

TESIS

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM HIALURONAT
TERHADAP EFEKTIVITAS, IRITABILITAS DAN
STABILITAS SEDIAAN GEL *FREEZE DRIED*
AMNIOTIC MEMBRAN STEM CELL
METABOLITE PRODUCT SEBAGAI ANTIAGING**



RINA MUTYA SUZLIANA
NIM 051714153014

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

2020

TESIS

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM HIALURONAT
TERHADAP EFEKTIVITAS, IRITABILITAS DAN
STABILITAS SEDIAAN GEL *FREEZE DRIED*
AMNIOTIC MEMBRAN STEM CELL
METABOLITE PRODUCT SEBAGAI ANTIAGING**

Oleh

RINA MUTYA SUZLIANA
051714153014

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

TESIS

**PENGARUH PENAMBAHAN ASAM HIALURONAT
TERHADAP EFEKTIVITAS, IRTABILITAS DAN
STABILITAS SEDIAAN GEL *FREEZE DRIED*
AMNIOTIC MEMBRAN STEM CELL
METABOLITE PRODUCT SEBAGAI ANTIAGING**

Untuk Memenuhi Syarat Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Magister Ilmu Farmasi
Pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

Oleh

RINA MUTYA SUZLIANA
NIM 051714153014

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2020**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 30 JANUARI 2019**

**TESIS INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 3 FEBRUARI 2020**

Oleh
Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA., Apt
NIP. 195110061977092001

Pembimbing serta



Dr. Tristiana Erawati M., M.Si., Apt.
NIP. 195805181987012001

Mengetahui
Koordinator Program Magister
Program Studi Ilmu Farmasi



Prof. Dr. Bambang Prajogo Eko W., MS., Apt
NIP. 19561217 198503 1 004

Tesis ini telah diuji pada
Tanggal 5 Desember 2019

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Dra. Esti Hendradi, M.Si.,Ph.D.,Apt.

Anggota : 1. Prof. Dr. Widji Soeratri, DEA.,Apt.

2. Dr. Tristiana Erawati M., M.Si., Apt.

3. Andang Miatmoko, M.Pharm.Sci.,Ph.D.,Apt.

4. Dr. Purwati, dr.Sp.PD.,K-PTI.,FINASIM.

PERNYATAAN ORISINALITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rina Mutya Suzliana

NIM : 051714153014

Program Studi : Magister Ilmu Farmasi

Judul Tesis : “Pengaruh Penambahan Asam Hialuronat Terhadap Efektivitas, Iritabilitas dan Stabilitas *Amniotic Membran Stem Cell* Metabolit Produk (AMSC-MP) *Freeze Drying* Sebagai Sediaan Gel *Anti Aging*”

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tesis saya ini adalah asli (hasil karya sendiri) bukan merupakan hasil peniruan atau penjiplakan (Plagiarism) dari karya orang lain. Tesis ini belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik.

Dalam tesis ini tidak terdapat pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan didalam daftar pustaka. Demikian, pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan dari pihak manapun, apabila pernyataan ini tidak benar, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai dengan norma dan peraturan yang berlaku di Universitas Airlangga.

Surabaya, 30 Januari 2020



Rina Mutya Suzliana
051714153014

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillahirobbal'Alamin, Puji dan Syukur Penulis panjatkan kehadiran Allah Swt yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah tesis yang berjudul “Pengaruh Penambahan Asam Hialuronat Terhadap Efektivitas, Iritabilitas dan Stabilitas *Amniotic Membran Stem Cell* Metabolit Produk (AMSC-MP) *Freeze Drying* Sebagai Sediaan Gel *Anti Aging*” sebagai syarat untuk menyelesaikan studi pada Pendidikan Program Magister Ilmu Farmasi Universitas Airlangga Surabaya bisa diselesaikan.

Perkenankan penulis menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang sangat mendalam kepada Prof. Widji Soeratri, DEA., Apt. selaku Pembimbing Ketua dan Dr. Tristiana Erawati M.,M.Si., Apt. selaku pembimbing Serta yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan dorongan, membimbing dan mengarahkan dengan sabar, tulus dan ikhlas dalam proses penyusunan naskah Tesis ini. Terima kasih atas kesempatan belajar yang sangat berharga ini.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada yang penulis hormati:

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Mohammad Nasih, SE., MT., Ak., CMA atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Magister.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Prof. Dr. Umi Athiyah, M.S., Apt. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
3. Koordinator Program Magister Program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Prof. Dr. Bambang Prajogo E.W., M.S., Apt. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
4. Ketua Departemen Farmasetik Dr. Retno Sari.,M.Sc.,Apt. yang bertindak sebagai Dosen Wali yang bersedia mendengarkan keluh kesah dan memberikan arahan yang bersifat positif kepada penulis selama menempuh jenjang magister.

