

KARYA AKHIR

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS TOPIKAL SERUM
DEOXYARBUTIN 2% DAN TOPIKAL SERUM HYDROQUINONE
4% SEBAGAI AGEN PENCERAH KULIT**

**COMPARISON OF EFFECTIVENES BETWEEN
2% DEOXYARBUTIN AND 4% HYDROQUINONE SERUM
AS A DEPIGMENTING AGENT**



**YULIA ASMARANI
NIM: C115171006**

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**PERBANDINGAN EFEKTIVITAS TOPIKAL SERUM
DEOXYARBUTIN 2% DAN TOPIKAL SERUM HYDROQUINONE
4% SEBAGAI AGEN PENCERAH KULIT**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

YULIA ASMARANI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1)
DEPARTEMEN ILMU KESEHATAN KULIT DAN KELAMIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

KARYA AKHIR

PERBANDINGAN EFEKTIFITAS TOPIKAL SERUM DEOXYARBUTIN 2% DAN TOPIKAL SERUM HYDROQUINONE 4% SEBAGAI AGEN PENCERAH KULIT

Disusun dan diajukan oleh

YULIA ASMARANI

Nomor Pokok : C115171006

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 03 September 2020

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Prof. DR. Dr. Anis Irawan Anwar, Sp.KK(K),
FINSDV, FAADV

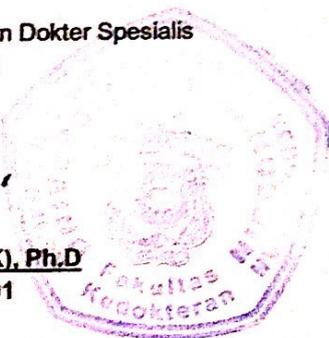
Pembimbing Utama

Dr. Asnawi Madjid, Sp.KK(K),
MARS, FINSDV, FAADV

Pembimbing Anggota

Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis
Fakultas Kedokteran Unhas

dr. Uteng Bahrin, Sp.PK(K), Ph.D
NIP: 19680518 199802 2 001



Dekan,
Wakil Dekan Bidang Akademik,
Riset dan Inovasi

Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP: 19671103 199802 1 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yulia Asmarani
No. Stambuk : C115171006
Program Studi : Ilmu Kesehatan Kulit & Kelamin

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Yang menyatakan



Yulia Asmarani

PRAKATA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah menganugerahkan rahmatNya sehingga penulis diberikan kemudahan untuk menyelesaikan tesis yang berjudul "Perbandingan Efektivitas Topikal Serum Deoxyarbutin 2% dan Topikal Serum Hydroquinone 4% Sebagai Agen Pencerah Kulit".

Adapun pengajuan tesis ini ditujukan sebagai pemenuhan beberapa syarat kelulusan pada jenjang perkuliahan Pendidikan Dokter Spesialis 1. Dalam penyusunan tesis ini tentunya penulis mengalami tantangan serta kesulitan, namun berkat bantuan dan bimbingan dari semua pihak, akhirnya tesis ini dapat terselesaikan.

Terimakasih penulis ucapkan kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar atas izin dan kesempatan yang telah diberikan sehingga penulis dapat mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada pembimbing tesis I saya yang terhormat Prof. DR.Dr. Anis Irawan Anwar, SpKK(K), FINSDV, FAADV dan kepada pembimbing II tesis saya yang terhormat Dr. Asnawi Madjid, SpKK(K),MARS,FINSDV, FAADV, kepada yang terhormat Kepala Bagian Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin FK Unhas DR .Dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K),FINSDV,FAADV, kepada yang terhormat DR. Dr. Khairuddin Djawwad, Sp.KK(K),FINSDV,FAADV sebagai Kepala Program Studi (KPS) Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin FK Unhas, terimakasih sebesar-besarnya penulis ucapkan atas seluruh kebaikan, nasehat, bantuan, arahan, bimbingan, didikkan serta curahan perhatian yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan hingga terselesaikan tesis ini,

Ucapan terimakasih penulis kepada yang terhormat DR.dr.Ilham Jaya Patellongi, M. Kes selaku pembimbing statistik, kepada yang terhormat Prof. DR. Dr.

Suryani As'ad, Sp.GK(K), M.sc selaku penguji, serta kepada yang terhormat DR. Dr. Anni Adriani, Sp.KK(K), FINS DV,FAADV selaku penguji dalam tesis ini. Terimakasih penulis ucapkan atas segala bimbingan, arahan, bantuan, didikkan, perhatian dan segala kebaikan yang diberikan kepada penulis selama pendidikan hingga terselesaikan tesis ini. Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. Wong Lip Wih dari PT.Lipwih Synergylab Estetika atas dukungan dan bantuan dalam penyediaan bahan penelitian sehingga penelitian bisa berjalan lancar.

Ucapan terimakasih yang sebesar-besarnya penulis ucapkan seluruh Staf pengajar dan guru-guru di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Terimakasih atas segala bimbingan, didikkan, kesabaran, *sharing* ilmu dan pengalaman, perhatian, kekeluargaan serta segala kebaikan kepada penulis sejak awal hingga selesai menempuh Pendidikan.

Terimakasih kepada suami Solihin dan kedua anakku Kevin Khlafani Arrozaq dan Kirana Khanza Aqilla atas segala pengorbanan, kesabaran, pengertian, dukungan dan doa sehingga penulis dapat mewujudkan cita-cita untuk menjadi Dokter Spesialis. Terimakasih yang sedalam-dalamnya kepada kedua orangtua (Alm) Djamingan dan Purwantini, kepada kedua mertua saya Hi.Samlawi dan Hj. Tutik yang telah memberi kasih sayang, doa, dukungan, perhatian dan kebaikan yang tidak terhingga sehingga penulis bisa ada di titik ini dan dapat menyelesaikan pendidikan dengan lancar. Terimakasih kepada adik-adikku Dimas Raditya dan Agil Ajimas Surya yang telah banyak membantu, memudahkan, mendoakan, mendukung dan memberi semangat penulis dalam menyelesaikan pendidikan.

Terimakasih kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialisasi Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin atas segala bantuan, kebaikan, semangat dan pengertian bagi penulis selama menempuh pendidikan. Teristimewa kepada teman-teman seperjuangan "Furious 8" dr. Dewi Nur Komalasari, dr. Kirana Prasanty Mokoagow, dr. Irene Djuardi, dr. Welly Wijayanti, dr. Erlan Dimas Anggraini, dr. Andi Nurhaerani Zainuddin, serta kepada dr. Johannes Wijaya, dr. Olivia Wibisono, SpDV, dan Ivan Kurniadi terimakasih penulis ucapkan atas segala persahabatan, persaudaraan, perhatian, dukungan, bantuan dan doa sehingga penulis bisa menyelesaikan

pendidikan dengan baik. Juga kepada teman-teman dr. Raja Tina, dr. Andi Hardianty, dr. Pipim, dr. Rika dan dr. Farah, dr. Anita Berliana terimakasih penulis ucapkan atas dukungan dan partisipasinya dalam kegiatan penelitian sehingga penelitian ini bisa berjalan lancar dan mendapatkan hasil yang baik.

Terimakasih kepada seluruh pihak yang namanya tidak tercantum tapi terlibat dalam proses pendidikan dan menjadi inspirasi dan pelajaran bagi penulis.

Doa yang tulus penulis sampaikan kepada seluruh pihak yang terlibat, semoga Allah SWT senantiasa selalu memberikan berkah kesehatan dan rezeki yang luas, Insyaallah segala kebaikan dan bantuan kepada penulis diberikan balasan berkali-kali lipat.

Dengan sepenuh hati penulis menyadari bahwa tesis ini masih penuh kekurangan dan keterbatasan, baik dari segi kualitas maupun kuantitas data atau referensi yang ditampilkan. Penulis berharap kritik dan saran dari seluruh pihak demi menjadikan tesis ini menjadi lebih baik. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan berguna bagi kemajuan Pendidikan dalam bidang Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin.

Makassar, 1 Oktober 2020

Yulia Asmarani

PERBANDINGAN EFEKTIVITAS TOPIKAL SERUM DEOXYARBUTIN 2% DAN TOPIKAL SERUM HYDROQUINONE 4% SEBAGAI AGEN PENCERAH KULIT

Yulia Asmarani^{1,2,3}, Anis Irawan Anwar^{1,2,3}, Asnawi Madjid^{1,2}, Ilham Jaya Patellong⁴, Suryani As'ad⁵, Anni Adriani^{1,2}

¹Departemen Dermatologi dan Venereologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

²Rumah Sakit Dr. Wahiddin Sudirohusodo, Makassar, Indonesia

³Rumah Sakit Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

⁴Departemen Fisiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

⁵Departemen Gizi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

Pendahuluan: Masyarakat Indonesia memiliki tipe kulit Fitzpatrick III dan IV, berwarna gelap kecokelatan. Bahan aktif pencerah kulit menghambat secara spesifik satu atau lebih maturasi melanosit. Hydroquinone (HQ) merupakan gold standard pengobatan hiperpigmentasi. deoxyArbutin (dA) senyawa baru agen pencerah kulit yang memiliki efek inhibisi tirosinase hampir sama dengan HQ. **Tujuan:** Mengetahui efek serum deoxyArbutin 2% terhadap kecerahan kulit dan membandingkan dengan serum hydroquinone 4%.

Metode: Penelitian ini menggunakan metode double-blind, wanita usia 25-45 tahun, Fitzpatrick III-IV, serum A dileskan pada bagian volar lengan bawah dan serum B pada lengan kiri setiap malam sebelum tidur selama 12 minggu dan diukur menggunakan chroma meter

Hasil: Nilai rerata kecerahan kulit pada kelompok serum deoxyarbutin 2% meningkat dari 52.407 menjadi 54.083 sedangkan pada kelompok serum hydroquinone 4% juga mengalami peningkatan dari 52.579 menjadi 54.081. Hal ini bermakna bahwa serum deoxyarbutin 2% dan hydroquinone 4% memperlihatkan efektivitas yang sama dalam meningkatkan rerata kecerahan kulit.

Kesimpulan: Serum deoxyarbutin 2% dan serum hidroquinon 4% memiliki efektivitas yang sama dalam mencerahkan kulit

Kata Kunci: Deoxyarbutin, Hydroquinone, melanosit

COMPARISON OF EFFECTIVENES BETWEEN 2% DEOXYARBUTIN AND 4% HYDROQUINONE SERUM AS A DEPIGMENTING AGENT

Yulia Asmarani^{1,2,3}, Anis Irawan Anwar^{1,2,3}, Asnawi Madjid^{1,2}, Ilham Jaya Patellong⁴, Suryani As'ad⁵, Anni Adriani^{1,2}

¹Departement of Dermatology and Venereology, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia.

²Dr. Wahidin Sudirohusodo Hospital, Makassar, Indonesia.

³Hasanuddin University Hospital, Makassar, Indonesia.

⁴Departement of Physiology, Faculty of Public Health, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

⁵Departement of Clinical Nutrition, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia

Introduction: Indonesian people have Fitzpatrick III and IV skin types, dark brown in color. The skin lightening active ingredient specifically inhibits the maturation of one or more melanocytes. Hydroquinone (HQ) is the gold standard for treating hyperpigmentation. deoxyArbutin (dA) is a new skin lightening agent that has almost the same tyrosinase inhibition effect as HQ.

Objective: To determine the effect of serum deoxyArbutin 2% on skin brightness and compare it to 4% serum hydroquinone.

Methods: This study used a double-blind method, women aged 25-45 years, Fitzpatrick III-IV, serum A was rubbed on the volar part of the forearm and serum B on the left arm every night before going to bed for 12 weeks and measured using a chroma meter.

Results: The mean value of skin brightness in the 2% serum deoxyarbutin group increased from 52,407 to 54,083 while the 4% serum hydroquinone group also increased from 52,579 to 54,081. This means that serum deoxyarbutin 2% and hydroquinone 4% show the same effectiveness in increasing the average skin brightness.

Conclusion: Deoxyarbutin serum 2% and serum hydroquinone 4% have the same effectiveness in lightening the skin.

