

TESIS

Pengaruh Penambahan SPACE-Peptide Terhadap Efektifitas, Stabilitas Fisik dan Iritabilitas Sediaan Gel *Freeze Dried Amniotic Membrane Stem Cell-Metabolite Product* Sebagai Kosmetika *Antiaging*

Ria Hanistya

051614153006



PROGRAM MAGISTER PROGRAM STUDI ILMU FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS AIRLANGGA

SURABAYA

2020

**Pengaruh Penambahan SPACE-Peptide Terhadap
Efektifitas, Stabilitas Fisik dan Iritabilitas Sediaan
*Gel Freeze Dried Amniotic Membrane Stem Cell-
Metabolite Product* Sebagai Antiaging**

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister
dalam program Magister Program Studi Ilmu Farmasi
pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Oleh :

RIA HANISTYA

051614153006



**PROGRAM MAGISTER PROGRAM STUDI ILMU FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

2020

Lembar pengesahan

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 9 JANUARI 2020**

Oleh

Pembimbing Ketua

Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt

NIP. 195110061977092001

Pembimbing Kedua

Dr. Tristiana Erawati, M.Si., Apt

NIP. 195805181987012001



Mengetahui,

Koordinator Program Magister

Program Studi Ilmu Farmasi

Fakultas Farmasi Universitas Airlangga



Prof. Dr. Bambang Prajogo E.W., M.S., Apt

NIP. 195612171985031004

Telah diuji pada:

Tanggal 9 Desember 2019

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua: Dra. Esti Hendradi, M.Sc., PhD., Apt.

- Anggota:
1. Dr. Tutiek Purwanti, M.Si., Apt.
 2. Prof. Dr. Fedik Abdul Rantam, drh.
 3. Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt.
 4. Dr. Tristiana Erawati, M.Si., Apt.



PERNYATAAN ORISINALITAS KARYA ILMIAH

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah ide asli atau murni dari saya yang diarahkan oleh Komisi Pembimbing saya, dan saya membuat proposal penelitian, melakukan penelitian, menuliskan laporan dalam bentuk naskah tesis dengan pikiran dan tangan saya sendiri dengan arahan sepenuhnya Komisi Pembimbing saya pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Jika di kemudian hari tesis ini merupakan hasil plagiat atau menggunakan jasa orang lain secara komersil baik itu keseluruhan maupun sebagian aspek terpenting, mulai dari pembuatan proposal, pelaksanaan penelitian, penulisan naskah tesis, saya bersedia menerima sanksi apapun sesuai dengan peraturan yang berlaku pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.



Surabaya, 9 Januari 2020

Yang membuat pernyataan,



Ria Hanistya

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa karena atas rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“Pengaruh Penambahan SPACE-Peptide Terhadap Efektivitas, Stabilitas Fisik dan Iritabilitas Sediaan Gel *Freeze Dried Amniotic Membrane Stem Cells-Metabolite Product* Sebagai Antiaging”** sebagai persyaratan akademik untuk mendapatkan gelar magister pada Program Magister Program Studi Ilmu Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Terselesaikannya tesis ini tidak lepas dari bantuan seluruh pihak yang senantiasa memberikan dukungan, bimbingan dan bantuan serta doa sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan baik. Untuk itu penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Mohammad Nasih, MT., Ak. selaku rektor Universitas Airlangga, Prof. Dr. Hj. Umi Athiyah, MS., Apt selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, dan Prof. Dr. Bambang Prajogo E.W., MS., Apt selaku koordinator Program Studi Magister Ilmu Farmasi atas kesempatan, dukungan dan fasilitas yang diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan Program Magister Program Studi Ilmu Farmasi.
2. Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt selaku dosen pembimbing ketua serta Dr. Tristiana Erawati, M.Si., Apt selaku dosen pembimbing kedua yang telah dengan sabar membimbing dan meluangkan waktu serta memotivasi penulis untuk menyelesaikan tesis dengan baik.
3. Dr. Esti Hendradi, M.Si., Apt, Dr. Tutiek Purwanti, dan Prof. Fedik Abdul Rantam, drh. Selaku tim penguji yang memberikan saran, kritik dan masukan yang membangun serta nasehat demi kesempurnaan tesis penulis.
4. Segenap Bapak dan Ibu staf pengajar program studi magister ilmu farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan

wawasan keilmuan sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan magister dengan lancar.