5. Para penguji Dr. Esti Hendradi, M.Si.,Ph.D.,Apt., Andang Miatmoko, M.Pharm.Sci,Ph.D.,Apt. dan Dr. Purwati, dr.Sp.PD.,K-PTI, FINASIM. yang senantiasa memberikan masukan yang sangat berarti demi terwujudnya tesis ini.
6. Para dosen atau staf pengajar Program Magister Program Studi Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang penulis hormati.
7. Terima kasih kepada suami tercinta Muhammad Dirham S, S.Pd., M.Pd. dan Ananda tersayang Muhammad Uwais Syiham atas doa, kasih sayang, perhatian, pengorbanan, motivasi, dan dukungan yang sudah diberikan. Tanpa semua itu peneliti tidak bisa seperti sekarang ini.
8. Kedua orang tua tercinta Ayahanda H. Bahtiar Beddu dan Ibunda Hj.Elly Rahmini.,S.Pd., M.Si., Ibu Mertua Sitti Hapsah, Kakak Mizwar Arliansyah,S.E dan dr. Munaqisah, Adik Febrial Astri Lara Sari, S.S. dan Ismail Nohong S.E. dan Keluarga besar Bapak Beddu dan Bapak Nganro, Keluarga Besar Bapak Sirajuddin yang telah memberikan ridho, doa, nasihat, motivasi, kasih sayang, pengorbanan, semangat, dan dukungan baik secara moril maupun materi kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan Magister ini.
8. Teman-teman kosmetik Nisa Qurrota, Ria Hanistya, teman seperjuangan dalam menempuh pendidikan Magister saudariku Kurnia Indrayanti, Alief Putriana, Hanifah Rabbani, Septi dan teman-teman MIF 2017 dan seluruh teman-teman program studi ilmu farmasi yang telah memberikan kebersamaan penuh semangat, keceriaan, banyak kenangan dan pelajaran dalam kebersamaan kita.
9. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu yang telah membantu kelancaran tesis ini.

Semoga tesis yang masih jauh dari kata sempurna ini dapat bermanfaat bagi kemajuan ilmu kefarmasian dan almamater tercinta Fakultas Farmasi Universitas Airlangga. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat dan ridho-Nya bagi kita semua. Amin ya Robbal Alamin.

Surabaya, 30 Januari 2020
Penulis,

Rina Mutya Suzliana

RINGKASAN

PENGARUH PENAMBAHAN ASAM HIALURONAT TERHADAP EFEKTIVITAS, IRITABILITAS DAN STABILITAS AMNIOTIC MEMBRAN STEM CELL METABOLIT PRODUK (AMSC-MP) SEBAGAI SEDIAAN GEL ANTIAGING

RINA MUTYA SUZLIANA

Penuaan kulit adalah proses biologis kompleks yang mungkin disebabkan oleh faktor-faktor intrinsik dan ekstrinsik ke tubuh. Paparan sinar ultraviolet (UV) merupakan salah satu sumber utama kerusakan kulit yang dikenal dengan *photoaging*. Hal ini menunjukkan meningkatnya *Reactive Oxidative Stres* (ROS) yang dapat menyebabkan kerusakan pada molekul DNA, asam lemak, karbohidrat dan protein, termasuk kolagen dan elastin. Secara klinis, kulit menua ditandai dengan hilangnya kelembaban, tekstur kasar, pigmentasi tidak teratur, warna kekuningan, *telangiectasia*, kerutan, penipisan kulit dan garis-garis halus (Weihermann *et al.*, 2016). Berbagai terapi medis dan kosmetik topikal digunakan untuk mengurangi dan menghilangkan gejala penuaan. Salah satu bahan aktif yang populer digunakan adalah *Amniotic Membran Stem Cell Metabolit Produk* (AMSC-MP) (Prakoeswa, 2018).

Amniotic Membran Stem Cell Metabolit Produk adalah yang mengandung *growth factor* dan sitokin yang dapat memicu migrasi fibroblast dan produksi kolagen. AMSC-MP memiliki beberapa kekurangan untuk diformulasi dalam sediaan topikal, seperti berat molekul yang besar (>20 KDa) membuat AMSC-MP tertahan di *stratum corneum* sehingga penetrasi kulit yang rendah (Prakoeswa, 2018). Hal tersebut menyebabkan AMSC-MP membutuhkan formulasi yang tepat untuk mendapatkan produk dengan bioavailabilitas baik, efektif dan dapat berpenetrasi ke dalam lapisan kulit (Korkmaz *et al.*, 2013).

Penggunaan AMSC-MP dikombinasi dengan asam hialuronat dapat memperbaiki dan menyembuhkan luka (*wound healing*) (Susilo, 2011). Asam hialuronat selain berfungsi sebagai *enhancer* juga merupakan glikosaminoglikan yang berperan dalam mengikat dan menahan molekul air. Kulit yang mengalami *photoaging* jumlah asam hialuronatnya mengalami penurunan sehingga menyebabkan kurangnya kemampuan untuk menahan air yang menyebabkan kulit mengalami hidrasi, kerutan dan perubahan elastisitas dan menurunnya turgiditas dan kapasitas untuk mendukung mikrovaskular kulit (Inoue, 2017). Asam hialuronat menyebabkan perpanjangan fibroblast yang dapat meningkatkan produksi kolagen dan menstimulasi *growth factor β* dan pertumbuhan jaringan ikat sehingga dapat memperbaiki faktor *aging* pada kulit (Landau *et al.*, 2015). Selain asam hialuronat, AMSC-MP sebagai makromolekul memerlukan *enhancer* khusus untuk membantu penetrasinya. Salah satu *enhancer* yang baik untuk makromolekul adalah *SPACE Peptide* (Chen, 2014).