Keywords: Deoxyarbutin, Hydroquinone, melanocytes

DAFTAR ISI

BAB I	17
PENDAHULUAN.....	17
1.1 Latar Belakang Masalah.....	17
1.2 Rumusan Masalah.....	22
1.3 Tujuan Penelitian	22
1.3.1. Tujuan Umum.....	22
1.3.2. Tujuan Khusus	22
1.4 Hipotesis Penelitian.....	23
1.5 Manfaat Penelitian.....	23
BAB II.....	25
TINJAUAN PUSTAKA	25
2.1 Variasi Warna Kulit.....	25
2.2. Regulasi Pigmen Kulit.....	28
2.2.1. Pigmen Kulit Konstitutif.....	28
2.2.2. Faktor Yang Mempengaruhi Pigmentasi.....	37
2.3. Agen pencerah kulit.....	41
2.4. Hidroquinon	42
2.4.1. Struktur Kimia dan Mekanisme Kerja	42
2.4.2. Absorpsi, Ekskresi dan Eliminasi	45
2.4.3 Efek Samping.....	46
2.5. Deoxyarbutin	51
2.5.1 Struktur Kimia.....	51
2.5.2 Mekanisme Kerja	52
2.5.3 Absorpsi, metabolisme dan Toksikokinetik	54
2.5.4 Uji Keamanan.....	57
2.6. Alat Ukur Penelitian Chroma Meter	60
2.7 Kerangka Teori	64

2.8	Kerangka Konsep.....	65
BAB III.....		66
METODE PENELITIAN.....		66
3.1.	Desain Penelitian.....	66
3.2.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	66
3.2.1	Tempat Penelitian.....	66
3.2.2	Waktu Penelitian.....	66
3.3	Populasi Penelitian.....	66
3.3.1	Populasi Target.....	66
3.3.2	Populasi Terjangkau.....	67
3.4	Sampel.....	67
3.4.1.	Cara Pengambilan Sampel.....	67
3.5	Kriteria Inklusi dan Eksklusi.....	68
3.5.1	Kriteria Inklusi.....	68
3.5.2	Kriteria Eksklusi.....	69
3.6.	Prosedur Penelitian.....	69
3.6.1	Persiapan.....	69
3.6.2.	Penjelasan dan Penandatanganan Informed Consent.....	70
3.6.3.	Teknik Pelaksanaan.....	70
3.6.4.	Prosedur Pengukuran menggunakan Chroma Meter.....	72
3.6.5	Bahan Penelitian.....	73
3.7	Identifikasi Variabel.....	73
3.8.	Definisi Operasional.....	73
3.9	Pengolahan dan Analisis Data.....	75
3.10.	Izin Penelitian dan Kelayakan Etik (Ethical Clearance).....	76
BAB IV.....		78
HASIL PENELITIAN.....		78
4.1.	Karakteristik Subjek Penelitian.....	78

4.2. Efektivitas serum deoxyarbutine 2% dan serum hydroquinone 4% terhadap perubahan nilai kecerahan kulit.....	79
4.2.1. Efek serum deoxyarbutin 2% terhadap perubahan nilai kecerahan kulit (L*).....	80
Untuk menilai efek serum deoxyarbutin 2% terhadap perubahan kecerahan kulit (Nilai L*) sebelum dan sesudah pengolesan serum pada setiap waktu observasi dilakukan uji one way anova uji t berpasangan. Hasil analisis dapat dilihat pada tabel 2.	80
4.2.2. Efek serum hydroquinone 4% terhadap perubahan nilai kecerahan kulit (L*).....	82
4.3. Perbandingan efektivitas serum deoxyarbutin 2% dan serum hydroquinone 4% terhadap perubahan kecerahan kulit	83
4.4. Efek samping penggunaan serum deoxyarbutin 2% dan serum hydroquinone 4%.....	85
BAB V	86
PEMBAHASAN	86
BAB VI.....	91
PENUTUP.....	91
DAFTAR PUSTAKA	92
LAMPIRAN	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema susunan kulit manusia.....	27
Gambar 2. Klasifikasi fototipe kulit fitzpatrick	28
Gambar 3. Skema struktur epidermis.....	30
Gambar 4. Epidermal melanin unit signaling-pathway	32
Gambar 5. Karakteristik tahap perkembangan melanosom selama sintesis melanin	34
Gambar 6. Skema sederhana sintesis melanin.....	35
Gambar 7. Faktor yang mempengaruhi pigmentasi kulit.....	39
Gambar 8. Struktur kimia Hydroquinone	42
Gambar 9. Mekanisme inhibisi melanogenesis oleh HQ.....	45
Gambar 10. Struktur kimia HQ dan derivate glukosida	52
Gambar 11. Konica Minolta Chroma Meter Model CR-400 ®	63

DAFTAR TABEL

Tabel 1.Karakteristik Subjek.....	79
Tabel 2.Perubahan nilai kecerahan kulit (L*) pada kelompok serum deoxyarbutin 2%.....	80
Tabel 3.Perubahan nilai kecerahan kulit (L*) pada kelompok serum Hydroquinone 4%	82
Tabel 4.Perbandingan nilai perubahan kecerahan kulit (ΔL^*) antara serum Deoxyarbutine 2% dan serum Hydroquinone 4%	84

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1.Perubahan nilai L* pada serum deoxyarbutin 2%.....	81
Grafik 2. Perubahan nilai L* pada serum hydroquinone 4%	83
Grafik 3. Perbandingan delta L* serum deoxyarbutin 2% dan serum hydroquinone 4%.....	85

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.Konica Minolta Chroma Meter Model CR-400 ®	99
Lampiran 2.Serum yang diujikan dengan kode CT01R dan CT01L	99
Lampiran 3.Patron khusus ukuran 4x4cm	100
Lampiran 4.Foto klinis subjek sebelum perlakuan	100
Lampiran 5.Foto Klinis pasien setelah 12 minggu perlakuan	100
Lampiran 6. Diskripsi statistik nilai L* pada kelompok deoxyarbutin 2%	101
Lampiran 7. Uji normalitas nilai L* kelompok deoxyarbutin 2%	104
Lampiran 8. Paired samples test kelompok deoxyarbutin 2%	105
Lampiran 9. Diskripsi statistik nilai L* kelompok hydroquinone 4%	106
Lampiran 10. Uji normalitas nilai L* kelompok hydroquinone 4%	108
Lampiran 11. Paired samples test kelompok hydroquinone 4%	109
Lampiran 12. Diskripsi statistik nilai delta L* kelompok deoxyarbutin 2% dan hydroquinone 4%	110
Lampiran 13. Uji normalitas nilai delta L* kelompok deoxyarbutin dan hydroquinone 4%	115
Lampiran 14. . Independent t test kelompok deoxyarbutin 2% dan hydroquinone 4%	115
Lampiran 15. Independent t test kelompok deoxyarbutin dan hydroquinone 4%	115
Lampiran 16. Uji Mann-Whitney delta L* kelompok deoxyarbutin 2% dan hydroquinone 4%	116
Lampiran 17.Lembar inform consent.....	117
Lampiran 18. Investigational brochure	119

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

BQ : Benzoquinone

CIE : Commission Internationale de l'Eclairage

dA : deoxyArbutin

DOPA : L-3,4-dihydro xyphenylalanine

Eoxy : Oksi tirosinase

FDA : Federation Drug Association

HEC : *Hydroxyethylcellulose*

HQ : Hidroquinon

IL : Interleukin

ITA^o : *Individual Typology Angle*

LTs : Leukotriens

MED : *Minimum Eritema Dose*

MITF : Microphthalmia transcription faktor gene

MoS : Margin of Safety

NCC : *Neural Crest Cells*

NO : Nitrit Oksida

NOAEL: No-Adverse-Effect-Level

NRG 1: Neuregulin 1

NTP : National Toxicology Program

NTs : Neurotrofin

OTC : Over-The-Counter

PAR-2: Protease Active-Receptor-2

ROS : Spesies Oksigen Reaktif

SCCC: Scientific Committee on Consumer Safety

SSP : Sistem Saraf Pusat

SCF : Stem Cell Factor

UV-R : UV radiasi

UV : Ultraviolet

POMC: Proopiomelanocortin

TNFa : Tumor Necrosis Factora

TYR : Tyrosinase

TXs : Thromboxanes

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Pencerah kulit merupakan bahan yang sudah lama digunakan dan berakar dalam kebudayaan sebagian masyarakat. Praktek kuno ini dapat dilacak sejak abad ke-16. Di Negara Asia, termasuk India, China , Jepang dan Korea memiliki kulit cerah berkaitan dengan kecantikan. Di Afrika , masyarakat juga mencerahkan kulit dengan berbagai alasan dari segi estetika, psikologis, sosiologis sampai politik dan motif ekonomi. Pada saat ini produk pencerah kulit , pemutih kulit juga digunakan sebagai anti penuaan dan produk peremajaan kulit. Mengingat produk anti penuaan merupakan produk kosmetik yang paling pesat pertumbuhannya membuat produk pencerah kulit semakin terkenal secara klinis dan kosmetik.(Desmedt et al., 2016). Produk depigmentasi dan pencerah kulit yang sudah lama digunakan di negara Asia dimana kulit putih merupakan kriteria mayor estetika, juga mempengaruhi populasi barat , dimana mereka terlalu sering berjemur terpapar matahari sehingga menimbulkan bintik-bintik di kulit (Couteau and Coiffard, 2016).

Indonesia sebagai negara yang terletak di khatulistiwa memiliki matahari yang terus bersinar sepanjang tahun. Masyarakat Indonesia memiliki tipe kulit Fitzpatrick III dan IV, berwarna gelap kecokelatan. Tipe kulit ini juga

cenderung mengalami masalah pigmentasi berlebihan seperti halnya jerawat, menimbulkan stres yang berat dan perasaan malu. Hal ini menimbulkan keinginan untuk memiliki warna kulit yang lebih cerah. Produk pencerah kulit tersedia secara komersial sebagai kosmetik dengan tujuan untuk menghasilkan tampilan kulit yang lebih cerah. Selain itu produk ini juga bermanfaat untuk pengobatan gangguan pigmentasi seperti melasma dan hiperpigmentasi postinflamasi. Pencerah kulit bekerja pada beberapa tingkat yang berbeda dalam pembentukan melanin kulit. Beberapa diantaranya dikenal sebagai kompetitif inhibitor tirosinase, enzim yang berperan dalam melanogenesis. Produk lain menghambat maturasi enzim atau menghambat transpor granula pigmen (melanosome) dari melanosit untuk mengelilingi keratinosit. (Smit et al., 2009)

Bahan aktif pencerah kulit menghambat secara spesifik satu atau lebih maturasi melanosit atau proses distribusi. Agen seperti kortikosteroid, hidroquinon, monobenzil hidroquinon, tretinoin dan garam merkuri merupakan agen pencerah kulit yang kuat. Selain merkuri, semua agen tersebut sering digunakan oleh dermatologis untuk mengobati lesi hiperpigmentasi seperti melasma, hiperpigmentasi post inflamasi dan lentigo solaris. Pengawasan dibutuhkan karena agen-agen ini dapat menimbulkan efek samping lokal yang berat. Mengingat resiko efek samping maka agen-agen tersebut telah dilarang digunakan dalam produk kosmetik. Namun produk kosmetik ilegal

mengandung agen-agen tersebut masih dapat ditemukan (Couteau and Coiffard, 2016).

Hidroquinon (HQ) adalah salah satu agen yang paling sering digunakan dalam produk pemutih kulit. Hidroquinon juga merupakan gold standar untuk pengobatan hiperpigmentasi di USA. HQ pertama kali tercatat sebagai agen *bleaching* oleh Oettel pada tahun 1936 dan dipasarkan di USA sebagai produk dan resep sejak 1960-an (Levitt, 2007). HQ adalah pencerah kulit paling konvensional mengurangi jumlah melanin melalui inhibisi tirosinase, namun efek samping berat pada penggunaan jangka panjang seperti kerusakan melanosit, dermatitis iritatif, dermatitis kontak, hiperpigmentasi post inflamasi, dan onkronosis .(Chawla et al., 2008) Saat ini, US FDA menyatakan larangan penggunaan berlebihan HQ didasarkan pada laporan timbulnya exogenous onkronosis pada manusia dan adenoma hepar, adenoma ginjal, dan leukemia pada murin pada penggunaan dosis besar dalam periode lama (Levitt, 2007). Untuk alasan keamanan , penggunaan HQ telah dilarang di Uni Eropa sebagai bahan aktif dalam kosmetik sejak tahun 2001 dan larangan terhadap HQ yang dijual bebas diusulkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan AS (FDA) pada tahun 2006 (Miao et al., 2016). Hal ini mendorong penemuan agen pencerah yang baru yang efektif dan lebih aman dari HQ. Namun berbagai pengobatan lesi hiperpigmentasi belum ada yang menghasilkan efektifitas dan keamanan yang memuaskan pada manusia (Chawla et al., 2008).