5. Seluruh Bapak dan Ibu staf non akademik Program Studi Magister Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
6. Bapak, Letkol Laut (E) Sudarno dan Ibu, Eni Ernawati., S.Pd yang telah memberikan bantuan moril dan materiil, semangat dan kesabaran selama penulis menyelesaikan tesis ini. Mas Awib, Mbak Seysar dan Nala Karina Shanum yang telah membagi keceriaan di sela-sela minggu yang berat.
7. Fendy Hastomo Mu'arief. *De l'homme auquel j'appartiens. Je vois la vie en rose.*
8. Teman-teman S2 Ilmu Farmasi atas kerjasama dan bantuannya selama penelitian serta semangat yang diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan tesis.
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu terima kasih atas semua dukungan, bantuan dan doa bagi penulis selama menyelesaikan tesis ini.

Akhir kata, semoga Allah SWT membalas kebaikan Bapak, Ibu dan Saudara sekalian. Semoga Tesis ini dapat memberikan manfaat ilmu pengetahuan bagi para pembacanya. Amin.

Surabaya, Desember 2019

Penulis

Ria Hanistya



RINGKASAN

**PENGARUH PENAMBAHAN SPACE PEPTIDE TERHADAP
EFEKTIVITAS, STABILITAS FISIK DAN IRTABILITAS SEDIAAN
GEL *FREEZE DRIED AMNIOTIC MEMBRANE STEM CELL-
METABOLITE PRODUCT* SEBAGAI ANTI AGING**

Ria Hanistya

Aging adalah suatu proses kompleks dan tidak dapat dihindari yang terjadi pada seluruh makhluk hidup tak terkecuali manusia. *Aging* terjadi pada seluruh organ tubuh manusia termasuk kulit. Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh manusia yang memiliki banyak fungsi penting, diantaranya berperan dalam kebutuhan sosial manusia dalam berinteraksi satu sama lain. Menurunnya kualitas kulit karena *aging* tentunya akan menurunkan kualitas hidup pada manusia.

Aging dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah faktor ekstrinsik yang datang dari lingkungan seperti paparan sinar ultraviolet (UV) di dalam sinar matahari. Paparan terus menerus sinar UV pada kulit dapat merusak telomer dan menginduksi radikal bebas. Kerusakan dini pada kulit yang disebabkan oleh paparan UV disebut dengan *photoaging*. *Photoaging* menyebabkan perubahan struktural dan fisiologis pada kulit yang ditandai dengan munculnya kerutan halus hingga kasar pada kulit, depigmentasi kulit dan hilangnya kelembaban dan elastisitas kulit. Salah satu strategi yang digunakan untuk mengatasi permasalahan terkait penuaan pada kulit adalah menggunakan kosmetika perawatan kulit.

Kosmetika perawatan kulit yang dapat memperbaiki kerusakan kulit salah satunya adalah kosmetika yang mengandung bahan aktif berupa sel regulator. *Amniotic Membrane Stem Cell* (AMSC) adalah suatu jenis stem sel yang banyak mengandung sel regulator. Di dalam *metabolite product* dari AMSC terkandung sel regulator berupa *growth factor*. *Growth factors* yang terdapat di dalam stem sel berperan dalam pembelahan sel, pertumbuhan sel baru dan meningkatkan sintesis dari kolagen, elastin dan

asam hyaluronat yang membantu untuk mengembalikan kualitas kulit akibat *photoaging*. (Amirthalingam and Seetharam., 2016).

Growth factors di dalam AMSC-MP memiliki karakteristik berupa makromolekul hidrofilik yang memiliki ukuran molekul lebih dari 15.000 Da sehingga tidak dapat menembus lapisan stratum korneum untuk dapat memberikan efek farmakologisnya. *Growth factors* di dalam AMSC-MP harus diformulasikan dengan tepat agar dapat memberikan efek farmakologisnya. *Skin penetrating peptide* sebagai *enhancer* berpotensi untuk meningkatkan penetrasi bahan aktif berupa makromolekul ke dalam kulit. Peptide yang dapat digunakan sebagai enhancer salah satunya adalah SPACE-peptide. Enhancer ini bekerja dengan cara melakukan modifikasi pada struktur *alfa helix* dan *beta sheet* di dalam lipid membran sehingga bahan aktif dapat melewati stratum korneum (Chen *et al*, 2013).

