultur sel keratinosit dan fibroblas. Kombucha juga bersifat *anti-aging* dan *anti-inflamasi* yang sangat penting untuk kondisi kulit dan mencegah gangguan dermatologis.

Studi mengenai bahan alami untuk bahan perawatan kulit telah banyak dilakukan (Hassan et al., 2015; Gupta and Jain, 2011; Huang et al., 2011). Formulasi produk perawatan kulit sebaiknya mengandung bahan yang tepat dan spesifik terhadap keluhan kulit. Serum nanoemulsi merupakan salah satu formula atau sediaan produk perawatan kulit dengan bahan aktif. Menurut Sasidharan et al., (2014), serum nanoemulsi mempunyai konsentrasi bahan aktif serum berjumlah 10 kali lebih banyak dibandingkan konsentrasi di dalam krim wajah. Formulasi serum nanoemulsi dengalekstrak teh kombucha diharapkan dapat meresap lebih dalam dan memberikan efek yang lebih cepat.

Saat belum ada penelitian yang menganalisis mengenai efektivitas teh kombucha yang diformulasikan dalam serum nanoemulsi. Penelitian ini merupakan penelitian pertama yang memformulasikan ekstrak teh kombucha sebagai serum nanoemulsi untuk perawatan melasma

1.5. Hipotesis

- a. Terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak teh kombucha
- b. Terdapat senyawa flavonoid pada ekstrak teh kombucha
- c. Ekstrak teh kombucha dapat diformulasikan sebagai sediaan nanoemulsi
- d. Mengevaluasi dan karakterisasi sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha
- e. Terdapat efektivitas antioksidan pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha yang menghambat enzim tirosinase dengan metoda DPPH
- f. Terdapat aktivitas sitotoksik pada sediaan nanoemulsi dari ekstrak teh kombucha dengan pada sel melanosit dengan menggunakan metode MTT Assay

1.6. Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian ini diharapkan ekstrak teh kombucha dapat menjadi solusi alternatif bahan alami sebagai perawatan melasma
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan literasi mengenai penggunaan bahan alami sebagai pengobatan melasma