

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit manusia adalah organ yang besar dan sangat kompleks yang tidak hanya memberikan perlindungan untuk jaringan internal tetapi juga memfasilitasi fungsi neurosensorik, sirkulasi dan imunologi di permukaan (Farage, 2013). Hilangnya fungsi dan stabilitas struktural pada kulit berlangsung tak terhindarkan sejalan dengan usia individu yang merupakan hasil dari proses intrinsik dan ekstrinsik yang berkontribusi secara bersamaan terhadap hilangnya integritas kulit secara progresif, dikenal sebagai penuaan kulit (*aging*) (Farage *et al.*, 2013)

Penuaan kulit merupakan proses kompleks. Pada dasarnya penuaan kulit dibedakan menjadi dua, yaitu penuaan intrinsik (*chronological*) dan penuaan ekstrinsik (*photoaging*) yang bergantung oleh berbagai faktor endogen dan eksogen yang menyebabkan hilangnya fungsi fisiologis secara progresif dan struktural. Penuaan intrinsik/kronologik ditentukan oleh faktor genetik sedangkan penuaan ekstrinsik / *photoaging* disebabkan oleh pajanan sinar ultraviolet yang kronik berulang (Zhang *et al.*, 2018). Faktor intrinsik sangat dipengaruhi oleh perubahan hormonal, stres oksidatif, mutasi DNA mitokondrial sedangkan faktor ekstrinsik disebabkan oleh UV (*Photoaging*), gravitasi, produk oksidatif (Zhang *et al.*, 2018). *Photoaging* adalah faktor lingkungan utama yang menyebabkan penuaan dini pada kulit. Penuaan kulit manusia yang dihasilkan dari radiasi UV adalah proses kumulatif yang terjadi berdasarkan tingkat paparan sinar matahari dan tingkat

pigmen kulit. Gejala penuaan kulit, seperti keriput dan hilangnya elastisitas disebabkan oleh berbagai faktor fisiologis dan lingkungan termasuk sinar Ultraviolet (UV). Diantara faktor-faktor yang bertanggung jawab untuk memediasi penuaan kulit akibat pengaruh UV adalah matrix metalloproteinases (MMPs). Iradiasi UV menginduksi matriks metalloproteinase (MMPs) yang bertanggung jawab untuk perubahan dalam matriks ekstraselluler kolagen dari jaringan ikat, sehingga integritas terganggu (Masnec *et al.*, 2010). Pada tingkat molekuler, radiasi UV dari matahari menyerang keratinosit dan fibroblast, menghasilkan aktivasi reseptor ke permukaan sel yang mengawali sinyal transduksi kaskade. Hal ini dapat menyebabkan berbagai perubahan molekuler yang menyebabkan kerusakan kolagen dalam matriks ekstraselluler dan penghentian sintesis kolagen baru. Penuaan tak terhindarkan dengan penurunan kolagen karena penurunan fibroblast dan sintesis kolagen serta elastin (Masnec *et al.*, 2010).

Berbagai terapi medis dan kosmetik topikal digunakan untuk mengurangi dan menghilangkan gejala penuaan. Pilihan pertama untuk perlindungan terhadap *photoaging* yaitu *photoprotection* dengan penggunaan sunblock atau UV filter, yang kedua adalah dengan penggunaan antioksidan, asam retinoat, estrogen, asam hialuronat, *growth factor*, sitokin dan yang terakhir adalah secara *physical* yaitu microdermabrasi, laser, botulinum toxins, dan *chemical peeling* (Garg *et al.*, 2017). Akan tetapi, penggunaan secara *physical* dianggap kurang menyenangkan dan menyebabkan *eritema* sesaat setelah penggunaan (Prakoeswa *et al.*, 2017).