Penghambat melanogenesis lain seperti kojic acid dan arbutin menunjukkan aktivitas in vivo yang lemah atau efektif jika dikombinasikan dengan obat lain seperti steroid dan retinoid (Chawla et al., 2008). Beberapa penelitian yang membandingkan efek HQ dengan agen pencerah baru juga telah dilakukan oleh para peneliti di Departemen Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin diantaranya adalah penelitian oleh Faridha Ilyas dkk membandingkan efek Hydroquinone 4% dengan ekstrak kunyit 0,25 %, Farida Tabri dkk membandingkan efek kombinasi glutathion 2 % tokoferil asetat 1 % magnesium askorbit fosfat 3 % dengan hydroquinone 4 % dan Anis Irawan dkk yang melakukan studi membandingkan efektifitas kombinasi asam tranexamat, fermentasi galactomyces, niacinamid dan alpha arbutin dengan hydroquinone 4 %.

Salah satu senyawa baru , deoxyArbutin (dA) menunjukkan penghambatan cepat aktivitas enzim tyrosinase pada percobaan in vitro in situ dan pencerah kulit yang berkelanjutan pada marmut yang tidak berbulu dan berpigmen serta pada kulit manusia (Chawla et al., 2008). Sebuah percobaan yang dilakukan oleh Boissy et. al membandingkan efek inhibisi tirosinase deoxyarbutin (dA) dibandingkan dengan HQ, kojic acid dan arbutin menunjukkan bahwa deoxyarbutin (dA) memiliki efek inhibisi tirosinase hampir sama dengan HQ, sedangkan kojic acid dan arbutin tidak memiliki efek inhibisi tirosin. Studi pada hewan percobaan menunjukkan keamanan deoxyarbutin

(dA) pada mata, tidak bersifat mutagenic dan tidak bersifat fotoalergi (Boissy et al., 2005a). Percobaan yang dilakukan oleh *Hamed et al* membandingkan efektifitas (dA) 3% dan HQ 4% pada kulit manusia yang sebelumnya dipaparkan pada sinar UV menunjukkan bahwa (dA) lebih efektif meningkatkan kecerahan kulit dibanding HQ. (Mov, 2006a). Deoxyarbutin merupakan tirosinase yang kuat, kurang sitotoksik, dan memiliki potensi antioksidan tertentu, dapat berfungsi sebagai alternatif yang efektif dan aman dibandingkan HQ untuk digunakan sebagai pencerah kulit (Hu et al., 2009, Miao et al., 2016).

Deoxyarbutin bersifat termolabil dalam solusio air dan pada PH < 7 akan terdekomposisi dan terdegradasi menjadi HQ. Sehingga pada tahun 2015 *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCC) di Eropa menyatakan penggunaan deoxyarbutin dalam kosmetik hingga konsentrasi 3% dalam sediaan krim kurang aman. Oleh karna itu dalam penelitian ini, peneliti mencoba membandingkan efektivitas deoxyarbutin dengan konsentrasi 2% dalam serum dengan formulasi anhidrat sehingga lebih stabil terhadap suhu dan cahaya dengan harapan senyawa ini memiliki efektifitas yang lebih baik dibandingkan HQ 4% dengan efek samping yang lebih minimal (Ulrike Barnauer, 2015). Sampai saat ini diketahui oleh peneliti belum ada laporan terbuka ataupun studi yang dipublikasi terkait efektivitas deoxyarbutin dalam konsentrasi 2% sebagai agen pencerah kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, maka dapat dirumuskan pernyataan penelitian sebagai berikut :

- a. Apakah pemberian serum deoxyarbutin 2% secara topikal dapat meningkatkan kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.
- b. Apakah pemberian serum hydroquinone 4% secara topikal terbukti meningkatkan kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.
- c. Apakah ada perbedaan efek antara pemberian serum deoxyarbutin 2% dan serum hydroquinone 4% terhadap kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui efek serum deoxyarbutin 2% terhadap kecerahan kulit dan membandingkan dengan serum hydroquinone 4% yang merupakan agen pencerah kulit standar.

1.3.2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui efek serum deoxyarbutin 2% terhadap perubahan kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.

- b. Membuktikan efek serum hydroquinone 4% terhadap perubahan kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.
- c. Membandingkan efek antara serum Deoxyarbutin 2% dan serum Hydroquinone 4% terhadap perubahan kecerahan kulit setelah 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12.

1.4 Hipotesis Penelitian

Adapun hipotesis penelitian ini adalah :

- a. Serum deoxyarbutin 2% memiliki efek meningkatkan kecerahan kulit sejak 2 minggu pemakaian dengan efek yang terus meningkat hingga minggu ke-12.
- b. Serum deoxyarbutin 2% memiliki efektivitas yang sama dengan serum hydroquinone terhadap peningkatan kecerahan kulit sejak 2 minggu pemakaian hingga minggu ke-12

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Memberikan data ilmiah mengenai perubahan tingkat kecerahan kulit sebelum dan setelah 12 minggu menggunakan serum deoxyarbutin 2%
- b. Sebagai bahan acuan untuk penelitian di masa yang akan datang.

- c. Menambah wawasan di bidang ilmu kesehatan kulit dan kelamin khususnya tentang efektivitas serum deoxyarbutin 2% untuk kepentingan alternatif pencerah kulit yang lebih baik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

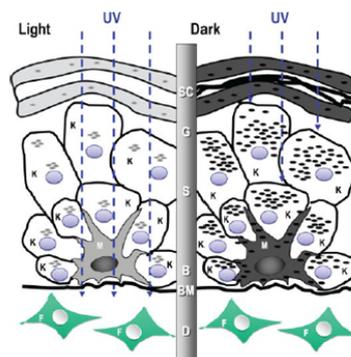
2.1 Variasi Warna Kulit

Kulit memainkan peran yang sangat penting, menyediakan penghalang fisik yang luas terhadap faktor mekanik, kimia, dan mikroba yang dapat mempengaruhi status fisiologis tubuh. Selain itu, kulit juga berfungsi sebagai kekebalan tubuh melalui pembentukan pigmen yang memberikan sistem pertahanan yang unik terhadap UV radiasi (UV-R). Hal ini dipertantari melanosit yang mentransfer melanosom melalui dendritnya ke keratinosit, di mana mereka membentuk tabir melanin yang mengurangi kerusakan DNA akibat UV pada epidermis manusia (Costin and Hearing, 2007).

Warna kulit yang terlihat adalah hasil dari spektrum daya serap dan pantulan cahaya oleh kromofor di kulit. Ini sangat ditentukan oleh jumlah melanin, jenis (rasio eumelanin hitam / coklat terhadap pheomelanin merah / kuning), distribusi intraseluler dan lokasi di dalam lapisan kulit. Perbedaan pigmentasi fenotip tidak bergantung pada jumlah melanosit yang secara relatif konstan pada berbagai kelompok etnis, melainkan bergantung pada jumlah dan jenis dari melanin dan transfer melanin serta distribusi melanin ke keratinosit (Lowell A. Goldsmith et al., 2012, Videira et al., 2013). Meskipun

jumlah melanosit pada kulit manusia konstan, namun ukuran, jumlah dan distribusi melanosom pada keratinosit bervariasi. Jumlah melanin pada kulit berbeda tidak hanya pada tipe kulit yang berbeda tapi juga pada lokasi tubuh yang berbeda. Perbedaan ini diregulasi oleh ekspresi gen yang mengontrol seluruh aktivitas dan ekspresi protein melanosom di dalam melanosit masing-masing individu. Hal ini ditunjukkan pada melanosit dengan melanin rendah lebih lambat mensintesis tirosinase dan mendegradasinya lebih cepat dibandingkan melanosit dengan kandungan melanin tinggi (Costin and Hearing, 2007). Ukuran dan distribusi melanosom bervariasi pada warna kulit yang berbeda. Pada individu keturunan Afrika, melanosom biasanya besar dan tersebar sendiri-sendiri di keratinosit. Pada individu kulit putih, melanosom lebih kecil dan dikelompokkan dalam membran. (Lowell A. Goldsmith et al., 2012) Melanosom individu berkulit gelap lebih besar, lebih banyak, dan memanjang, merupakan hasil dari degradasi tertunda dalam keratinosit dan mengakibatkan peningkatan pigmentasi yang terlihat. Perbedaan-perbedaan ini dalam melanosom hadir saat lahir dan tidak ditentukan oleh faktor ekstrinsik seperti sinar ultraviolet. Ada dua jenis melanin: eumelanin - coklat-hitam atau polimer tidak larut gelap - dan pheomelanin - polimer larut merah-kuning yang dibentuk oleh konjugasi sistein atau glutathione. Eumelanin adalah tipe utama pada individu dengan kulit dan rambut gelap dan lebih efisien dalam fotoproteksi. Pheomelanin sebagian besar ditemukan pada individu dengan rambut merah

dan fototipe kulit I dan II, dimana lebih rentan terjadi tumor kulit (Videira et al., 2013).



Gambar 1. Skema susunan kulit manusia

Pada kulit terang dan kulit gelap. Dari atas ke bawah: SC, stratum corneum; G, stratum granulosum; S, stratum spinosum; B, stratum basale; BM, basement membrane; D, dermis. Cell types: K, keratinocyte; M, melanocyte; F, fibroblast; shaded oval, melanin

Warna kulit paling sering didefinisikan sebagai fototipe kulit Fitzpatrick IV sampai VI. Jenis kulit ini, menurut definisi, mudah gelap dan terbakar minimal, jarang, atau tidak pernah. Sistem fototipe kulit Fitzpatrick awalnya dikembangkan untuk menilai respons pasien terhadap paparan UV dengan tujuan untuk mengobati kondisi kulit dengan cahaya. Menggunakan sistem ini, pasien dibedakan jenis kulitnya berdasarkan kemampuan yang dilaporkan untuk gelap atau terbakar. Sistem ini mendefinisikan *minimum erythema dose (MED)* untuk setiap jenis kulit, yang kemudian digunakan untuk memandu dosis terapi UV untuk berbagai penyakit kulit. Penilaian kulit ini telah ada sejak

lama dan berevolusi menjadi cara untuk menggambarkan warna kulit pasien (BAUMANN, 2009).

TABLE 14-1
The Fitzpatrick Skin Phototypes

SKIN TYPE	APPEARANCE	REACTION TO SUN EXPOSURE
Type I	Very fair; blond or red hair; light-colored eyes; freckles common	Always burns, never tans
Type II	Fair skinned; light eyes; light hair	Burns easily
Type III	Very common skin type; fair; eye and hair color varies	Sometimes burns, gradually tans
Type IV	Mediterranean Caucasian skin; medium to heavily pigmented	Rarely burns, always tans
Type V	Black skin, Mideastern skin; rarely sun sensitive	Tans
Type VI	Black skin, rarely sun sensitive	Tans easily

Gambar 2. Klasifikasi fototipe kulit fitzpatrick

2.2. Regulasi Pigmen Kulit

2.2.1. Pigmen Kulit Konstitutif

Pigmentasi kulit yang terlihat adalah hasil dari dua tahapan penting yaitu sintesis melanin oleh melanosit dan transfer melanosom ke keratinosit. Namun terdapat urutan tahapan yang harus terjadi untuk menghasilkan sintesis dan distribusi melanin yang normal :

a. Migrasi melanoblast selama perkembangan embrio

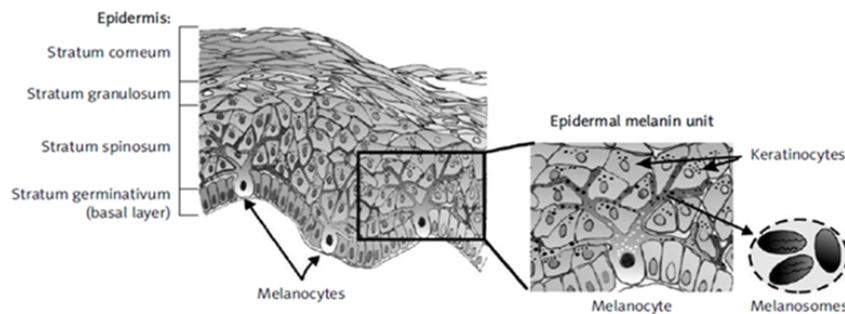
Melanoblast berasal dari pada puncak saraf sel embrionik disebut *neural crest cells (NCC)* pada bulan kedua tahap perkembangan embrio. Melanoblas kemudian bermigrasi menuju lokasi target spesifik pada dermis, epidermis, folikel rambut, uvea, stria vaskular, organ vestibular dari endolymphatic telinga dan leptomeningen otak. Pada manusia proses migrasi

ini mengambil waktu antara minggu ke-10 dan ke-12 untuk perkembangan dermis dan 2 minggu berikutnya pada epidermis. Kelangsungan hidup dan migrasi dari melanoblas *neural crest* selama embriogenesis sangat dipengaruhi oleh reseptor spesifik pada permukaan sel dan ekstraseluler ligan, misalnya *stem cell factor* (SCF) mengikat reseptor KIT pada melanosit dan melanoblas(Costin and Hearing, 2007).

b. Diferensiasi melanoblas menjadi melanosit

Ketika melanoblas sudah sampai pada tujuan akhir, maka akan berdiferensiasi menjadi melanosit yang terjadi pada bulan ke-6 kehidupan fetus yang berada pada *epidermal-dermal junction sites*(Costin and Hearing, 2007). Diferensiasi melanoblas menjadi melanosit serta migrasi ke situs yang sesuai berfungsi untuk menghasilkan pola pigmentasi normal (Yamaguchi et al., 2007). Melanosit dapat ditemukan di dermis selama masa gestasi. Melanosit pada dermis secara bertahap berkurang selama masa gestasi dan akhirnya menghilang setelah kelahiran. Namun melanosit pada *epidermal-dermal junction* terus berproliferasi dan mulai membentuk melanin(Costin and Hearing, 2007). Melanosit berada di lapisan basal epidermis tempat mereka membentuk unit melanin epidermis sebagai hasil dari hubungan antara satu melanosit dan 30-40 keratinosit terkait. Rasio melanosit terhadap keratinosit adalah 1: 10 pada lapisan basal epidermis. Keseimbangan ini dipertahankan selama kehidupan manusia tetapi mekanisme pastinya tidak diketahui. Sekitar

1200 melanosit ada per mm² kulit tidak tergantung dari ras manusia. Ukuran unit melanosit epidermis serupa secara independen sesuai ras manusia, tetapi bervariasi antara area tubuh (Cichorek et al., 2013). Meskipun melanosit dan keratinosit pada stratum basal epidermis memiliki jumlah yang relatif stabil dengan proliferasi lambat, namun keratinosit pada lapisan atas epidermis berproliferasi cepat (Yamaguchi et al., 2007).

