

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara tropis di garis khatulistiwa yang selalu disinari oleh matahari. Salah satu dari banyak manfaat sinar matahari bagi kesehatan adalah menyediakan sumber vitamin D yang diperlukan untuk kekuatan tulang (Fiannisa, 2019). Selain memiliki manfaat, cahaya matahari dapat memberikan efek negatif. Kulit yang terpapar sinar ultraviolet (UV) yaitu UV-A dan UV-B dalam waktu lama dapat memunculkan radikal bebas. Permasalahan kulit yang sering terjadi akibat radikal bebas dari sinar UV adalah penuaan dini atau biasa disebut *photoaging* (Pahlavan *et al.*, 2022; Silveira & Pedroso, 2014). Dalam beberapa kasus, radikal bebas juga berkontribusi atas permasalahan peradangan pada kulit dan kanker kulit (Gordon, 2013).

Reactive oxygen species (ROS) sebagai bentuk radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif karena sifatnya yang reaktif dan tidak stabil (Phaniendra *et al.*, 2015). Stres oksidatif akan berpengaruh terhadap ekspresi protein pada sel yaitu Protein 53 (p53) dan *Collagen Type IV Alpha 1* (COL4A1) yang merupakan protein penting terkait penuaan. Protein 53 disebut juga *guardian of genome* yaitu protein yang berperan dalam mencegah tumor dengan beberapa mekanisme yaitu memicu penghentian siklus sel sementara, memicu kematian sel (apoptosis) atau memicu penghentian siklus sel permanen (penuaan sel). Aktivasi berlebih protein p53 akan meningkatkan penuaan pada kulit. Ketika kulit terpapar sinar UV dari matahari dan terbentuk molekul radikal bebas, sel-sel kulit berpotensi mengalami kerusakan. Protein p53 sebagai penjaga genom akan teraktivasi berlebih untuk mencegah sel yang berpotensi mengalami kerusakan untuk tumbuh dan menyebabkan proliferasi yang tidak terkendali sebagai penyebab awal kanker. Protein p53 akan terakumulasi pada epidermis (lapisan basal dan suprabasal) dan dermis (fibroblas), sehingga membuat sel kulit mengalami apoptosis berlebih mengakibatkan bertumpuknya sel kulit mati dan penuaan dini (Rodier *et al.*, 2007).

Radikal bebas akibat sinar UV dapat mengaktivasi matriks metaloproteinase (MMPs). Matriks metaloproteinase ini akan mendegradasi kolagen dermal dan protein lain dari matriks ekstraseluler, salah satunya adalah COL4A1 yaitu protein yang berperan dalam sintesis kolagen pada kulit. Terdegradasinya kolagen akan mengurangi kekuatan, integritas struktural, dan ketahanan pada kulit, sehingga memunculkan kerutan, garis halus yang merupakan tanda-tanda penuaan kulit (Jabłońska-Trypuc *et al.*, 2016). Dengan demikian, penurunan ekspresi protein p53 serta peningkatan ekspresi protein COL4A1 adalah salah satu cara untuk mencegah *photoaging* akibat radikal bebas dari paparan sinar UV.

Cara pencegahan yang dapat dilakukan adalah dengan mengurangi efek paparan sinar UV menggunakan produk tabir surya yang dapat menyaring berbagai panjang gelombang UV baik UV-A maupun UV-B, sehingga dapat melindungi kulit dari efek buruk sinar UV. Cara lain yang dapat dilakukan adalah menggunakan produk yang mengandung antioksidan untuk mengatasi radikal bebas yang terbentuk dalam kulit. Antioksidan dapat menstabilkan radikal bebas, sehingga tidak reaktif terhadap molekul lainnya (Murray *et al.*, 2009). Senyawa antioksidan secara alami dibentuk oleh tubuh yang disebut antioksidan endogen, namun produksi radikal bebas yang berlebih menyebabkan antioksidan endogen tidak dapat mengatasi stres oksidatif yang terjadi. Antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh disebut antioksidan eksogen. Antioksidan eksogen yang banyak digunakan masyarakat adalah vitamin C, vitamin E, beta-karoten dan beberapa ekstrak tumbuhan (Silvia *et al.*, 2016). Salah satu tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa dengan potensi antioksidan adalah tumbuhan salak.

Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) adalah buah asli Indonesia yang banyak dikonsumsi masyarakat karena keragaman manfaatnya. Buah salak dikenal juga sebagai *snake fruit* dalam bahasa Inggris karena kulitnya yang mirip sisik ular. Buah ini merupakan tumbuhan yang berasal dari familia Arecaceae atau palem palem (Ismail & Bakar, 2018). Buah salak memiliki kulit keras, tajam dan tidak dapat dikonsumsi, sehingga kulit buah salak dibuang begitu saja. Penelitian Girsang *et al.* (2019a), menunjukkan bahwa kulit buah salak mengandung senyawa fenolik penting seperti rutin, asam klorogenat, asam kafeat, dan asam protokatekuat. Secara *in silico*, *docking* molekuler dilakukan terhadap protein yang terkait dengan

penuaan kulit, yaitu MMPs membuktikan bahwa asam klorogenat memiliki afinitas pengikatan yang tinggi terhadap MMPs (-9,4 kkal/mol), sehingga aktivasi MMPs dapat dihambat dan produksi kolagen akan stabil. Dengan demikian, kulit buah salak secara *in silico* dapat berpotensi sebagai antipenuaan (Girsang *et al.*, 2019a).

Penelitian yang dilakukan oleh Adjeng *et al.* (2022), mendukung pemanfaatan ekstrak kulit salak sebagai anti-penuaan dan antioksidan yang diformulasikan pada sediaan sabun. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah salak berpotensi sebagai sumber antioksidan alami. Antioksidan ini dikembangkan dalam sediaan sabun cair yang mengandung 3% ekstrak etanol kulit buah salak. Hasil penelitian membuktikan bahwa sediaan sabun cair tersebut dapat melawan radikal bebas dengan *Inhibitory Concentration 50%* (IC₅₀) sebesar 62,08 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan sedang. Dengan berkurangnya molekul radikal bebas maka stres oksidatif tidak akan terjadi, sehingga protein p53 tidak akan terekspresikan.

Blemish Balm Cream (Krim BB) adalah salah satu produk kosmetik yang diminati wanita karena merupakan produk kosmetik multifungsi yang dapat dijadikan alas bedak, pelembab, dan tabir surya. Krim BB memiliki tekstur yang ringan sehingga tidak menyumbat pori-pori dan cocok untuk aktivitas sehari-hari. (Rohmani *et al.*, 2022). Penambahan ekstrak kulit salak yang mengandung antioksidan tinggi pada formulasi krim BB berpotensi dapat menambah fungsi krim BB tersebut sebagai produk antipenuaan. Krim BB ekstrak kulit salak perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* sebelum diproduksi secara luas dan digunakan oleh masyarakat umum. Pengujian ini dapat dilakukan menggunakan mencit yang diinduksi UV sebagai model penuaan. Mencit digunakan sebagai hewan uji karena struktur anatomi, genetik, dan fisiologisnya mirip dengan manusia (Mutiarahmi *et al.*, 2021). Indikator keberhasilan potensi ekstrak kulit buah salak sebagai antipenuaan dapat diketahui dengan melihat histopatologi kulit serta ekspresi protein yang berkaitan dengan penuaan, yaitu p53 dan COL4A1 (Gambino *et al.*, 2013; Leggieri *et al.*, 2022).

Berdasarkan latar belakang yang dikemukakan, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit

serta ekspresi protein p53 dan COL4A1 pada mencit yang diinduksi UV sebagai model penuaan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan sebelumnya, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah “Bagaimana pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit serta ekspresi protein p53 dan COL4A1 pada mencit yang diinduksi UV sebagai model penuaan?”

1.3 Pertanyaan Penelitian

Pertanyaan penelitian yang muncul berdasarkan rumusan masalah adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit mencit yang diinduksi UV?
2. Bagaimana pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap ekspresi protein p53 kulit mencit yang diinduksi UV?
3. Bagaimana pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap ekspresi protein COL4A1 kulit mencit yang diinduksi UV?
4. Bagaimana hubungan antara ekspresi protein p53 dengan COL4A1 kulit mencit yang diberi krim BB sebagai model penuaan?