Penelitian *stemcell* saat ini merupakan bahan aktif yang populer digunakan dalam bidang kosmetik. *Mesenchymal stemcell* (MSC) merupakan sel

induk multipoten yang dapat memperbaharui diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai sel, mengatur respon imun dan inflamasi, serta menghasilkan *growth factor* dan sitokin. MSC dewasa sebagian besar diperoleh dari mesoderm seperti sumsum tulang, umbilical cord, adiposa, amnion, cairan amnion, Wharton's jelly (Lee *et.al.*,2014). *Amniotic Membran* (AM) atau membran amnion merupakan salah satu MSC dewasa karena selnya memiliki ciri *stemcell* dengan kemampuan diferensiasi multipoten dan karena imunogenisitas rendah dan mudah diperoleh dari plasenta yang merupakan suatu jaringan yang dibuang setelah proses kelahiran sehingga terhindar dari masalah etik penggunaan *stemcell* seperti pada penggunaan *human embryonic stemcell*. *Amniotic Membran* telah dikembangkan sebagai suatu bahan yang digunakan dalam terapi seluler dan regeneratif dan peremajaan kulit (Insausti *et al.*,2010). Peran alamiah MSC yang penting dalam proses peremajaan kulit pada *photoaging* ini menimbulkan pemikiran untuk mencoba mengaplikasikan MSC dan produk metabolitnya secara eksogen yang dikenal dengan *Amniotic Membran Stem Cell Metabolit produk* (AMSC-MP). Hal ini dapat menjadi sesuatu yang menjanjikan dalam upaya mempercepat proses peremajaan kulit pada *photoaging*. AMSC-MP diperoleh dengan teknik biologi yaitu dengan mengisolasi dan kultur *stem cell* manusia lalu kemudian ditumbuhkan didalam medium terkondisi (Schmid.,2009)

Kelebihan produk metabolit dibandingkan *stem cell* adalah dalam hal produksi, medium kultur *stem cell* lebih mudah untuk diperoleh, AMSC-MP dapat diproduksi dalam jumlah banyak dengan biaya lebih minimal dibandingkan *stem cell*nya dan dalam formulasi, pembuatan sediaan topikal dari produk metabolit *stem*

cell lebih mudah dibandingkan produk topikal *stem cell* nya, karena untuk membuat preparat topikal dari *stem cell* diperlukan bahan pembawa tertentu mempertahankan *stem cell* tetap hidup. Dari segi etik, produk metabolit *stem cell* tidak bersifat karsinogenik dan dapat diaplikasikan pada orang lain karena tidak menimbulkan reaksi penolakan dari tubuh (Prakoeswa *et al.*, 2017).

Aplikasi AMSC-MP topikal *fluid* dengan cara dioleskan pada luka terbuka terbukti dapat mengatasi fase inflamasi berkepanjangan pada luka kronis karena mengandung antiinflamasi sitokin dan faktor pertumbuhan (*growth factor*) (Telang,2013). Pada penelitian lain AMSC-MP telah terbukti mengurangi ulkus plantar kronis pada ulkus lepra/luka terbuka, serta penggunaan AMSC-MP topikal pada wajah (kulit utuh), dengan menggunakan *microneedle* menunjukkan efek yang lebih baik pada *photoaging* yang menjanjikan untuk terapi permajaan (Prakoeswa, 2018). Pada penelitian Kim (2011), pengaplikasian AMSC-MP yang mengandung *growth factor* dan sitokinterbukti secara topikal membantu memperbaiki tanda *skin aging* seperti kerutan. *Growth factor* dan sitokin yang terkandung di dalam AMSC-MP yang diketahui dapat mempengaruhi biosintesis kolagen diantaranya *endothelial vascular growth factor* (VEGF), *Epidermal growth factor* (EGF), *growth factor granulosit*, *growth factor keratinosit* dan *growth factor hepatosit*. *Transforming growth factor* β (TGF- β), Iinterleukin (IL-6) dan Interleukin (IL-8) (Lee,2014). *Growth factor* dan sitokindiyakini mengurangi gejala *skin aging* karena kemampuannya untuk meningkatkan proliferasi keratinosit epidermal dan fibroblast dermal, merangsang pembentukan matriks ekstraseluler termasuk kolagen dan asam hialuronat (Rabe *et al.*,2006).