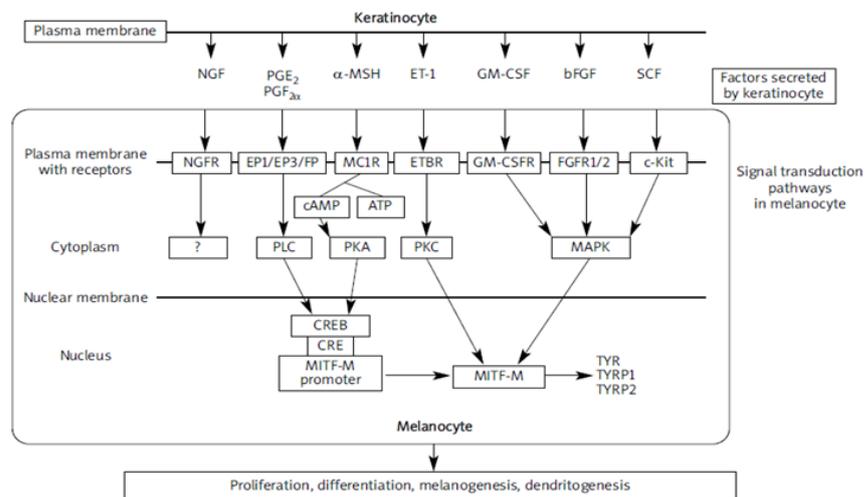


Gambar 3. Skema struktur epidermis
 Melanosit berada di antara sel-sel lapisan basal dan melalui proses dendritik berkomunikasi dengan sekitar 30-40 keratinosit dalam unit melanin epidermal. Melanosit mensintesis melanin dalam melanosom diangkut ke keratinosit untuk melindunginya dari radiasi UV

c. *Epidermal melanin unit signaling-pathway*

Unit epidermal melanin adalah struktur kompleks di dalam epidermis dengan dua sel yaitu melanosit dan keratinosit. Kompleks melanosit keratinosit berespon cepat terhadap stimulasi lingkungan melalui jalur sinyal parakrin dan autokrin. Biasanya keratinosit, fibroblast dan kemungkinan sel lain di kuli memproduksi sitokin, faktor pertumbuhan dan mediator inflamasi yang dapat

meningkatkan produksi melanin serta transfer melanin ke keratinosit. Ada sejumlah stimulator parakrin dari melanogenesis seperti proopiomelanocortin (POMC) peptide yang mengandung (α-MSH, β-MSH, ACTH) . Hormon melanotrofik ini ditemukan di awal 1950-an oleh Dr. Aaron B. Lerner . Ekspresi POMC di keratinosit diinduksi oleh Ultraviolet (UV) . Fibroblas memiliki peranan dalam kelangsungan melanosit melalui sekresi sitokin parakrin seperti stem cell factor (SCF), neuregulin 1 (NRG1). Pengaruh sitokin ini tidak hanya proliferasi dan pigmentasi melanosit, tetapi juga bentuk, dendritik, mobilitas dan sifat adhesi.



Gambar 4. Epidermal melanin unit signaling-pathway

Proliferasi melanosit, diferensiasi, melanogenesis berada di bawah kendali faktor yang disekresikan oleh keratinosit di sekitarnya. SCF – stem cell factor, bFGF – basic fibroblast growth factor, GM-CSF – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, ET-1 – endothelin 1, α -MSH – melanocyte-stimulating hormone, PGE2 – prostaglandin E2, PGF2 α – prostaglandin F2 α , NGF – nerve growth factor, c-Kit – tyrosine kinase receptor, FGFR1/2 – fibroblast growth factor receptor, GM-CSFR – granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor, ETBR – endothelin B receptor, MC1R – melanocortin 1 receptor, EP1/EP3/FP – prostanoind receptors, NGFR – nerve growth factor receptor, MAPK – mitogen-activated protein (MAP) kinases, PKC – protein kinase C, PKA – protein kinase A, PLC – phospholipase C, TYR – tyrosinase, TYRP1 – tyrosinase-related protein 1, TYRP2 – tyrosinase-related protein 2, MITF-M – melanocyte-specific MITF (microphthalmia- associated transcription factor) isoform, CRE – cAMP response elements, CREB – cAMP response element-binding

Penemuan gen penyandi dasar sejak 10 tahun lalu yaitu helix-loop-helix leucine zipper transkripsi microphthalmia transcription faktor gene (MITF), memberikan dorongan utama untuk studi regulasi transkripsi dalam garis keturunan melanosit. Memang, MITF tampaknya berada di pusat jaringan regulasi faktor transkripsi dan jalur pensinyalan yang mengontrol kelangsungan hidup, proliferasi dan diferensiasi melanoblas dan melanosit. Tidak hanya pengembangan melanosit yang dipengaruhi oleh protein ini tetapi juga pigmentasi melalui pengaturan efek transkripsional pada tirosinase, TRP-1 dan TRP-2. MITF dulu terbukti menjadi faktor transkripsi kunci untuk Rab27A, protein penting untuk transportasi melanosome. Karena itu, MITF memainkan peran sentral dalam sintesis melanin, serta biogenesis dan transportasi melanosome (Cichorek et al., 2013, Lin and Fisher, 2007).

c. Melanogenesis

Melanosom merupakan organela bermembran tempat sintesis melanin terjadi. Perkembangannya membutuhkan tyrosinase (TYR) dan protein terkait tirosinase (TYRP1, TYRP2). Tiga enzim tersebut, tyrosinase sangat penting untuk melanogenesis dan disintesis pada ribosom RER dan diangkut ke kompleks Golgi di mana ia mengalami glikosilasi, yang merupakan proses penting untuk struktur normal dan fungsi. Di dalam melanosom mengandung region catalytic (berkisar 90% dari protein) diikuti oleh region transmembran pendek dan region sitoplasma yang mengandung sekitar 30 asam amino. Residu histidin terletak pada region catalytic dari tyrosinase dan mengikat ion copper yang diperlukan untuk aktivasi tyrosinase.

Ada empat tahap dalam pengembangan melanosome (Tabel 1). Premelanosom (Tahap I) berbentuk bulat, vesikel kecil dengan matriks amorf. Melanosom pada Tahap II memiliki matriks fibrillar yang terorganisir dan terstruktur (utamanya dari family gp100) dan tirosinase ada tetapi pigmen sintesis belum ada. Awal mula melanin produksi berlangsung pada Tahap III, di mana pigmen disimpan pada protein fibril. Pada tahap IV pigmen terakhir mengisi seluruh melanosom. Melanosom bermelanin yang sepenuhnya kehilangan aktivitas tirosinase dan diangkut ke keratinosit sekitarnya oleh unsur-unsur sistem sitoskeletal.

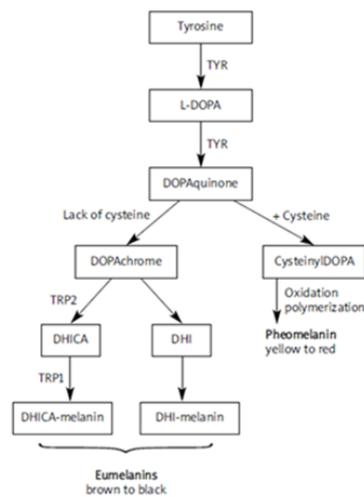
Melanosom features	Stage I	Stage II	Stage III	Stage IV
				
Shape	Spherical	Elongated	Elliptical, ellipsoidal	Elliptical, ellipsoidal
Internal structure	–	Matrix fibrils are visible	Matrix fibrils are visible	Matrix fibrils are covered by polymerized melanin
TYR	–	+	+	+
TYRP1	–	+	+	+
TYRP2	–	+	+	+
Melanin synthesis	–	–	Begins, settle on internal fibrils	Filled by melanin
Color			Brown	Dark brown to black

Gambar 5. Karakteristik tahap perkembangan melanosom selama sintesis melanin

Dua jenis utama melanin yang diproduksi yaitu pheomelanin dan eumelanin. Mereka berbeda dalam warna dan cara sintesis. Melanin memiliki banyak khasiat yang bermanfaat bagi tubuh seperti penyerapan penghamburan sinar UV, membersihkan radikal bebas, reaksi reduksi oksidasi dan penyimpanan ion.

Ketersediaan substansi dan fungsi dari enzim melanogenesis menentukan tentang jenis melanin yang dihasilkan. (Gambar 3). Proses melanogenesis berupa hidrosilasi tyrosine oleh Tyrosinase (TYR) menjadi L-3,4-dihydro xyphenylalanine (DOPA) yang cepat teroksidasi menjadi DOPAquinone. Kehadiran sistein DOPAquinone bereaksi DOPAquinone menghasilkan 3- atau 5-cysteinyIDOPA, yang kemudian mengoksidasi dan mempolimerisasi, menimbulkan melanin larut kuning-merah – pheomelanin. Dengan tidak adanya tiol (sistein, glutathione atau thioredoxin) eumelanin

coklat-hitam diproduksi. DOPAquinone secara spontan mengalami siklisasi ke DOPochrome . DOPochrome kehilangan secara spontan asam mengkatalisasi konversi lebih lanjut pada akhirnya membentuk warna coklat yang lebih muda DHICA-melanin.



Gambar 6. Skema sederhana sintesis melanin

Tirosin di bawah pengaruh enzim dasar seperti tirosinase (TYR), tirosin- protein terkait 1 (TYRP1) dan 2 (TYRP2) berubah menjadi polimer melanin, campuran pigmen bernama eumelanin

d. Transfer melanosom

Melanosom bergerak dari daerah perinuklear melanosit di mana mereka diproduksi menuju membran plasma karena fungsi mikrotubulus, filamen aktin, dan myosin, yang serupa untuk pergerakan organel lain dalam jenis sel lainnya . Dynein dan kinesin memediasi mikrotubulus- transportasi intraseluler dependen. Tiga gen pigmen berbeda diketahui sejauh ini terlibat dalam gerakan dinamis melanosom, dan mutasi dalam dari gen-gen tersebut menghasilkan akumulasi pigmen yang luar biasa di daerah perinuklear

melanosit mutan karena gangguan transportasi mereka ke pinggiran sel. Rab27a, melanophilin, dan myosin Va membuat kompleks menghubungkan melanosom ke motor berbasis F-actin. Rab27a (dikenal sebagai ashen pada tikus), melanophilin (dikenal sebagai timah), dan myosin Va (dikenal sebagai dilute) dan mutasi dari gen tersebut menyebabkan berbagai bentuk sindrom Griscelli (tipe II, III, dan I, masing-masing) pada manusia. *Rab27a* menautkan *synaptoagmin*- seperti *protein2-a (Slp2-a)* dengan fosfatidilserin, dengan demikian menempelkan melanosom pada membran plasma, yang menunjukkan peran Slp2-a sebagai pengatur melanosome eksositosis (Yamaguchi and Hearing, 2009). Setelah menempel pada tepi dendrit melanosit, melanosom dilepaskan dan menyatu dengan keratinosit berdekatan. Terdapat beberapa teori tentang mekanisme transfer melanosom, namun studi terbaru menyatakan bahwa transfer melanosom ke keratinosit kemungkinan terjadi melalui mekanisme fagositosis melanosom oleh keratinosit. Regulator utama transfer melanosom adalah *protease active-receptor-2 (PAR-2)*. Namun studi terbaru menyatakan bahwa membrane glikoprotein, PAR-2, niasinamid yang memodulasi pengenalan dan transfer melanosom ke keratinosit. Setelah melanosom ditransfer ke keratinosit maka mereka secara selektif dan dominan terlokasi pada bagian apek nucleus sehingga bisa efektif mengabsorpsi sinar UV melindungi nucleus dibawahnya dari kerusakan. Byers dan Maheswary melaporkan bahwa dynein dan

fagositosom melanosom agregat di sitoplasma yang memediasi jalur ini. Ketika keratinosit berdiferensiasi menjadi bentuk terminal yaitu korneosit, melanosom yang ada secara bertahap terdegradasi. Saat keratinosit berubah menjadi korneosit maka melanosom tidak lagi ditemukan, kecuali pada tipe kulit gelap terkadang masih ditemukan meskipun jarang(Boissy, 2003)

2.2.2. Faktor Yang Mempengaruhi Pigmentasi

Pigmentasi kulit konstitutif menggambarkan deteminasi genetik dari melanin dan dapat berubah oleh beberapa faktor berupa faktor intrinsik dan ekstrinsik.