SPACE Peptide merupakan *enhancer* yang dapat digunakan untuk membantu penetrasi bahan aktif dengan ukuran yang besar (>25 KDa). *SPACE Peptide*

melokalisasi dermis dan peptide linier menembus kulit dan makromolekul hidrofobik. *SPACE Peptide* tidak mengubah penghalang lipid kulit tetapi *SPACE Peptide* berinteraksi dengan protein kulit dan menginduksi perubahan pada struktur sekunder protein kulit (α -heliks, β -sheet, *random coils* dan *turns*) (Kumar, 2015).

Penelitian ini membandingkan efektivitas, iritabilitas dan stabilitas fisik gel AMSC-MP sebagai *anti aging* dengan beberapa variasi konsentrasi asam hialuronat yang dikombinasi dengan *SPACE Peptide*, dimana Formula I (F_I) (AMSC 0,08%; tanpa HA dan tanpa *SPACE Peptide*), Formula II (F_{II}) (AMSC 0,08%; tanpa HA dan *SPACE Peptide* 0,016%), Formula III (F_{III}) (AMSC 0,08%; HA 0,01% dan *SPACE Peptide* 0,016%), Formula IV (F_{IV}) (AMSC 0,08%; HA 0,02% dan *SPACE Peptide* 0,016%) dan Formula V (F_V) (AMSC 0,08%; HA 0,04% dan *SPACE Peptide* 0,016%).

Dari hasil uji karakterisasi gel asam hialuronat diperoleh hasil pH 5,26-5,37 dan memenuhi standar sediaan gel yang dipersyaratkan yaitu 4,5-6,5. Daya sebar 6,13-6,50 dan memenuhi standar sediaan gel yang dipersyaratkan yaitu 5-7 cm.

Uji efektivitas *in vivo* menggunakan kulit punggung mencit jantan yang dilakukan yaitu uji penembusan kulit dan uji aktivitas *antiaging*. Hasil uji penembusan kulit dengan *rhodamin β* dengan pengamatan selama pengamatan selama 0,5; 1 dan 2 jam menunjukkan bahwa formula dengan penambahan *SPACE Peptide* mampu menembus kulit dengan baik dan gel AMSC-MP dengan asam hialuronat yang lebih banyak memiliki kemampuan menembus kulit yang lebih dalam dibandingkan dengan AMSC-MP dengan jumlah asam hialuronat yang lebih sedikit. Uji aktivitas *antiaging* dilakukan dengan mengamati kerapatan kolagen pada preparat hispatologi dengan pewarnaan *Masson Trichome* setelah 14 hari penggunaan AMSC-MP dan jumlah fibroblast pada preparat hispatologi dengan pewarnaan *Hematoxilin eosin* setelah 14 hari penggunaan AMSC-MP. Hasil uji kerapatan kolagen menunjukkan hasil perbedaan bermakna antara perlakuan UV dengan F_V (AMSC 0,08%; HA 0,04% dan *SPACE Peptide* 0,016%) dan jumlah fibroblast menunjukkan perbedaan bermakna pada F_{IV} (AMSC 0,08%; HA 0,02% dan *SPACE Peptide* 0,016%) dan F_V (AMSC 0,08%; HA 0,04% dan *SPACE Peptide* 0,016%).

Uji iritasi dilakukan secara *in vivo* dengan menggunakan kulit punggung mencit jantan. Hasil skoring uji iritasi pada preparat hispatologi dengan pewarnaan *Hematoxilin eosin* setelah 24 jam aplikasi sediaan menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna pada skor iritasi gel AMSC-MP HA

Hasil Uji stabilitas fisik selama 28 hari menunjukkan bahwa gel AMSC-MP HA stabil pada penyimpanan pada pengukuran pH dan daya sebar dan pada uji stabilitas kimia dengan pengukuran kadar *growth factor* TGF β dengan menggunakan *ELISA kit* pada F_I, F_{III} dan F_V dengan penyimpanan 21 hari menunjukkan penurunan kadar *growth factor* TGF β yaitu pada F_I dengan kadar rata-rata $922,97 \pm 14,72$ pada hari ke-0 dan $478,79 \pm 1,15$ pada hari ke-21 ; F_{III} dengan kadar rata-rata $929,372 \pm 11,23$ pada hari ke-0 dan $481,97 \pm 8,10$ pada hari ke-21 dan F_V dengan kadar rata-rata $1162,46 \pm 20,62$ pada hari ke-0 dan $731,55 \pm 11,53$ pada hari ke-21