

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Kulit merupakan organ penting dalam berkomunikasi dan mencerminkan berbagai atribut sosial seperti status sosial, kekayaan, seksualitas, dan umur. Masyarakat pada zaman sekarang perlu mengikuti budaya mengenai bertambah tua tanpa mengalami penuaan kulit (*skin aging*). Oleh karenanya, berbagai masyarakat telah mengalami penanganan secara operasi maupun nonoperasi untuk meremajakan penampilannya, menyatakan bahwa orang biasa (bukan hanya artis film dan selebritas) dapat mencapai tubuh dengan penampilan yang lebih muda (Gupta and Gilchrest, 2005). *Skin aging* menyebabkan penurunan kualitas kulit seperti elastisitas, kelenturan, dan ketahanan kulit (Nobile *et al.*, 2014).

Skin aging terbagi menjadi dua, yaitu *intrinsic aging* dan *extrinsic aging*. *Intrinsic aging* atau *innate aging* (penuaan dari dalam) adalah proses tak terhindarkan, yang berefek pada kulit dalam pola yang sama dengan organ lainnya. *Extrinsic aging* adalah hasil dari paparan dari faktor luar, terutama radiasi ultraviolet (UV), yang juga disebut sebagai *photoaging*. Walaupun *intrinsic* dan *extrinsic skin aging* merupakan proses yang berbeda, terdapat kemiripan atas dua hal tersebut dalam mekanisme molekulernya. *Reactive oxygen species* (ROS) meningkat dari metabolisme sel oksidatif, berperan penting dalam kedua proses. ROS dalam *extrinsic* atau *intrinsic skin aging* menginduksi *transcription factor c-Jun* melalui *mitogen-activated protein kinases* (MAPK), menyebabkan ekspresi berlebihan dari matriks *metalloproteinase* (MMP)-1, MMP-3, dan MMP-9 serta pencegahan dari ekspresi dari *procollagen-1*. Peningkatan kadar kolagen terdegradasi dan pengurangan sintesis kolagen menjadi patologi yang menyebabkan dalam penuaan *intrinsic*, yang identik seperti *photoaged skin* (Papakonstantinou, Roth and Karakiulakis, 2012; Nobile *et al.*, 2014).

Intrinsic aging disebabkan oleh bertambahnya usia yang menghasilkan penurunan kadar glikosaminoglikan (GAG), terutama asam hialuronat dan dermatan sulfat, penurunan keratinosit basal, berkurangnya vaskularitas *skin barrier*, tidak ada produksi

vitamin D, berkurangnya sel *Langerhans* dan *T-cells*, berkurangnya *perivascular mast cells*, berkurangnya luas dari *superficial vascular plexus*, kelenjar keringat yang lebih sedikit, berkurangnya lemak subkutan, dan *dermoepidermal junction* yang terpipihkan. *Photoaging* merupakan faktor terbesar dari *skin aging*, disebabkan oleh paparan sinar UV yang menyebabkan kerusakan pada matriks ekstraseluler, dermal fibroblas yang kemudian akan menghasilkan *abnormal elastin*, atau kronik, *low-grade enzymatic digestion* dari matriks ekstraseluler oleh mediator inflamatori dilepaskan dari *mast cells* dan leukosit neutrofilik secara terfokus dan sering ada dalam kulit yang terpapar sinar matahari (Gilchrest, 1989). Untuk mengatasi fenomena *skin aging* salah satunya dengan pemakaian kosmetik yang bersifat sebagai *antiaging*, seperti *growth factor* yang ada dalam *amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* (AMSC-MP) dalam bentuk serum untuk kulit.

Serum merupakan salah satu produk kosmetik yang dalam formulanya terkandung konsentrasi bahan aktif yang sangat tinggi untuk memberikan nutrisi intensif ke lapisan kulit yang lebih dalam yang cocok untuk kulit (Budiasih *et al.*, 2019). Karena konsentrasi bahan aktif pada serum yang tinggi, biasanya dibutuhkan waktu yang lebih singkat untuk melihat hasil atau efek yang diperoleh (Healthline, 2020). Produk serum biasa digunakan untuk mengatasi masalah kulit tertentu, seperti untuk *antiaging*. Untuk mencapai tingkat efektivitas yang tinggi, dalam penelitian ini AMSC-MP akan dibentuk dalam sediaan serum.