A. Faktor intrinsik

Selain faktor intrinsik dari melanosit, keratinosit dan fibroblast melalui aktifitas parakrin dan autokrin, terdapat faktor lain yang mempengaruhi melanogenesis seperti sel endotel dan hormon melalui suplai darah, dari sel-sel inflamasi dan dari sistem saraf (Yamaguchi and Hearing, 2009, Videira et al., 2013).

Sel-sel endotel. Sel-sel endotel adalah sumber ET-1, PG, dan nitrit oksida (NO). NO tidak hanya berperan dalam relaksasi otot polos tetapi juga memulai melanogenesis, eritema, dan immunosupresi sebagai respons terhadap radiasi UV.

Sel-sel inflamasi. Hiperpigmentasi diamati secara klinis sebagai respons terhadap inflamasi. Mediator kimia yang diturunkan dari arakidonat,

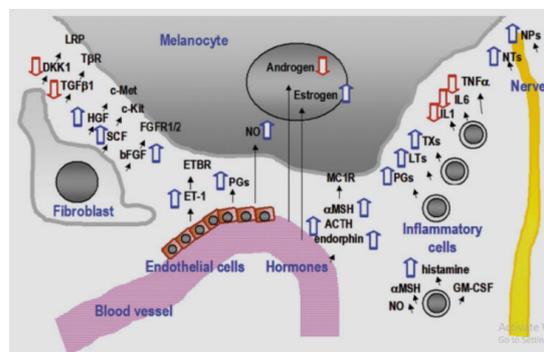
terutama Pg termasuk PGE2 dan PGF2a, leukotrien (LTs) termasuk LTC4 dan LTD4, dan thromboxanes (TXs) termasuk TXB2, bertanggung jawab atas pigmentasi yang disebabkan oleh peradangan karena bahan kimia tersebut merupakan penambah aktivitas TYR . Faktor-faktor lain yang berhubungan dengan peradangan yang meningkat melanogenesis termasuk histamin, NO, GM-CSF, dan α -MSH. Namun, tidak semua sitokin inflamasi meningkatkan pigmentasi kulit. Interleukin (IL) -1, IL-6, dan tumor necrosis factora (TNF α) dikenal untuk menekan pigmentasi kulit, yang menunjukkan pentingnya penjabaran lebih lanjut hubungan antara melanogenesis dan peradangan.(Yamaguchi and Hearing, 2009)

Saraf. Karena melanosit dan neuron berasal dari saraf sel puncak selama embriogenesis, faktor yang diturunkan sel saraf, termasuk neurotrofin (NTs, seperti NGF) dan neuropeptide (NP, seperti peptida yang berhubungan dengan gen kalsitonin / CGRP) memiliki efek stimulasi pada melanosit, yang mendukung teori neuronal untuk menjelaskan terjadinya vitiligo segmental(Costin and Hearing, 2007)

Hormonal. Hiperpigmentasi kadang-kadang terlihat selama kehamilan dan kondisi ini disebut melasma, chloasma, atau topeng kehamilan. Hal itu terjadi terutama di pipi, bibir atas, dagu, dan dahi. Meskipun POMC / MC1-R / cAMP adalah jalur utama, ada reseptor melanosit lain yang terkait dengan adenyl cyclase dan produksi cAMP, seperti reseptor muskarinik dan reseptor

α dan β estrogen. Katekolamin bisa diproduksi oleh keratinosit dari L-DOPA, yang prekursor melanin, dan dapat berikatan dengan reseptor adrenergik α 1 dan β 2 pada melanosit, merangsang melanogenesis melalui jalur cAMP dan PKC- β (Videira et al., 2013).

Melanosit mengandung cytosolic dan reseptor estrogen, menyebabkan melanosit pada pasien dengan melasma secara inheren lebih sensitif terhadap efek stimulasi estrogen dan kemungkinan hormon steroid seks lainnya. Estrogen memiliki efek signifikan pada berbagai jenis sel penting dalam fisiologi kulit, termasuk keratinosit, fibroblas, dan melanosit. Stimulasi proliferasi dan sintesis DNA keratinosit epidermis manusia oleh estrogen telah diperagakan in vitro dan itu telah diperlihatkan bahwa kultur keratinosit manusia memiliki afinitas tinggi pengikat estrogen. Selain meningkat proliferasi keratinosit, estradiol mempercepat sekresi GM-CSF oleh 3 kali lipat pada kultur keratinosit manusia. Baru-baru ini ditunjukkan bahwa androgen memodulasi aktivitas TYR melalui regulasi cAMP, pengatur utama pigmentasi kulit.



Gambar 7. Faktor yang mempengaruhi pigmentasi kulit

B. Faktor ekstrinsik

Radiasi sinar ultraviolet . UV adalah faktor ekstrinsik terpenting pada regulasi melanogenesis. Ini adalah stimulus utama untuk pigmentasi yang diinduksi atau didapat, yang dikenal sebagai "tanning". (Yamaguchi and Hearing, 2009). Respon pigmetasi ini memiliki dua fase yang berbeda diistilahkan dengan pewarnaan pigmen langsung (IPD) dan pigmentasi tertunda . Pigmentasi langsung biasanya dimulai selama paparan UV, maksimal dan memudar selama beberapa menit hingga beberapa hari tergantung pada dosis UV dan kulit individu. Tidak diperlukan sintesis pigmen baru, dan warnanya berubah tampaknya hasil dari redistribusi melanosom, yang organel subselular tempat melanin diendapkan, dari perikaryon ke dendrit melanosit epidermal. Pigmentasi tertunda terdeteksi 3-4 hari setelah satu paparan UV yang cukup. Pigmentasi tertunda memiliki puncak luas intensitas maksimum dari sekitar 10 hari hingga 34 minggu, tergantung pada total dosis UV dan kulit individu, dan memudar secara bertahap selama beberapa minggu. Paparan UV berulang dapat menghasilkan pigmentasi yang bertahan selama berbulan-bulan setelah paparan terakhir. Pigmetasi tertunda dimanifestasikan secara histologis dengan peningkatan jumlah melanosit, dendrisitas melanosit , jumlah melanosome dan derajat melanisasi, dan luasnya transfer melanosom ke keratinosit. Pigmen melanin paling banyak terdapat di lapisan basal kulit. Di kulit kecokelatan oleh sinar matahari atau

lainnya yang didominasi UVB (290- 320 nm) dapat juga melanin dijumpai dalam suprabasilar keratinocytes, sedangkan pigmentasi oleh UVA (320-400 nm) pigmen lebih terbatas pada lapisan basal saja. (Gilchrest et al., 1996)

Efek langsung radiasi UV terhadap melanosit paparan radiasi UV, sangat menunjukkan bahwa keratinosit mengeluarkan faktor spesifik yang bertanggung jawab untuk aktivasi melanosit yang diinduksi paparan UV. Karena itu, keratinosit tampaknya merupakan komponen seluler utama dalam respon pigmentasi fisiologis. Mekanisme ini dijelaskan pada gambar 3.

2.3. Agen pencerah kulit

Produk pencerah kulit tersedia secara komersial dengan tujuan kosmetik untuk mendapatkan warna kulit yang lebih terang. Secara klinis, mereka juga digunakan untuk pengobatan gangguan hiperpigmentasi seperti melasma, *cafe´ au lait spot* dan lentigo solaris. (Gillbro and Olsson, 2011).

Agen pencerah kulit memiliki berbagai mekanisme dalam mencerahkan kulit:

- a. Menghambat melanogenesis/ *Inhibitor tirosinase*
- b. Menghambat transfer melanosom
- c. Melanosit sitotoksik
- d. Mempercepat *epidermal turnover* dan deskuamasi
- d. Antioksidan, dll

Karena enzim tirosinase adalah enzim pembatas laju biosintesis melanin, banyak produk kosmetik dengan tujuan mencerahkan kulit

menggunakan efeknya pada enzim ini (Dover, 1991). Contoh produk tersebut adalah hidroquinon dan deoxyarbutin yang akan dibandingkan efektivitasnya sebagai agen pencerah kulit dalam penelitian ini.

2.4. Hidroquinon

2.4.1. Struktur Kimia dan Mekanisme Kerja



Gambar 8. Struktur kimia Hydroquinone

Hidroquinone (1,4-dihydroxybenzene; HQ) merupakan agen depigmentasi yang paling populer, diperkenalkan untuk penggunaan klinis sejak 1961. Hidroquinone (1,4-dihydroxybenzene; di USA. Hidroquinon digunakan dalam formulasi topikal sebagai agen pemutih kulit dan depigmentasi. Digunakan dalam pengobatan melasma (chloasma), freckles, lentigo senilis, dan hiperpigmentasi pascainflamasi. Penggunaan HQ ini dianggap sebagai penggunaan obat yang berada di bawah lingkup FDA. (Andersen et al., 2010). Hidroquinon disetujui untuk digunakan dalam krim pemutih kulit dengan kadar maksimal 2% sebagai produk *over-the-counter* (OTC) dan untuk konsentrasi lebih tinggi harus dengan resep dokter dengan kadar maksimal yang disetujui FDA hingga 4% hidroquinon bersama dengan dua bahan aktif tambahan.

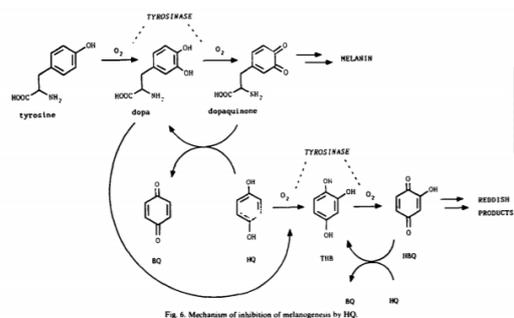
Beberapa percobaan telah menunjukkan kemanjuran terapeutiknya sendiri atau dalam hubungan dengan senyawa lain. HQ tampaknya mengerahkan efeknya terutama dalam melanosit dengan menghambat aktivitas tyrosinase, seperti melanosit epidermis hiperaktif dan telah dianggap sebagai referensi standar dalam mengevaluasi agen depigmentasi. Produk oksidasi adalah kuinon dan spesies oksigen reaktif (ROS), yang menyebabkan kerusakan membran oksidatif lipid dan protein, termasuk tirosinase, dan penipisan glutathione berkontribusi pada aksi pencerahan. HQ mungkin mengganggu pigmentasi bahkan melalui: (i) kovalen mengikat histidin atau berinteraksi dengan tembaga di aktif situs tirosinase, (ii) penghambatan DNA dan RNA sintesis dan (iii) perubahan pembentukan melanosom dan tingkat melanisasi.