Pada penelitian kali ini AMSC-MP diformulasikan menjadi sediaan gel berbasis Carbopol 940 dengan berbagai macam konsentrasi enhancer SPACE-Peptide dengan perbandingan AMSC-MP:SPACE-Peptide masing masing 1:0 (F1); 1:1 (F2); 1:2 (F3) dan 1:3 (F4). Selanjutnya dibandingkan efektivitas, stabilitas fisik dan tingkat iritasinya.

Dari hasil karakterisasi sediaan gel AMSC-MP diperoleh hasil (1) organoleptis yaitu sediaan sediaan gel jernih tidak berwarna, memiliki bau yang khas seperti telur, dengan konsistensi sedikit kental dan tekstur yang lembut. (2) rata-rata pH sediaan untuk F1 adalah 5,90, F2 adalah 5,86, F3 adalah 6,02 dan F4 adalah 5,82. (3) kemampuan daya sebar sediaan untuk F1 6,1 cm, F2 adalah 6,0 cm, F3 adalah 5,9 cm dan F4 adalah 5,9 cm.

Uji penetrasi dilakukan secara *in vivo* menggunakan kulit punggung mencit jantan. Penembusan kulit sejak menit ke 30, 60 dan 120 ditunjukkan oleh F2, F3 dan F4. Sedangkan hasil uji pada F1 menunjukkan bahwa tidak ada penetrasi sediaan pada menit ke 30 dan 60. Penembusan kulit yang paling dalam ditunjukkan oleh F4 yang memiliki konsentrasi SPACE-Peptide paling besar. Uji aktivitas antiaging dilakukan dengan mengamati kerapatan kolagen dan jumlah fibroblast pada preparat histopatologi dengan pewarnaan *Mason Trichrome* selama 20 hari. Hasil uji kerapatan kolagen

dan fibroblast menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar formula bila dibandingkan dengan kontrol. Uji iritasi dilakukan secara *in vivo* menggunakan punggung kulit mencit jantan setelah pengolesan selama 24 jam. Dari hasil uji diperoleh F2 memiliki nilai iritasi paling rendah dibandingkan F3 dan F4.

Uji stabilitas dilakukan dengan cara menyimpan sediaan pada suhu ruang selama 30 hari. Hasil uji stabilitas menunjukkan bahwa bau, tekstur dan warna sediaan relatif sama. Stabilitas fisik sediaan stabil selama penyimpanan.

ABSTRACT

**THE EFFECT OF SPACE PEPTIDE TOWARD EFFECTIVITY,
PHYSICAL STABILITY AND IRRITABILITY OF GEL FREEZE
DRIED AMNIOTIC MEMBRANE METABOLITE PRODUCT AS
ANTIAGING**

Ria Hanistya

Amniotic Membrane Stem Cells (AMSC) are better treatment for antiaging in human skin because they are easy to produce and inexpensive. The metabolite product of AMSC contains several growth factors like TGF- β and cytokines which significantly improve skin quality by increase proliferation and migration of dermal fibroblast as well collagen synthesis. However, growth factors are hydrophilic molecule with molecular size larger than 20 kDa therefore it cannot penetrate into stratum corneum to enhance it pharmacological effect. To enhance the skin penetration of AMSC the right gel formulation using enhancer SPACE-Peptide was made. Various kinds of SPACE-Peptide concentration were used to examine the effect of increasing SPACE-Peptide to effectivity, physical stability and irritability of gel freeze dried amniotic membrane metabolite product. The concentration between AMSC-MP:SPACE-Peptide varies from (1:0), (1:1), (1:2), (1:3). pH value, spreadability test and visual observation including colour, odour, consistency and texture were conducted to determine the characterization of the gel. Gel freeze dried amniotic membrane metabolite product showed good organoleptic appearance and characteristic in all of formula. Effectivity test was determined by depth of penetration after 30, 60 and 120 minutes application of the gel using rhodamine B as fluorescent label using fluorescent microscopy. Antiaging activity after 20 days application of sample in mice was measured by scoring of collagen density and number of fibroblast in hispathological preparation in Masson-Trichrome staining observed by light microscopy. The irritability test after 24 hour application of sample was conducted by scoring hispathology using Hematoxilin Eosin staining observed by light microscopy. The last, physical stability of each formula determined during 30 days storage in room temperature. The result showed there were no significant difference in physical characteristic and stability between formula but there were significant difference in effectivity and irritability score. The formula with highest concentration of SPACE-Peptide (1:3) showed the highest score in antiaging activity but reach the highest score in irritability.