AMSC-MP adalah produk metabolit yang diperoleh dari kultur sel hasil isolasi kantung membran selaput janin manusia yang bersifat transparan, tipis dan kuat dengan ketebalan 0,02 – 0,05 mm (Malhotra and Jain, 2014). AMSC-MP mengandung beberapa *growth factor*, seperti *Epidermal Growth Factor* (EGF), *Transforming Growth Factor- β 1* (TGF- β 1), *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), *Keratinocytes Growth Factor* (KGF) yang dapat berfungsi sebagai *antiaging*, dan sebagainya (Islam *et al.*, 2014; Retha *et al.*, 2020). TGF- β merupakan faktor pertumbuhan multifungsi yang memiliki peran penting dalam memodulasi perilaku sel dalam jaringan (Sari *et al.*, 2020). Pada biosintesis *extracellular matrix* (ECM), TGF- β berperan sebagai regulator utama dalam meregulasi gen ECM termasuk kolagen, fibronektin, dekorin, dan versican. TGF- β mengatur produksi dan degradasi kolagen melalui jalur Smad untuk

mengontrol homeostasis kolagen pada fibroblas dermal (Shin *et al.*, 2019). AMSC-MP juga mengandung sitokin *Interleukin* (IL)-4, IL-6, IL-8, dan interferon (Retha *et al.*, 2020; Islam *et al.*, 2014). Faktor pertumbuhan dan sitokin yang terdapat pada AMSC-MP dilaporkan secara signifikan dapat meningkatkan sintesis kolagen dalam fibroblast (Lee *et al.*, 2014).

Sebagian besar *growth factor* yang terdapat pada AMSC-MP berukuran lebih besar dari 20 kDa dan bersifat hidrofilik (Sari *et al.*, 2020), namun hanya senyawa berukuran kurang dari 500 Da yang dapat berpenetrasi ke dalam kulit (Miatmoko, Ayunin and Soeratri, 2021). Terdapat beberapa cara untuk mengatasi masalah tersebut seperti pengecilan partikel melalui penggerusan, pembentukan *salting out*, dan salah satu pendekatan baru dalam sistem penghantaran obat dengan mengenkapsulasi senyawa ke dalam liposom. Membran yang tidak stabil memungkinkan terjadinya kebocoran yang menyebabkan pelepasan bahan aktif secara prematur. Mengenkapsulasi AMSC-MP dalam transfersom adalah salah satu upaya potensial untuk mengatasi masalah tersebut. Hal ini dikarenakan kemampuannya yang sangat *ultradeformable* sehingga dapat berpenetrasi ke dalam kulit dengan lebih baik (Opatha, Titapiwatanakun and Chutoprapat, 2020). Seperti pada penelitian sebelumnya, pada penelitian ini AMSC-MP akan dienkapsulasi dalam transfersom agar dapat berpenetrasi ke dalam kulit dan menembus stratum korneum (Nada, 2021).

Transfersom terdiri dari fosfolipid dan *edge activator* (EA), yang merupakan *membrane-softening agent* (seperti Tween 80, Span 80, dan sodium kolat) yang memfasilitasi kemampuan *ultradeformable* dari transfersom. Ketika transfersom mencapai pori-pori kulit, transfersom mampu merubah fleksibilitas membrannya dan menembus melalui pori-pori kulit secara spontan. Transfersom sangatlah *deformable*, sehingga dapat dengan mudah menembus pori-pori yang sempit (Opatha, Titapiwatanakun and Chutoprapat, 2020). Transfersom memiliki kemampuan untuk deformasi, sehingga memfasilitasi penetrasi dari kulit melalui rute intraseluler dan pori dari stratum korneum yang lebih kecil dari diameter vesikelnnya sendiri. Transfersom sepuluh kali lebih *deformable* dibandingkan dengan liposom konvensional (Miatmoko, Ayunin and Soeratri, 2021). Untuk mengatasi

permasalahan dari AMSC-MP dan LMW-HA dalam menembus pori-pori kulit, digunakan pembawa transfersom dalam penelitian ini.

Kemampuan transfersom dalam berpenetrasi ke dalam kulit dipengaruhi oleh jenis surfaktan yang digunakan sebagai *edge activator*. Surfaktan non-ionik akan menghasilkan transfersom dengan penetrasi yang lebih baik dibandingkan dengan surfaktan ionik. Gugus yang tidak bermuatan dapat berpenetrasi lebih baik ke dalam stratum korneum dibandingkan dengan gugus yang bermuatan (Brain and Chilcott, 2008). Berdasarkan penelitian sebelumnya, Transfersom AMSC-MP dengan surfaktan stearylamine (Tr SA) bermuatan positif dan menghasilkan penetrasi yang kurang maksimal akibat lebih banyak terdepositasi di stratum korneum yang bermuatan negatif (Lee *et al.*, 2013; Nada, 2021). Transfersom AMSC-MP dengan surfaktan sodium kolat (Tr SC) bermuatan negatif menghasilkan penetrasi yang maksimal namun memiliki penampakan visual yang bergerombol akibat muatan negatif dari Tr SC. Hal ini disebabkan oleh interaksi antara vesikel pada Tr SC dengan AMSC-MP (Nada, 2021), sehingga berpotensi timbulnya agregasi dalam sediaan. AMSC-MP juga memiliki viskositas yang rendah (Nada, 2021), sehingga kurang aseptabel untuk dijadikan sediaan serum yang memiliki viskositas yang cukup tinggi. Selain itu, apabila penetrasinya terhadap kulit semakin dalam, maka semakin tinggi pula efektivitasnya sebagai antiaging (A'ilda, 2021; Nada, 2021).