Passi and Nazzaro-Porro menunjukkan bahwa HQ bukan sebagai tirosin inhibitor namun lebih tepatnya beraksi sebagai substrat alternatif dari enzim. Penemuan ini didukung oleh Havens dan Trampusch yang menunjukkan bahwa dengan adanya aksi dari tyrosinase, HQ secara cepat di konsumsi dan berubah menjadi produk yang tidak dikenali, bersamaan dengan BQ (benzoquinone) sebagai metabolit minor. Dengan menggunakan kombinasi teknik analitik *Palumbo et al* memperoleh bukti konklusif bahwa HQ merupakan substrat yang buruk untuk enzim tyrosinase, namun dengan adanya sejumlah katalitik dopa yang dihasilkan dari tirosin dalam percobaan

ko-oksidasi atau sengaja ditambahkan untuk campuran inkubasi, dikonsumsi secara efisien oleh enzim, dan menjadi kompetitor yang efektif dari substrat 'alami' tirosin. Pada percobaan, kepekaan HQ untuk tirosinase mengejutkan karena efek pelepasan elektron yang kuat dari kelompok para-hidroksil pada cincin fenol, jauh melebihi rantai samping alanin, dan aksesibilitas jalur dehidrogenasi yang mengarah ke BQ yang stabil bersama HQ memiliki kemampuan oksidasi yang jauh lebih tinggi daripada tirosin. Alasan yang masuk akal dari perbedaan ini adalah dengan menganggap bahwa di hadapan dopa konfirmasi kritis perubahan tyrosinase terjadi, dimana enzim diaktifkan ke arah yang kurang efektif yaitu substrat HQ.

Bahwa oksidasi HQ yang cepat karena kehadiran dopa katalitik adalah hasil dari enzimatik sejati dibandingkan proses redoks cyclic sederhana dengan mengorbankan pasangan dopa-dopaquinone, terlihat dari pembentukan preferensial HBQ lebih dari BQ. Namun, ada kemungkinan bahwa beberapa BQ diproduksi selama oksidasi HQ berasal dari proses redoks cyclic dimediasi oleh dopa. Hal ini akan memastikan bahwa setiap dopaquinone yang terbentuk secara enzimatik akan dikurangi kembali menjadi dopa oleh HQ, sehingga tingkat konstan kofaktor tersedia untuk menjaga tyrosinase tetap aktif. Nasib kimiawi HBQ saat ini sedang diselidiki dan dapat melibatkan beberapa pertukaran redoks dengan yang terbaik untuk memberikan dimerisasi HQ ke BQ dan atau reaksi gabungan dengan spesies

fenolik dan kuinonoid yang ada dalam campuran inkubasi untuk akhirnya menghasilkan pigmen coklat kemerahan. (Palumbo et al., 1991)



Gambar 9. Mekanisme inhibisi melanogenesis oleh HQ

2.4.2. Absorpsi, Ekskresi dan Eliminasi

Hydroquinone cepat diserap dan diekskresikan dalam urin pada tikus setelah pemberian oral. Penyerapan topikal dalam vehikulum alkohol lebih besar daripada dari larutan berair. Hydroquinone dalam larutan berair diserap melalui kulit manusia di tingkat 0,55 + 0,13mg / cm² per jam (Andersen et al., 2010).

Percobaan pada kulit manusia (tebal 500 mm) dari 6 donor digunakan untuk memeriksa penetrasi 2% krim HQ tunggal dan dikombinasi dengan pretreatment 2% sodium azide saja dan kombinasi pretreatment dengan 2% sodium azide. Didapatkan jeda waktu 8 jam dicatat dan diyakini dikaitkan dengan waktu yang diperlukan untuk krim HQ untuk menembus kulit dan ke dalam cairan penerima (Andersen et al., 2010). Penyerapan HQ manusia pada aplikasi topikal kurang efisien dibandingkan dengan pemberian oral. Ketika

penyerapan diukur sebagai eliminasi hidrokuinon melalui urin setelah aplikasi (2,0% dalam alkohol) ke dahi sukarelawan manusia (6 laki-laki sukarelawan) selama 24 jam, rata-rata penyerapan perkutan yang dilaporkan adalah 57% (SD = 11%) dengan puncak eliminasi dalam waktu 12 jam dan eliminasi total pada 5 hari. (Bucks et al., 1988) Produk utama diamati dari proses metabolisme adalah konjugat sulfat dan glukuronida. Oksidasi menjadi 1,4-benzoquinon menghasilkan metabolit reaktif yang membentuk konjugat mono atau polyglutathione. Konjugat glutathione diyakini sebagai agen penyebab nefrotoksisitas hewan pengerat dan karsinogenesis ginjal. Konstanta laju metabolisme untuk konversi HQ ke konjugat monoglutathione (HQ-SG) dan selanjutnya ke asam merkapturat (HQ-Cys) dalam biakan hepatosit yang diisolasi dari F344, tikus dan manusia diukur. Hepatosit manusia juga menunjukkan yang lebih tinggi kapasitas untuk metabolisme HQ-SG ke HQ-Cys daripada tikus hepatosit. Asetilasi lebih disukai daripada deasetilasi dalam kedua spesies. Secara keseluruhan, penulis menyimpulkan bahwa kapasitas untuk metabolisme HQ dan HQ-SG lebih besar pada manusia daripada pada tikus, menunjukkan kapasitas yang lebih besar untuk detoksifikasi konjugat.

2.4.3 Efek Samping

a. Sistem Saraf

DeCaprio (1999) mengemukakan bahwa efek akut yang dihasilkan oleh paparan hidrokuinon tingkat tinggi terutama mempengaruhi sistem saraf pusat

(SSP), dengan tanda-tanda termasuk tremor, air liur, hipereksitabilitas, koordinasi, kejang-kejang, gagal pernapasan, koma, dan kematian (DeCaprio, 1999) Ditemukan bahwa tremor terjadi dalam 1 jam pemberian oral 64 atau 200 mg / kg hidrokuinon pada tikus percobaan (Topping et al., 2007).

Terdapat satu laporan kasus yang menyatakan bahwa aplikasi hidrokuinon dermal dapat menyebabkan neuropati perifer pada manusia. Kasus ini melibatkan seorang wanita berusia 30 tahun yang telah menggunakan dua krim pemutih kulit yang mengandung hidrokuinon selama kurang lebih 4 tahun. Wanita itu memiliki kelemahan, sensasi terbakar, hilangnya refleks tendon dalam, dan gangguan sensasi dalam pada ekstremitas bawahnya, bersama dengan tekanan darah yang sangat rendah. Setelah 4 bulan tidak menggunakan krim pemutih kulit, gejala hilang (Karamagi et al., 2001).

b. Kulit

Eksogen Okronosis

Okronosis eksogen dapat menjadi akibat aplikasi topikal hidrokuinon, fenol, resorinol, atau konsumsi oral antimalaria. Okronosis eksogen akibat HQ pertama kali dideskripsikan pada tahun 1975 oleh Findlay pada pasien yang secara teratur menggunakan agen pemutihan topikal ini. Kondisi ini terjadi secara eksklusif pada pasien dengan fototipe tinggi (Klasifikasi Fitzpatrick). Okronosis eksogen karena penggunaan HQ secara terus menerus dan kronis,

belum tentu dalam konsentrasi tinggi. Okronosis eksogen akibat penggunaan HQ 2% telah diuraikan. Ada berbagai teori yang menjelaskan okronosis eksogen. Yang paling diterima adalah *Penneys* yang menghubungkan hiperpigmentasi disebabkan hambatan enzim oksidase homogentisik oleh HQ. Hambatan ini seperti pada okronosis endogen, menimbulkan akumulasi homogentisic asam yang berpolimerisasi membentuk pigmen okronosis di papiler dermis.

Okronosis eksogen bermanifestasi sebagai hiperpigmentasi pada daerah yang terpapar matahari. Ini terjadi pada permukaan osseous dan sering mempengaruhi wilayah zygomatic, memiliki pola simetris. Lesi berupa makula abu-abu-coklat atau biru-hitam biasanya dengan papula hiperkromik, pinpoint, seperti kaviar (Charlín et al., 2008). *Simmons et al dan Levin and Maibach* melaporkan kasus-kasus okronosis eksogen akibat pemakaian HQ jangka panjang dengan konsentrasi bervariasi antara 2-6% (Simmons et al., 2015, Levin and Maibach, 2001).

Iritasi Kulit

Laporan iritasi kulit atau alergi yang berhubungan dengan hidrokuinon jarang terjadi. Studi yang melibatkan kelompok yang lebih besar umumnya mencatat efek samping ringan dan sementara, biasanya dalam sebagian kecil dari subyek, yang termasuk eritema, pengelupasan kulit, sensasi terbakar dan

reaksi uji tempel yang mengiritasi (Bentley-Phillips dan Bayles, 1975; Kanerva et al., 1999; Taylor et al., 2003; Torok et al., 2005; O'Donoghue, 2006).

Vitiligo / leukoderma

Merupakan penyakit kulit yang ditandai dengan hilangnya pigmen akibat kematian atau disfungsi melanosit. Kontak leukoderma dapat terjadi ketika kulit terpapar bahan kimia dengan struktur yang mirip dengan tyrosine (Fisher, 1994). Setidaknya 5 kasus leukoderma kontak telah dilaporkan terkait dengan penggunaan krim kulit yang mengandung hidroquinone (Fisher, 1982; Romaguera dan Grimalt, 1985). Krim mengandung 2% (Fisher, 1982) atau 3% (Romaguera dan Grimalt, 1985) hidroquinone. Dalam kasus ini bukan mencerahkan melainkan terjadi depigmentasi lengkap di daerah yang dirawat (Fisher, 1998). Kondisi ini dapat menyebabkan area-area depigmentasi berupa bercak-bercak dengan daerah-daerah seperti hiperpigmentasi (leukoderma-en-confetti) (Confetti, 1998). Kondisi ini bukan respons alergi dan tidak terdeteksi oleh uji tempel (Fisher, 1998). Pada setidaknya satu kasus, kontak leukoderma menunda operasi, karena depigmentasi terjadi di pusat lesi lentigo maligna, menunjukkan bahwa HQ dapat mempengaruhi melanosit abnormal selain melanosit normal (Fisher, 1998).

c. Kesuburan

Data kesuburan terbaru menunjukkan bahwa HQ kurang toksik. Studi yang melibatkan HQ pada toksisitas reproduksi sudah lama (beberapa berasal

dari 1950-an dan menggunakan dosis tinggi dan tidak ada standar protokol. Studi modern dengan teratogenisitas terstandarisasi dan bioassay reproduksi gagal menunjukkan toksisitas reproduksi. Rincian diberikan dalam tinjauan luas toksikologi hidrokuinon oleh DeCaprio (DeCaprio, 1999).

d. Karsinogenesis dan mutagenesis

Studi karsinogenesis tentang pemberian secara oral hidrokuinon telah mengindikasikan 'beberapa bukti' dari karsinogenisitas pada tikus. HQ memiliki efek nefrotoksisitas secara genetik pada tikus tikus yang rentan, namun tidak terjadi pada manusia, dan tidak ada bukti toksisitas ginjal didokumentasikan untuk HQ pada manusia setelah in vivo atau paparan topikal dan oral. Pada percobaan pada hewan, tidak ada metabolit benzene termasuk phenol, HQ atau benzoquinone yang berpotensi menimbulkan peningkatan level myelotoxic. Namun mononuklear sel leukemia diobservasi pada tikus betina yang mendapat HQ oral selama 2 tahun, dan tidak ditemukan perubahan myelotoxic pada manusia pada pemakaian jangka panjang.

Karena tidak ada hasil bioassay NTP (National Toxicology Program) yang menunjukkan bukti karsinogenisitas, agen internasional untuk penelitian kanker tersebut menempatkan HQ dalam kategori 3; yaitu tidak dapat diklasifikasikan sebagai penyebab karsinogenik pada manusia.

2.5. Deoxyarbutin

2.5.1 Struktur Kimia

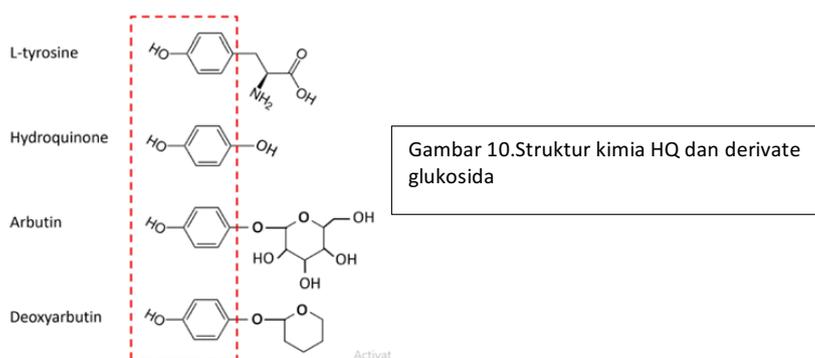
Deoxyarbutin (dA) atau (4-(tetrahydro-2H-pyran-2yl)oxy)phenol,D-Arb) merupakan derivat glukosida dari HQ. Agen pencerah kulit ini disintesis dengan melepaskan gugus hidroksil dari rantai glukosa dari beta-arbutin. Karena tidak memiliki struktur beta-glukosida diharapkan dapat menjadi substrat untuk enzim beta-glukosida yang terdapat di kulit bakteri dan jaringan manusia. Karena dA kehilangan grup hidroksil dari bagian glukosa, diharapkan zat ini menjadi lebih lipofilik dan lebih mudah diserap ke dalam kulit dibandingkan arbutin (alpha atau beta- arbutin).

dA digunakan sebagai bahan aktif pencerah kulit dalam preparat kosmetik dengan konsentrasi maksimum 3%. Meskipun berdasarkan bukti ilmiah dikatakan aman untuk digunakan dalam produk kosmetik sampai konsentrasi maksimal 3% dalam cream wajah, namun HQ dapat terbentuk pada tingkat yang menimbulkan kekhawatiran terkait keamanan produk tersebut selama siklus produk (seperti kondisi penyimpanan, stabilitas saat pemakaian). Sehingga disimpulkan bahwa penggunaan dA dengan konsentrasi sampai 3% tidak aman.