Keywords: Antiaging, Amniotic Membrane Stem Cell, SPACE-Peptide, Gel, Cosmetic, Collagen, Fibroblast





DAFTAR ISI

Halaman sampul depan.....	ii
Halaman sampul dalam.....	iii
Lembar pengesahan	iv
Pernyataan orisinalitas	v
Halaman panitia penguji tesis	vi
Halaman Ucapan Terima Kasih	vii
Ringkasan.....	viii
Abstract.....	xi
Halaman daftar isi.....	xii
Halaman daftar tabel.....	xvii
Halaman daftar gambar.....	xviii
Daftar lampiran.....	xx
Daftar singkatan	xxi
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Kulit.....	9
2.1.1 Anatomi dan fisiologi kulit	9
2.1.2 Fungsi kulit	13
2.2 Tinjauan <i>Skin aging</i>	14

2.2.1 Definisi <i>skin aging</i>	14
2.2.2 Faktor penyebab <i>skin aging</i>	15
a. Intrinsic aging.....	15
b. Extrinsic aging	15
2.2.3 Mekanisme <i>photoaging</i>	17
2.2.4 Tata laksana <i>skin aging</i>	19
2.2.4.1 <i>Invasive Procedure</i>	20
a. <i>Chemical Peels</i>	20
b. <i>Laser Resurfacing</i>	21
c. <i>Dermal Fillers</i>	21
d. <i>Botulinum toxin</i>	22
2.2.4.2 <i>NonInvasive Procedure</i>	23
a. Antioksidan.....	23
b. Retinoid	24
c. Stem sel	25
2.3 Stem sel	26
2.3.1 Definisi stem sel.....	26
2.3.2 Klasifikasi stem sel	27
2.3.3 Sumber stem sel	28
a. <i>Embryonic stem cell</i>	28
b. <i>Mature stem cell</i>	28
2.3.4 Tinjauan <i>Amniotic Membrane Stem Cell</i>	29
2.3.5 Perolehan <i>Amniotic Membrane Stem- Cell Metabolite Product</i>	34

2.4 Metode Freeze Dried	36
2.5 Sistem Penghantaran Obat Secara Topikal.....	38
2.5.1 Definisi	38
2.5.2 Rute Penetrasi	38
a. Rute Apendageal.....	38
b. Rute Transelular	39
c. Rute Interselular.....	39
2.5.3 Sediaan Gel.....	40
2.5.1 Definisi Gel.....	40
2.5.2 Keuntungan Sediaan Gel	40
2.5.3 Karakteristik Gel	41
2.6 Penetration enhancer	43
2.6.1 Definisi.....	43
2.6.2 Tipe enhancer	
a. Chemical Enhancer	43
b. Biochemical Enhancer	45
c. Physical Enhancer	46
2.7 Tinjauan Bahan	
a. SPACE-Peptide.....	47
b. Carbopol	48
c. Phenoxyethanol.....	48
d. Gliserin	49
e. Trietanolamin.....	49
2.8 Evaluasi mutu sediaan	50

2.8.1 Uji stabilitas	50
2.8.2 Uji Efektivitas.....	52
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN.	
3.1 Uraian Kerangka Konseptual	57
3.2 Skema Kerangka Konseptual	59
3.3. Hipotesa Penelitian	60
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Bahan Penelitian	61
4.2 Alat Penelitian	61
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	61
4.4 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	62
4.5 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	62
4.6 Prosedur Pengumpulan Data	65
4.7 Uji Karakteristik Sediaan	67
4.8 Uji Stabilitas.....	68
4.9 Uji Efektivitas.....	69
4.10 Analisis Statistika	70
BAB 5 HASIL PENELITIAN	
5.1 Pemeriksaan kualitatif bahan penelitian	78
5.1.1 Pemeriksaan kualitatif AMSC-MP	78
5.1.2 Pemeriksaan kualitatif SPACE-Peptide	78
5.1.3 Pemeriksaan kualitatif Carbopol 940	79
5.1.4 Pemeriksaan kualitatif Gliserin.....	79
5.1.5 Pemeriksaan kualitatif Na-EDTA	79

