

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Paparan sinar ultraviolet (UV) dan polusi udara merupakan faktor lingkungan utama yang memicu peningkatan stres oksidatif pada kulit. Kedua faktor ini menginduksi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS) secara berlebihan, sehingga menyebabkan kerusakan biomolekul seluler seperti lipid, protein, dan DNA. Kerusakan ini berperan dalam penuaan dini, inflamasi, serta penurunan viabilitas sel kulit (Zaid *et al.*, 2022). Sel keratinosit manusia, khususnya sel HaCaT, sebagai komponen utama epidermis, menjadi model *in vitro* yang sangat relevan untuk mengevaluasi kerusakan kulit akibat stres oksidatif serta efek protektif senyawa bioaktif (Kim *et al.*, 2021). Meskipun kulit memiliki sistem pertahanan antioksidan endogen, paparan lingkungan yang kronis dapat melampaui kapasitasnya, sehingga memerlukan suplementasi antioksidan eksogen (Pizzino *et al.*, 2017).

Sistem pertahanan antioksidan endogen pada kulit, seperti glutathione dan enzim antioksidan, berperan penting dalam menjaga keseimbangan redoks sel. Tetapi, paparan UV dan polutan yang berkepanjangan dapat melampaui kapasitas sistem pertahanan tersebut, sehingga diperlukan antioksidan eksogen untuk membantu menekan dampak stres oksidatif (Zhang *et al.*, 2021). Dalam beberapa tahun terakhir, penelitian terhadap sumber antioksidan alami meningkat karena dinilai lebih aman dan berpotensi dikembangkan sebagai bahan aktif dalam produk kesehatan.

Kompleksitas dan tingginya kejadian stres oksidatif pada kulit, menggunakan bahan alam semakin dibutuhkan sebagai solusi yang relevan. Senyawa antioksidan yang berasal dari tanaman telah terbukti mampu melindungi sel kulit dari kerusakan oksidatif. Senyawa antioksidan yang berasal dari tumbuhan telah terbukti mampu melindungi sel kulit dari kerusakan oksidatif. Oleh karena itu, kajian komparatif terhadap aktivitas antioksidan Pala terhadap sel HaCaT kulit menjadi relevan untuk mengungkap potensi antioksidan alami dalam upaya perlindungan sel kulit dari kerusakan akibat stres oksidatif (Xian *et al.*, 2021).

Penelitian oleh (Wang *et al.*, 2022) dalam *Journal of Ethnopharmacology* mengungkapkan bahwa polifenol alami dari ekstrak tanaman herbal mampu meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen, seperti superoksida dismutase pada kultur sel HaCaT, sehingga meningkatkan viabilitas sel hingga 45% melalui mekanisme reduksi stres oksidatif akibat paparan sinar UV. Di sisi lain, stres oksidatif yang disebabkan oleh polusi udara memiliki karakteristik berbeda namun dapat bersinergi dengan radiasi UV. Polutan udara seperti partikel halus (PM2.5) dan hidrokarbon poliaromatik diketahui dapat memicu proses oksidatif secara langsung pada jaringan kulit. Paparan polutan tersebut juga berpotensi melemahkan fungsi sawar kulit serta menginduksi respons peradangan kronis, yang pada akhirnya meningkatkan beban oksidatif pada keratinosit dan berkontribusi terhadap berbagai gangguan kulit (Krutmann *et al.*, 2021; Piao *et al.*, 2022).

Penelitian dalam beberapa tahun terakhir menunjukkan bahwa pencarian antioksidan alami dan aman dan efektif di fokuskan pada Pala (*Myristica fragrans* Houtt.), yang diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti fenolik, flavonoid, dan lignan dengan kemampuan menangkap radikal bebas. Studi terkini semakin menguatkan potensi ini, misalnya dengan mengidentifikasi senyawa bioaktif baru atau aktivitas biologis dari bagian yang terdapat pada Pala (Ashokumar *et al.*, 2022). Namun, sebagian besar penelitian konvensional hanya berfokus pada biji Pala, sementara bagian lain seperti kulit buah dan aril (selaput biji) sering terabaikan menjadi limbah (Gupta *et al.*, 2023).

Buah pala (*Myristica fragrans*) merupakan salah satu tanaman rempah yang diketahui kaya akan senyawa bioaktif, termasuk senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid, yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat (Anastasya *et al.*, 2022). Buah pala terdiri atas beberapa bagian utama, yaitu kulit, biji, dan aril, yang masing-masing memiliki karakteristik dan komposisi fitokimia yang berbeda. Perbedaan tersebut berpotensi menghasilkan variasi aktivitas antioksidan dan kemampuan sitoprotektif terhadap sel kulit (Putri *et al.*, 2024). Dalam penelitian ini, metanol dipilih sebagai pelarut untuk mengekstrak ketiga bagian buah pala (kulit, biji, dan aril). Pemilihan ini didasarkan pada beberapa pertimbangan ilmiah yang mendukung tujuan penelitian.