Dilaporkan bahwa dA stabil selama setidaknya 2 tahun ketika terlindung dari kelembaban, suhu di atas 8 ° C dan cahaya. Namun, dA tidak stabil dalam media yang sedikit asam dan terhidrolisis menjadi HQ pada suhu kamar . Ini

relevan ketika digunakan dalam produk kosmetik pada kulit (yang memiliki pH agak asam), dan ketika ada paparan suhu dan cahaya yang lebih tinggi. Oleh karena itu, dalam kondisi penggunaan, harus dipertimbangkan bahwa dA dapat mengalami hidrolisis menjadi HQ.

Perkiraan tentang kemungkinan kandungan HQ dalam formulasi dA berasal dari uji stabilitas dalam larutan dan “kontaminasi” bahan awal yang dilaporkan sekitar $5 \pm 2\%$ HQ dalam I – basis krim yang diterapkan dalam studi kinetik dengan marmut. Dengan tidak adanya data lain, SCCS mengasumsikan 10% HQ sebagai kontaminan dalam dA dalam kondisi digunakan.



2.5.2 Mekanisme Kerja

Deoxyarbutin menunjukkan kemampuan luar biasa untuk menurunkan regulasi sintesis melanin melalui penghambatan tyrosine hydroxylase dan aktivitas DOPA-oxidase dari tirosinase dalam melanosit manusia yang utuh..Analisis umpan balik *Lineweaver-Burk* menunjukkan bahwa inhibitor

tyrosinase yang diuji adalah inhibitor kompetitif. Jenis penghambatan ini menunjukkan bahwa senyawa ini mengikat sebagai analog substrat monofenolik, yaitu di situs yang sama dengan tirosin, hingga bentuk oksitirosinase (Eoxy) . Interaksi ini antara inhibitor dan tirosinase menunjukkan afinitas tinggi sebagaimana tercermin dalam nilai K_i rendah.

dA penghambat potensial tyrosinase, bisa bertindak sebagai substrat enzim. Oxytyrosinase mampu menghidroksilasi deoxyarbutin dan menyelesaikan siklus katalitik dengan mengoksidasi membentuk o-difenol menjadi kuinon, sedangkan enzim menjadi deoksityrosinase, yang berevolusi untuk oxytyrosinase dengan adanya oksigen. Senyawa ini adalah satu-satunya yang dijelaskan tidak melepaskan o-difenol setelah langkah hidroksilasi. Oksitirosinase menghidroksilasi dA dalam posisi orto dari gugus hidroksil fenolik melalui substitusi elektrofilik aromatik. Karena orbital oksigen dan atom tembaga bukan coplanar, tetapi dalam posisi aksial / ekuator, oksidasi / reduksi terpadu tidak dapat terjadi dan terlepas dari atom tembaga untuk mengikat lagi dalam posisi coplanar, memungkinkan oksidasi / reduksi atau pelepasan o-difenol dari situs aktif ke medium. Dalam kasus deoxyarbutin, the o-difenol yang terbentuk ditolak oleh air karena hidrofobitasnya, sehingga dapat mengikat dengan benar dan dioksidasi menjadi kuinon sebelum dilepaskan. Simulasi dari interaksi β -arbutin, deoxyarbutin dan produk o-difenolnya dengan tyrosinase menunjukkan bagaimana ligan ini mengikat di pusat tembaga

tirosinase. Adanya penghalang energi dalam pelepasan produk o-difenol dari deoxyarbutin, yang tidak ada dalam kasus β -arbutin, bersama dengan perbedaan dalam polaritas dan, akibatnya perbedaan interaksi dengan air membantu memahami perbedaan dalam perilaku kinetik kedua senyawa ini. Oleh karena itu, diusulkan agar pelepasan produk o-difenol dari deoxyarbutin dari situs aktif mungkin lebih lambat daripada dalam kasus β -arbutin, berkontribusi terhadap oksidasi ke kuinon sebelum dilepaskan dari protein ke dalam fase air.

2.5.3 Absorpsi, metabolisme dan Toksikokinetik

a. Absorpsi

Studi penyerapan percutan manusia in vitro dilakukan di bawah persyaratan pedoman saat ini dan di bawah kondisi GLP menunjukkan bahwa setelah aplikasi dermal dA 3% dalam emulsi standar o / w (160,81 μg deoxyarbutin / cm^2) diterapkan selama 24 jam untuk kulit yang layak dari tiga wanita donor, dA terdeteksi di semua kompartemen yang relevan untuk menilai penyerapan dan penetrasi kulit. Pemulihan mengungkapkan tidak ada indikasi degradasi bahan uji. Ketersediaan kulit yang tinggi dari $58,12 \pm 11,96\%$, sesuai dengan $93,66 \pm 20,15 \mu\text{g dA} / \text{cm}^2$ diamati. Karena beberapa keterbatasan dalam penelitian in vitro (rendahnya jumlah donor), SCCS mempertimbangkan untuk menggunakan rata-rata + 2 SD, yaitu 80,04% atau 134 $\mu\text{g} / \text{cm}^2$ untuk penetrasi kulit dalam penilaian keamanan.

b. Metabolisme

Metabolisme hati dA in vitro, diperiksa dalam hepatosit dari kelinci, tikus, kelinci percobaan dan manusia, terbukti cepat dan lengkap. Glukuronidasi dan sulfonasi ditunjukkan sebagai jalur metabolisme utama. Tidak ada metabolisme HQ atau produk penguraiannya yang terdeteksi secara in vitro. Informasi tentang metabolisme hati dA tersedia, sementara data tentang metabolisme di kulit manusia masih kurang. Studi skrining yang tersedia pada penetrasi kulit dan nasib metabolisme dA pada kelinci percobaan menunjukkan penyerapan tinggi dA yang menembus cepat melalui kulit; itu glukuronidasi dan sulfonasi, dan kemudian dengan cepat diekskresikan. dA ditemukan memiliki profil metabolisme yang berbeda dari HQ menunjukkan bahwa HQ tidak dapat dihasilkan di kulit atau secara sistemik setelah aplikasi topikal dA. Ini didukung oleh fakta bahwa dalam studi penetrasi kulit secara in vitro menggunakan kulit manusia, pemulihan tidak menunjukkan indikasi degradasi bahan uji. Informasi dari studi in vivo dengan aplikasi topikal pada marmut menunjukkan metabolisme dA fase II yang luas.

c. Toksisitas

Toksisitas oral dan kulit akut dari dA dapat dianggap rendah. Studi yang dilakukan sesuai dengan pedoman pengujian saat ini di bawah kondisi GLP dengan bahan uji yang ditandai menghasilkan nilai LD50 untuk toksisitas oral dan kulit akut > 2000 mg / kg bb pada tikus. Studi oral sebelumnya pada ,

dermal dan intraperitoneal akut dengan validitas terbatas umumnya mengkonfirmasi toksisitas akut rendah untuk semua rute aplikasi pada spesies yang diuji.

Toksitas sistemik setelah aplikasi oral berulang pada tikus jantan dan betina selama 28 hari adalah rendah dan efeknya hanya dapat diamati pada tingkat dosis batas yang diterima secara internasional saat ini yaitu 1000 mg / kg bb yang terdiri dari temuan klinis sementara, sedikit konsumsi makanan dan berat badan terbelakang, efek hematologis minor pada wanita dan sedikit penurunan parameter kimia klinis tunggal. Berat hati relatif dari kedua jenis kelamin dan bobot ginjal relatif dari laki-laki meningkat tetapi tanpa korelasi histopatologis. Pada pengamatan fungsional tidak menunjukkan indikasi adanya gangguan neurologis pada tingkat dosis apa pun. The No-Adverse-Effect-Level (NOAEL) untuk toksitas subakut pada tikus setelah 28 hari pengobatan oral adalah 316 mg / kg bb. Nilai ini dapat dianggap sebagai gambaran terburuk untuk dA karena lingkungan asam lambung akan menyebabkan degradasinya menjadi Hq yang kemudian menyebabkan keracunan yang diamati. Juga mengingat efek rute yang teramati yang diamati dalam tes genotoksitas in vivo. SCCS menyimpulkan bahwa rute aplikasi oral harus dianggap tidak tepat untuk menyelidiki keamanan dA dalam konteks aplikasi dermalnya, oleh karena itu memilih studi toksitas kulit subkronik untuk memperoleh NOAEL untuk perhitungan margin keselamatan. Aplikasi

kulit berulang dari deoxyarbutin pada kelinci baik sebagai formulasi krim 3% selama 28 hari atau sebagai 1, 5 dan 40% larutan propilen glikol / etanol selama 91 hari tidak mengarah pada temuan sistemik terkait-zat apa pun hingga tingkat dosis tertinggi yang diselidiki. NOAEL masing-masing untuk toksisitas sistemik pada kelinci adalah 40% dA sesuai dengan sekitar 800 mg / kg bb. Nilai ini akan digunakan untuk penilaian risiko dan perhitungan margin of safety (MoS).

2.5.4 Uji Keamanan

a. Iritasi kulit dan membrane mukosa

Deoxyarbutin tidak menunjukkan potensi korosif pada kulit dalam uji TER in vitro dan terbukti tidak menyebabkan iritasi pada kulit kelinci New Zealand White yang utuh. Dalam tes iritasi mata menggunakan kelinci New Zealand White, iritasi mata sedikit dan sementara, tetapi skor ambang batas untuk klasifikasi sebagai iritasi mata tidak tercapai. Namun, karena kemerahan dan khususnya kemosis diamati selama periode pengamatan, zat uji dianggap sebagai iritasi mata ringan. Formulasi krim standar yang mengandung dA 3% tidak menyebabkan tanda-tanda iritasi mata pada kelinci, tetapi volume rendah formulasi uji (sekitar 10 µl, yaitu 1/10 dari volume yang direkomendasikan dalam OECD TG 405) yang digunakan dalam penelitian ini menghalangi evaluasi potensi iritasi mata dari formulasi tes. Tes patch berulang pada

manusia tidak mengungkapkan potensi iritasi kulit untuk deoxyarbutin pada konsentrasi hingga 6,0%.

b. Sensitasi Kulit

Potensi kepekaan dA diselidiki dalam dua tes kelenjar getah bening lokal murine. Studi yang lebih baru menyelidiki konsentrasi 10% - 50% dan dilakukan sesuai dengan pedoman OECD dan EC yang sebenarnya. Penelitian sebelumnya menyelidiki konsentrasi 3% - 20%, tetapi jumlah hewan dan hari paparan sedikit lebih tinggi serta pengukuran kelenjar getah bening individu digunakan. Tes kelenjar getah bening lokal yang dilakukan menunjukkan bahwa dA adalah perangsang kulit sedang.