Pada penelitian Susilo (2011) penggunaan AMSC dikombinasi dengan asam hialuronat (HA) dapat memperbaiki dan menyembuhkan luka (*wound healing*). Penambahan asam hialuronat pada AMSC dapat meningkatkan epitelisasi yang ditandai dengan jumlah lapisan epitel dan reorganisasi *cytokeratin* filamen pada sitoplasma pada proses penyembuhan luka. Asam hialuronat merupakan glikosaminoglikan yang berperan dalam mengikat dan menahan molekul air. Asam hialuronat terdapat pada kulit manusia dapat terhidrolisis oleh enzim hialuronidase yang diaktivasi oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kulit yang mengalami *photoaging*, jumlah asam hialuronatnya mengalami penurunan sehingga menyebabkan kurangnya kemampuan HA untuk menahan air yang menyebabkan kulit mengalami dehidrasi, kerutan, perubahan elastisitas dan menurunnya turgiditas dan kapasitas untuk mendukung mikrovaskulatur kulit (Inoue *et al.*, 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).

Dari beberapa hasil penelitian tersebut, diperoleh kelebihan dari produk AMSC-MP yang dapat dikembangkan sebagai sediaan *antiaging*. Namun dalam hal ini, AMSC-MP memiliki keterbatasan untuk pengaplikasiannya pada kulit. Sebagian besar *growth factor* yang merupakan faktor penting dalam peremajaan kulit pada *photoaging* merupakan molekul hidrofilik yang berukuran lebih besar dari 20 kDa memiliki kemampuan penetrasi yang buruk (Schmid, 2009). Molekul hidrofilik yang berukuran lebih besar dari 500 Da sulit untuk penetrasi melalui

stratum korneum (Vineet *et al.*,2010). Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan *microneedle*, namun *microneedle* memiliki keterbatasan dalam hal penggunaan yaitu harus dengan bantuan tenaga ahli dan menimbulkan *eritema* setelah penggunaan (Prakoeswaet *al.*,2018).

Enhancer dapat digunakan dalam formulasi transdermal untuk memperbaiki fluks obat yang melewati membran (Barry, 2004). Asam Hialuronat selain dapat meningkatkan efektivitas AMSC-MP sebagai *antiaging* karena fungsinya sebagai moisturizer, HA juga mempunyai kemampuan sebagai *enhancer* dengan cara menghidrasi lapisan *stratum corneum* dan melembabkannya. Hidrasi oleh asam hialuronat akan mengubah susunan sel-sel *stratum corneum* yang tersusun rapat menjadi lebih renggang. Dengan demikian, permeabilitas kulit terhadap molekul-molekul obat meningkat. Oleh karena itu, penambahan asam hialuronat ke dalam formulasi diharapkan dapat meningkatkan efektivitas dari AMSC-MP sebagai sediaan *antiaging* pada kulit. Penggunaan asam hialuronat untuk sediaan kosmetik digunakan pada konsentrasi 0,01-2,0 % (Ramli *et al.*,2018). Selain itu, Saat ini peptida telah menjadi perhatian luas dalam beberapa tahun terakhir sebagai strategi dan inovasi sederhana dan efektif untuk pengiriman makromolekul ke dalam kulit. Dalam penelitian Kumar (2014) dengan menguji beberapa jenis peptide, SPACE peptide diperoleh sebagai *enhancer* yang paling baik dan tidak toksik untuk keratinosit serta paling efektif dalam pengiriman. *SPACE Peptide* terbukti dapat meningkatkan penetrasi topikal makromolekul (asam hialuronat, MW = 200-325 KDa) (Chen, *et al.*,2013). *SPACE Peptide* menunjukkan peningkatan penetrasi ke berbagai sel termasuk keratinosit, fibroblast

dan sel endotel. *SPACE Peptide* berinteraksi dengan protein kulit (heliks α , β -sheet, random dan melingkar) dengan meningkatkan partisi menjadi korneosit kaya keratin melalui jalur transeluler (Kumar *et al.*,2015). Penggunaan *SPACE Peptide* yang digunakan adalah 0,016%. Hal ini merujuk dari penelitian (ACS Paragon,2014) bahwa konsentrasi *SPACE Peptide* yang optimal adalah minimal sama dengan konsentrasi bahan aktif yang dihantarkan.