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit serta ekspresi protein p53 dan COL4A1 kulit mencit yang diinduksi UV sebagai model penuaan. Secara lebih rinci tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit mencit yang diinduksi UV.
2. Mengetahui pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap ekspresi protein p53 kulit mencit yang diinduksi UV.
3. Mengetahui pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap ekspresi protein COL4A1 kulit mencit yang diinduksi UV.
4. Mengetahui hubungan antara ekspresi protein p53 dengan COL4A1 kulit mencit yang diberi krim BB sebagai model penuaan.

1.5 Batasan Penelitian

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Krim BB dibuat menggunakan bahan baku ekstrak kulit salak pondoh (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) oleh pabrik kosmetik CV Skinsol yang terstandar Cara Pembuatan Kosmetik yang Baik (CPKB).
2. Sinar UV yang digunakan berasal dari alat sinar UV-B kanlux HERON kt017c dengan panjang gelombang 280–315 nm.
3. Mencit yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) galur DDY berumur 10 -11 minggu dengan berat 30-35 gram yang diperoleh dari iRATco Laboratory.
4. Krim BB yang diberikan pada masing-masing kelompok perlakuan adalah 0,3 cc cream dengan satu kali oles (pagi jam 08.00), dua kali oles (pagi jam 08.00, siang 13.00). Setiap dosis krim BB ekstrak kulit salak diberikan dengan cara dioleskan ke punggung mencit yang telah dicukur rambutnya tiga kali sehari selama 14 hari.
5. Parameter yang diamati adalah histopatologi organ kulit mencit serta ekspresi protein p53 dan COL4A1 pada kulit mencit sebagai model penuaan.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat hasil penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Manfaat Teoritis
Menambah khasanah ilmu pengetahuan mengenai pengaruh krim BB ekstrak kulit salak terhadap histopatologi kulit serta ekspresi protein p53 dan COL4A1 pada mencit yang diinduksi UV sebagai model penuaan.
2. Manfaat Praktis
Hasil penelitian ini dapat menjadi acuan untuk melakukan uji klinis sebagai tahapan selanjutnya dalam produksi kosmetik krim BB ekstrak kulit salak.

1.7 Asumsi

Asumsi yang dijadikan landasan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Sinar UV pada cahaya matahari dapat memunculkan radikal bebas jika kulit terpapar dalam waktu yang lama dan dapat menyebabkan penuaan dini (Pahlavan *et al.*, 2022; Silveira & Pedroso, 2014).

2. Radikal bebas menyebabkan stres oksidatif yang memicu aktivasi protein p53 sebagai antisipasi tumor namun berefek pada penuaan dini pada kulit (Rodier *et al.*, 2007).
3. Radikal bebas dapat mengaktivasi MMPs yang mendegradasi kolagen dermal dan protein matriks ekstraseluler yaitu COL4A1 yang menghambat sintesis kolagen untuk kekuatan dan kekenyalan kulit (Jabłońska-Trypuć *et al.*, 2016).
4. Ekstrak kulit buah salak mengandung senyawa fenolik penting seperti rutin, asam klorogenat, asam kafeat, dan asam protokatekuat yang secara *in silico* terbukti berpotensi sebagai antipenuaan karena memiliki afinitas pengikatan yang tinggi terhadap protein yang terkait dengan penuaan kulit (Girsang *et al.*, 2019a).
5. Secara *in vitro* 3% ekstrak etanol kulit buah salak dapat melawan radikal bebas dengan IC₅₀ 62,08 ppm yang dikategorikan sebagai antioksidan sedang (Adjeng *et al.*, 2022).

1.8 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Krim BB ekstrak kulit salak menurunkan ekspresi protein p53 pada mencit yang diinduksi UV
2. Krim BB ekstrak kulit salak meningkatkan ekspresi protein COL4A1 pada mencit yang diinduksi UV