Pertama, metanol merupakan pelarut polar yang efektif untuk mengekstrak beragam senyawa fenolik dan flavonoid, yang merupakan kelompok antioksidan utama pada tanaman. Kedua, kelarutan senyawa-senyawa bioaktif semi-polar seperti fenolat dalam metanol memungkinkan perolehan ekstrak dengan potensi antioksidan yang tinggi, sebagaimana ditunjukkan dalam beberapa penelitian pendahuluan pada Pala (Hidayat *et al.*, 2020). Ketiga, dari perspektif aplikasi lebih lanjut dalam sediaan kosmetik, ekstrak metanol sering kali menjadi dasar karakterisasi karena kompatibilitasnya dengan proses formulasi tertentu. Evaluasi awal menggunakan ekstrak metanol akan memberikan gambaran menyeluruh mengenai potensi maksimum masing-masing bagian sebelum dilakukan optimasi formulasi dengan pelarut lain yang lebih sesuai untuk penggunaan topikal.

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH Assay (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dan FRAP Assay (*Ferric Reducing Antioxidant Power*). Pemilihan kedua metode ini didasarkan pada beberapa pertimbangan. Metode DPPH mengukur kemampuan ekstrak dalam mendonasikan elektron atau atom hidrogen untuk menetralkan radikal bebas DPPH, yang meniru mekanisme pemutusan rantai (*radical scavenging*) oleh antioksidan ditingkatkan seluler (Ratnawaty *et al.*, 2025). Sementara itu, metode FRAP mengukur kapasitas reduksi ekstrak yaitu kemampuannya untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} , yang mempresentasikan salah satu mekanisme antioksidan lain melalui penangkapan pro-oksidan. Penggunaan kedua metode secara bersamaan memberikan gambaran yang lebih komprehensif dan spesifik mengenai profil antioksidan ekstrak, mencakup mekanisme penangkapan radikal dan kapasitas reduksi, sebelum diuji dalam sistem biologis yang lebih kompleks (Madhuranga & Samarakoon *et al.*, 2023).

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan tersebut kemudian dikaitkan dengan pengujian pada sel HaCaT dalam kondisi normal sebagai tahapan awal yang penting. Pengujian pada sel yang tidak diberi induksi stres (kondisi basal) bertujuan untuk mengevaluasi dua aspek utama. Pertama, untuk menilai profil keamanan dan sitokompatibilitas ekstrak, yang merupakan persyaratan mendasar sebelum dilakukan pengujian lebih lanjut pada model yang diinduksi stres. Kedua, untuk mengukur kemampuan dasar ekstrak dalam mendukung homeostasis seluler,

termasuk potensi peningkatan ketahanan intrinsik sel melalui mekanisme seperti peningkatan ekspresi enzim antioksidan endogen.

Penelitian pada sel normal tidak hanya berfungsi sebagai uji awal, tetapi juga sebagai model untuk mensimulasikan efek pencegahan (*preventif*) dari suatu antioksidan. Pendekatan ini mencerminkan fungsi ideal produk perawatan kulit sehari-hari, yaitu untuk mempersiapkan dan memperkuat kulit sebelum terpapar faktor stres lingkungan.

Sel keratinosit manusia (HaCaT) dipilih sebagai biologis yang sangat relevan karena sel-sel ini merupakan komponen utama epidermis dan garis pertahanan pertama terhadap stres oksidatif lingkungan. Pengujian efek sitoprotektif ekstrak metanol Pala pada sel HaCaT memberikan gambaran langsung mengenai potensi aplikasinya dalam produk perawatan kulit yang bertujuan untuk memperkuat ketahanan kulit dan mencegah kerusakan oksidatif (Blanchard *et al.*, 2022).

Penelitian ini menjembatani pengetahuan farmakologi dengan validasi ilmiah berbasis sel. Berdasarkan pemaparan tersebut, penelitian ini difokuskan pada perbandingan aktivitas antioksidan dan efek sitoprotektif ekstrak metanol kulit, biji, dan aril Pala (*Myristica fragrans*) terhadap sel keratinosit HaCaT. Ekstrak akan dievaluasi melalui uji aktivitas antioksidan dan viabilitas sel menggunakan metode berbasis *microskopi*, sehingga diharapkan dapat memberikan dasar ilmiah yang kuat dalam pemanfaatan berbagai bagian buah pala sebagai kandidat bahan aktif antioksidan untuk aplikasi dermatologis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apa aktivitas antioksidan ekstrak metanol dari kulit, biji, dan aril dari pala (*Myristica fragrans*) berdasarkan uji DPPH dan FRAP?
2. Bagaimana ekstrak pala memengaruhi viabilitas dan sitoprotektif sel HaCaT?
3. Bagian mana dari pala (*Myristica fragrans*) antara kulit, biji, dan aril yang menunjukkan efek antioksidan dan sitoprotektif yang paling kuat?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membandingkan aktivitas antioksidan dan efek sitoprotektif ekstrak metanol buah pala dari kulit, biji, dan aril menggunakan sel HaCaT.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menentukan aktivitas antioksidan (DPPH dan FRAP) dari ekstrak metanol kulit, biji, dan aril buah pala (*Myristica fragrans*).
2. Untuk mengevaluasi efek sitotoksitas dan viabilitas sel dari ekstrak buah pala (*Myristica fragrans*) pada sel keratinosit HaCaT menggunakan uji MTT.
3. Untuk mengidentifikasi bagian tanaman mana yang memberikan efek antioksidan dan sitoprotektif tertinggi dalam kondisi stres oksidatif.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Menyediakan data ilmiah perbandingan mengenai aktivitas antioksidan dari berbagai bagian buah pala.
2. Mendukung pemahaman tentang efek sitoprotektif ekstrak alami pada sel keratinosit manusia.