c. Efek mutagenik dan genotoksik

Secara keseluruhan, genotoksisitas dA cukup diselidiki dalam tes genotoksisitas yang valid untuk 3 titik akhir genotoksisitas: mutasi gen, penyimpangan kromosom, dan aneuploidi. dA tidak menyebabkan mutasi gen pada bakteri. Pada limfosit manusia, dA menunjukkan potensi clastogenik dengan dan tanpa aktivasi metabolik. Namun, ketika reaksi clastogenik diamati dengan dan tanpa enzim pengaktif metabolik, dan dA diketahui tidak stabil pada nilai pH yang lebih rendah, hidrolisis kimia terhadap hidrokuinon dapat terjadi pada suatu batas tertentu. Kemudian, bukan sebagai dA melainkan produk kimia pemecahannya yaitu Hq, agen klastogenik dan sitotoksik yang dikenal secara in vitro dan in vivo. Hasil in vitro positif pada klastogenisitas

tidak dikonfirmasi dalam dua tes mikronukleus terpisah dengan dA di bawah prosedur aplikasi standar injeksi intraperitoneal. Sebaliknya, tingkat dosis deoxyarbutin yang diaplikasikan secara oral diinduksi mikronukleus dalam eritrosit polikromatik dari sumsum tulang tikus jantan dan betina. Ini diharapkan karena kerusakan kimia dari dA menjadi Hq di lingkungan asam lambung. Dengan demikian, rute aplikasi oral untuk menyelidiki kemungkinan genotoksik atau potensi klastogenik dari dA harus dianggap tidak tepat dalam konteks evaluasi keamanan zat yang diterapkan melalui kulit. Deoxyarbutin tidak menginduksi peningkatan jumlah sel spermatogonial dengan penyimpangan kromosom struktural atau numerik. Namun, karena kurangnya indikasi paparan sel spermatogonial, tes ini memiliki nilai terbatas. Berdasarkan laporan ini, senyawa induk deoxyarbutin dapat dianggap tidak memiliki potensi genotoksik in vivo dan tes tambahan tidak diperlukan. Arbutin dianggap dimetabolisme secara berbeda oleh glikosidase yang berbeda atau dengan hidrolisis spontan, namun semuanya membentuk hidrokuinon (HQ). Yang terakhir dianggap sebagai bagian genotoksik; oleh karena itu pembacaan berdasarkan pelepasan HQ adalah kemungkinan untuk menilai potensi genotoksik arbutin sebagai suatu kelompok.

d. Toksisitas reproduksi

Studi toksisitas perkembangan dan reproduksi belum diajukan. Aplikasi dA oral yang diulang selama 28 hari pada tikus hingga batas dosis dosis 1000

mg / kg bb serta aplikasi kulit berulang pada kelinci hingga 3 bulan dan konsentrasi uji tertinggi 40% (sesuai dengan sekitar 800 mg / kg bb) tidak menyebabkan indikasi gangguan pada organ reproduksi pria atau wanita.

e. Photo-induced toxicity

dA terbukti tidak memiliki fotoiritasi dan tidak memiliki potensi fotoalergi ketika diuji dalam konsentrasi hingga 50% dalam propilen glikol di bawah kondisi penelitian gabungan pada marmot jantan dan betina.

Data pada manusia menunjukkan perlakuan tes patch berulang pada manusia yang independen menunjukkan bahwa deoxyarbutin hingga konsentrasi 6,0% tidak menunjukkan potensi iritasi kulit atau sensitasi pada manusia.

2.6. Alat Ukur Penelitian Chroma Meter

Warna kulit manusia merupakan kombinasi selektif penyerapan dan penghamburan oleh sejumlah panjang gelombang. Beberapa molekul dan partikel utama penyerap cahaya disebut kromofor. Tiga kromofor dominan yang ada di epidermis adalah eumelanin, pheumelanin, dan karotin. Kromofor lain yang terletak pada pembuluh darah dermis yaitu oxyhemoglobin dan bilirubin (Piérard, 1998). Melanin memiliki tingkat absorpsi tidak terbatas terhadap semua spektrum warna. Karoten jarang tampak pada kulit normal dan berwarna kuning. Hemoglobin cukup spesifik dan memiliki absorpsi yang tinggi terhadap spektrum cahaya hijau dan absorpsi rendah terhadap warna

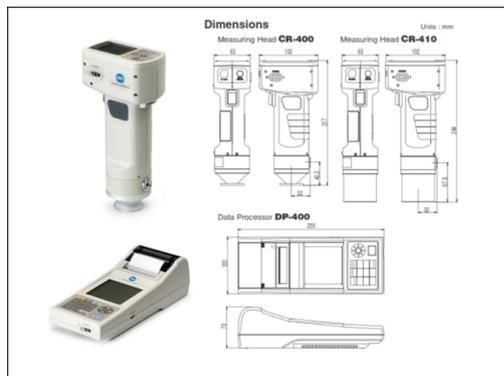
merah. Dengan meningkatnya eritema maka dan semakin banyak cahaya hijau yang diabsorpsi dan sedikit yang dihamburkan. Optik kulit tergantung kromofor pada melanin yang ada di epidermis dan hemoglobin yang terletak lebih dalam di dermis. refleksi pada kulit. Gelombang panjang (warna merah) dapat penetrasi lebih dalam pada kulit sehingga menyebabkan absorpsi yang lebih besar pada jaringan, hal ini menjelaskan mengapa struktur yang lebih dalam seperti pembuluh arteri dan vena berwarna lebih kontras dan tampak kebiruan (Fullerton et al., 1996).

Pengukuran warna kulit adalah yang paling penting bagi para peneliti dan dokter yang terlibat dalam dermatologis serta bidang kosmetik. Pengukuran non-invasif kandungan melanin epidermis diperlukan untuk studi in vivo yang melibatkan depigmentasi kulit dan repigmentasi (Kasraee, 2016). Warna adalah persepsi radiasi elektromagnetik pada kisaran panjang gelombang 400-700 nm yang ditangkap mata dan diteruskan menjadi stimulasi perspektif oleh otak. Warna yang terlihat adalah kombinasi trikromatik merah, biru dan hijau. Hampir semua studi komparatif menunjukkan bahwa mata manusia dapat membedakan warna secara spesifik sama dengan perangkat spesifik. Namun penilaian kuantitatif dan repetitif menjadi reliable jika pengukuran dibuat secara objektif. Hal ini dapat dilakukan dengan menggunakan alat reflektan tristimulus colorimetry CIE (Commission Internationale de l'Eclairage).

Chromameter (Minolta, Osaka, Japan) adalah instrument tristimulus kalorimetri berdasarkan pemindaian spektrofotometri reflektansi (Kasraee, 2016). Dengan instrumen ini permukaan kulit diterangi oleh lampu busur xenon berdenyut. Cahaya terpantul secara tegak lurus ke permukaan dikumpulkan untuk analisis tristimulus warna pada 450, 560 dan 600 nm, menggunakan warna sistem $L^* a^* b^*$, sebagaimana ditentukan oleh CIE . Secara khusus, sistem $L^* a^* b^*$ sangat mudah dipahami, dengan parameter L^* mengekspresikan kecerahan warna (bervariasi antara a nilai 100 untuk permukaan putih dan 0 untuk permukaan hitam) (Sabancilar et al., 2011). Parameter a^* mewakili perubahan sepanjang sumbu merah hingga hijau dengan perubahan dari + 60 untuk permukaan merah - 60 untuk permukaan hijau. Parameter b^* berubah dari + 60 untuk permukaan kuning hingga - 60 untuk permukaan biru. (Clarys et al., 2000).

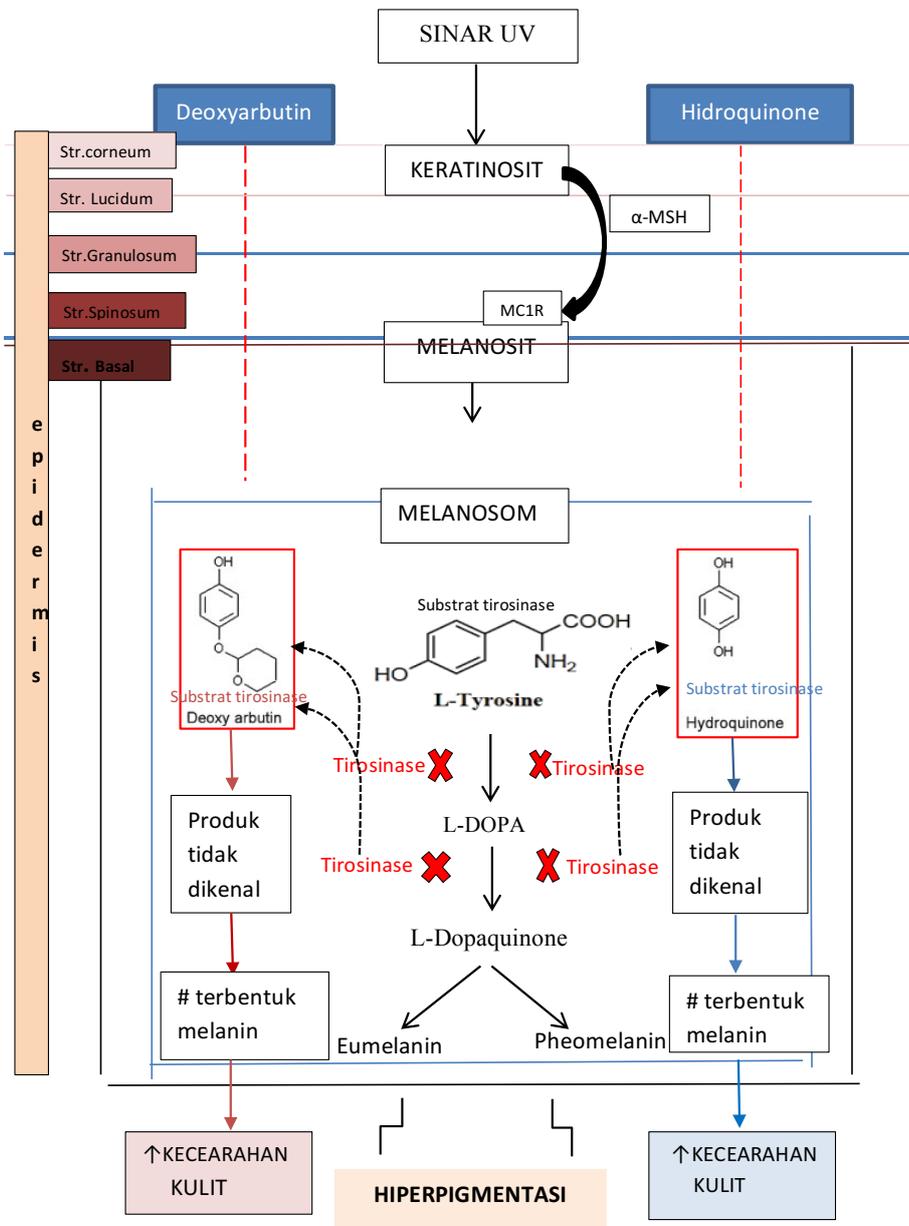
Dengan sistem CIE dapat menilai hubungan antara jumlah kromofor kulit dan perubahan nilai $L^* a^* b^*$ dan indeks eritema dan melanin pada kulit. Nilai L^* , b^* , atau kombinasi L^* dan b^* adalah parameter yang sesuai untuk evaluasi derajat pigmentasi, jika volume darah kulit konstan pada tiap kali pengujian. Nilai a^* dan indeks eritema merupakan parameter yang baik untuk mengevaluasi derajat eritema atau volume darah kulit. (Takiwaki, 1998). Pengukuran aktifitas agen depigmentasi seperti hidroquinon dan agen untuk menggelapkan warna kulit seperti DHA dapat dilakukan menggunakan

spektometri atau kalorimetri dengan mengukur nilai L^* , b^* , Chroma C^* atau ITA° (*Individual Typology Angle*)(Piérard, 1998)

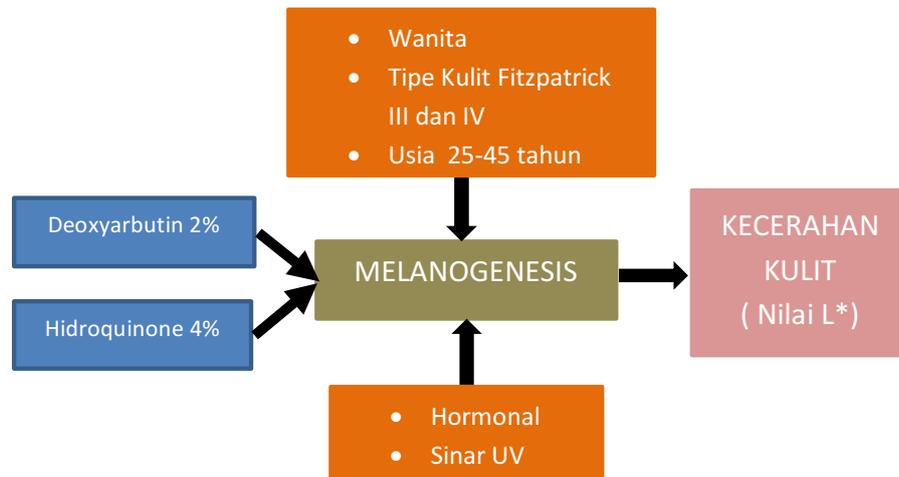


Gambar 11. Konica Minolta Chroma Meter Model CR-400[®]

2.7 Kerangka Teori



2.8 Kerangka Konsep



Keterangan :