5.1.6 Pemeriksaan kualitatif Trietanolamin	80
5.1.7 Pemeriksaan kualitatif Phenoxyethanol	80
5.2 Karakterisasi sediaan	81
5.2.1 Pemeriksaan organoleptis	81
5.2.2 Pemeriksaan pH	81
5.2.3 Pemeriksaan kemampuan daya sebar	82
5.3 Hasil uji efektivitas	82
5.3.1 Hasil uji kedalaman penembusan kulit	82
5.3.2 Hasil uji efektivitas antiaging	85
5.4 Hasil Uji iritasi	89
5.5 Hasil Uji Stabilitas	91
5.5.1 Pengukuran pH sediaan	91
5.5.2 Pengukuran daya sebar sediaan	92
BAB 6 PEMBAHASAN	94
BAB 7 PENUTUP	105
7.1 Kesimpulan	105
7.2 Saran	105
DAFTAR PUSTAKA	106
LAMPIRAN	111

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Formula sediaan gel AMSC-MP	66
Tabel 5.1	Hasil pemeriksaan kualitatif AMSC-MP	78
Tabel 5.2	Hasil pemeriksaan kualitatif SPACE-Peptide	78
Tabel 5.3	Hasil pemeriksaan kualitatif Carbopol 940.....	79
Tabel 5.4	Hasil pemeriksaan kualitatif Gliserin	79
Tabel 5.5	Hasil pemeriksaan kualitatif Na-EDTA.....	79
Tabel 5.6	Hasil pemeriksaan kualitatif trietanolamin	80
Tabel 5.7	Hasil pemeriksaan kualitatif Phenoxyethanol	80
Tabel 5.8	Hasil pemeriksaan organoleptis sediaan	81
Tabel 5.9	Hasil pemeriksaan pH sediaan	81
Tabel 5.10	Hasil pemeriksaan daya sebar sediaan.....	82
Tabel 5.11	Hasil pengujian kedalaman penembusan kulit.....	83
Tabel 5.12	Hasil skoring kerapatan kolagen	86
Tabel 5.13	Hasil skoring jumlah fibroblast	87
Tabel 5.14	Hasil skoring uji iritasi.....	89
Tabel 5.15	Hasil pengukuran pH stabilitas	91
Tabel 5.16	Hasil pengukuran daya sebar pada hari ke 30	92
Tabel 5.17	Hasil pengukuran daya sebar selama penyimpanan	93

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur dan anatomi kulit	13
Gambar 2.2	Mekanisme photoaging.....	17
Gambar 2.3	Struktur skematik fetal membrane.....	34
Gambar 2.4	Tahapan proses Freeze dried	37
Gambar 2.5	Rute penetrasi obat	40
Gambar 2.6	Struktur SPACE-Peptide.....	47
Gambar 2.7	Struktur Carbopol	48
Gambar 2.8	Struktur Phenoxyethanol.....	48
Gambar 2.9	Struktur Gliserin	49
Gambar 2.10	Struktur Trietanolamin.....	49
Gambar 3.1	Skema kerangka konseptual	59
Gambar 4.1	Skema tahapan penelitian	64
Gambar 4.2	Prosedur pembuatan gel AMSC-MP	67
Gambar 5.1	Hasil uji kedalaman penembusan kulit F1	83
Gambar 5.2	Hasil uji kedalaman penembusan kulit F2	84
Gambar 5.3	Hasil uji kedalaman penembusan kulit F3	84
Gambar 5.4	Hasil uji kedalaman penembusan kulit F4	84
Gambar 5.5	Histogram kedalaman penembusan kulit.....	85
Gambar 5.6	Histogram skoring kerapatan kolagen	86
Gambar 5.7	Gambar mikroskopis kolagen	87
Gambar 5.8	Histogram hasil skoring kerapatan kolagen	88
Gambar 5.9	Gambar makroskopis fibroblast	88
Gambar 5.10	Histogram hasil skoring jumlah fibroblast.....	89
Gambar 5.11	Hasil uji iritasi sediaan.....	90
Gambar 5.12	Profil pH selama penyimpanan	91
Gambar 5.13	Profil daya sebar sediaan pada hari ke 30.....	92
Gambar 5.14	Profil daya sebar sediaan selama penyimpanan	93