Aseptabilitas, tidak toksik dan tidak mengiritasi merupakan hal yang paling mendasar dalam formulasi sediaan kosmetik. Gel merupakan bentuk sediaan yang memiliki keuntungan antara lain tidak lengket, konsentrasi bahan pembentuk gel hanya sedikit untuk dapat membentuk massa gel yang baik, viskositas gel tidak mengalami perubahan yang berarti pada suhu penyimpanan (Lieberman *et.al.*,1989). Gel mempunyai potensi lebih baik sebagai sarana untuk penggunaan secara topikal dibandingkan dengan salep, selain tidak lengket, pada proses pembuatannya tidak memerlukan energi yang besar, stabil, dan mempunyai nilai estetika yang bagus.

Kualitas fisik suatu gel tergantung pada penampilan secara organoleptis yang menarik (Barek, 2014). Selain itu, Stabilitas kimia juga sangat menentukan keberhasilan formulasi suatu sediaan. Dalam penelitian ini akan dilakukan pengujian terhadap perubahan pH dan perubahan kadar *growth factor* β . Pemeriksaan immunoassay menggunakan reagen dari Bioassay Technology Laboratory dengan nomor katalog Cat. No. E3051Hu dengan menggunakan *kit* ELISA dengan metode *sandwich* untuk mengetahui perubahan kadar dalam pembuatan sediaan.

Berdasarkan latar belakang tersebut tentang berbagai kelebihan dari AMSC-MP untuk aktivitas anti aging, maka pada penelitian ini akan diformulasi gel AMSC-MP *Freeze dry* dengan menggunakan *SPACE peptid* dan asam hialuronat sebagai *enhancer* pada beberapa rasio konsentrasi 0,00 %; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% sebagai sediaan *anti aging* dengan uji efektivitas *anti aging* (penetrasi, kerapatan kolagen dan jumlah fibroblast), uji iritasi dan uji stabilitas (pH, daya sebar dan stabilitas kimia yaitu kadar *Transforming growth factor β* (TGF β))

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% terhadap efektivitas *antiaging* (penetrasi, kerapatan kolagen dan jumlah fibroblast) *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product* (AMSC-MP) sebagai sediaan gel *antiaging* kulit?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% terhadap iritabilitas *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product* (AMSC-MP) sebagai sediaan gel *antiaging* kulit?
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% terhadap stabilitas (pH, daya sebar dan kadar *growth factor TGF β*) *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product* (AMSC-MP) sebagai sediaan gel *antiaging* kulit

1.3 Tujuan Penelitian

1. Membandingkan pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02% dan 0,04% terhadap efektifitas (penetrasi, kerapatan kolagen dan jumlah fibroblast) *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product (AMSC-MP) Freeze dried* sebagai sediaan gel *antiaging* kulit?
2. Membandingkan pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% terhadap iritabilitas *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product (AMSC-MP)* sebagai sediaan gel *antiaging* kulit?
3. Membandingkan pengaruh konsentrasi asam hialuronat 0; 0,01 %; 0,02 % dan 0,04% terhadap stabilitas (pH, daya sebar dan kadar *growth factor TGF β*) *Amniotic Membran stemcell-Metabolit product (AMSC-MP)* sebagai sediaan gel *anti aging* kulit?

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan data ilmiah untuk pengembangan formulasi *Amniotic Membran Stem Cell Metabolit Product (AMSC-MP) freeze dried* dengan penambahan asam hialuronat sebagai sediaan gel *antiaging* kulit.