Asam hialuronat/*hyaluronic acid* (HA) adalah glikosaminoglikan (GAG) nonsulfat dan terkomposisi dari polimer disakarida berulang dari asam D-glukuronat dan N-asetil-D-glukosamin terhubung oleh ikatan *glucuronidic* β (1 $\rightarrow$ 3). HA bersifat larut dalam air (hidrofilik), anionik (bermuatan negatif), dan memiliki viskositas yang tinggi pada konsentrasi polimer yang rendah (Gallo *et al.*, 2019; Snetkov *et al.*, 2020). Karena bermuatan negatif, HA digunakan untuk mengatasi permasalahan yang ada pada Tr SA dan Tr SC pada penelitian sebelumnya (A'ilda, 2021; Nada, 2021). Secara umum, berdasarkan berat molekulnya, terdapat dua jenis Asam Hialuronat yaitu *High Molecular Weight Hyaluronic Acid* (HMW-HA) dan *Low Molecular Weight Hyaluronic Acid* (LMW-HA) (Farwick, Lersch and Strutz, 2008). Dibandingkan HMW-HA yang memiliki berat molekul (1000–1400 kDa), LMW-HA memiliki berat molekul yang lebih rendah (20–300 kDa) sehingga memiliki kemampuan penetrasi yang lebih baik (Farwick, Lersch and Strutz, 2008; Essendoubi

et al., 2016). LMW-HA dapat melembapkan kulit dari dalam serta menjaga hidrasi kulit. Viskositas dari 10 kDa-HA sekitar 0,73-0,88 cps, yang 100 kDa-HA sekitar 0,74-2,38, dan yang 1000 kDa-HA sekitar 0,97-28,1 cps (Kim *et al.*, 2018). HA terlibat dalam berbagai macam proses yang terjadi dalam tubuh, bersifat biokompatibel dan diabaikan efek sampingnya (Salwowska *et al.*, 2016). Pada penelitian ini, untuk menetralkan muatan vesikel Tr SA, mencegah agregasi dari Tr SC, dan meningkatkan viskositasnya, ditambahkan LMW-HA yang bekerja sebagai *stabilizing agent* sehingga dapat memfasilitasi peningkatan penetrasi yang kemudian dapat meningkatkan efektivitas Transfersom AMSC-MP.

Pada penelitian ini, dilakukan penentuan pengaruh penambahan asam hialuronat pada serum transfersom *Amniotic Mesenchymal Stem Cells Metabolite Products* (AMSC-MP) terhadap efektivitas *antiaging* dan keamanan pada mencit yang diinduksi sinar UV.

1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum transfersom amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* dapat meningkatkan efektivitas *antiaging* secara *in vivo* ditinjau dari peningkatan kerapatan kolagen dan jumlah sel fibroblast kulit mencit yang diinduksi UV-aging?
2. Apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum transfersom amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* memiliki derajat keamanan yang baik secara *in vivo* ditinjau dari skor iritasi kulit mencit?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk menentukan apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum transfersom amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* dapat meningkatkan efektivitas *antiaging* secara *in vivo* ditinjau dari peningkatan kerapatan kolagen dan jumlah sel fibroblast kulit mencit yang diinduksi UV-aging?
2. Untuk menentukan apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum transfersom amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* memiliki derajat keamanan yang baik secara *in vivo* ditinjau dari skor iritasi kulit mencit.

1.4. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah dalam pengembangan *skin product* berbasis protein seperti AMSC-MP.
2. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum* transfersom *amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* dapat meningkatkan efektivitas antiaging secara *in vivo* ditinjau dari peningkatan kepadatan kolagen dan jumlah sel fibroblast kulit mencit yang diinduksi UV-aging, sehingga dapat digunakan sebagai landasan untuk pengembangan produk skin anti-aging berbasis protein seperti AMSC-MP.
3. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai apakah penambahan asam hialuronat pada *skin serum* transfersom *amniotic mesenchymal stem cells metabolite products* memiliki derajat keamanan yang baik secara *in vivo* ditinjau dari skor iritasi kulit mencit, sehingga dapat digunakan sebagai landasan untuk pengembangan produk skin anti-aging berbasis protein seperti AMSC-MP.