

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Uraian Kerangka Konseptual

AMSC adalah merupakan kantung membran yang membungkus janin manusia dengan ketebalan antara 0,02-0,05 mm (Malhotra dan Jain, 2014) bersifat transparan, tipis dan kuat (Agarwel *et al*, 2014). Pada proses kultur dengan medium yang sudah dikondisikan dengan enzim tripsin 0,25% ditambah *Phospate Buffer Saline* (PBS) mengandung kolagenasi IV 0,75%/ml dan Dnase I 0,075% mg/ml, AMSC akan mensekresi produk metabolit yang disebut *Amniotic Membrane Stem Cell Metabolite Product* (AMSCMP) (Prakoeswa, 2018).

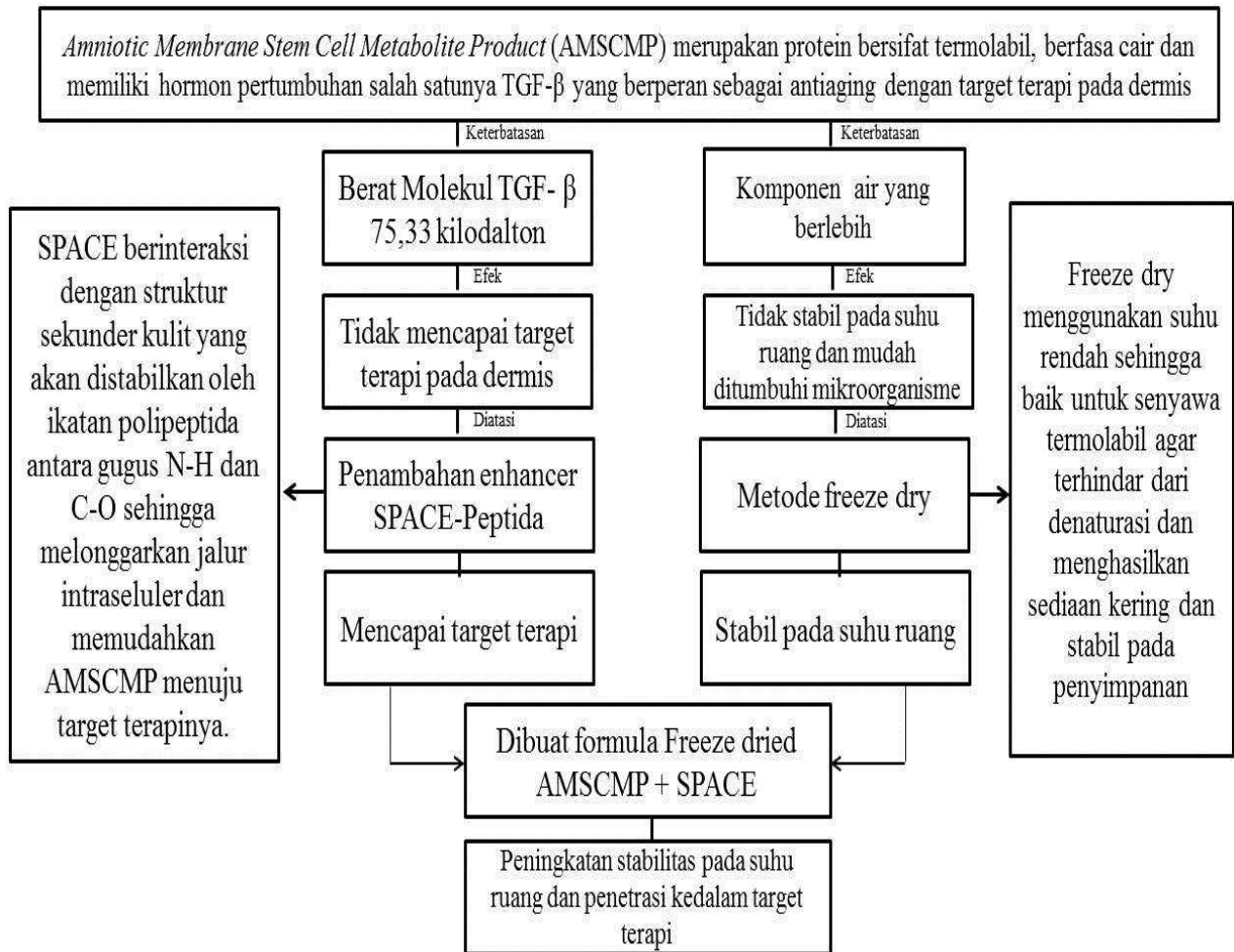
AMSCMP adalah metabolit berfasa *fluid* mengandung *growth factor* berupa protein antara lain *Epidermal Growth Factor* (EGF), *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dan *Keratinocyte Growth Factor* (KGF) yang telah di konfirmasi hasilnya dengan alat *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dan *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (Islam R, 2012). Diketahui bahwa protein tidak stabil dalam komponen air dan berpengaruh langsung terhadap stabilitas penyimpanan karena merupakan media yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Sehingga diperlukan penanganan khusus untuk menjaga stabilitas *growth factor* yang ada dengan metode *freeze dry*. *Freeze dry* merupakan proses pengeringan dimana solven (umumnya air) atau media suspensi terkristalisasi pada suhu yang rendah dan kemudian mengalami sublimasi dari fasa padat menjadi fasa gas secara langsung. Jika dibandingkan dengan metode pengeringan konvensional, keuntungan dari *freeze dry* adalah dengan suhu rendah dapat mempertahankan struktur dan morfologi bahan-bahan yang digunakan,

menjaga aktivitas biologis bahan aktif serta menghasilkan produk dengan *self life* yang panjang (Ohtake *et al*, 2011; Nathdanai *et al*, 2012; Davinder *et al*, 2015).

Sebagian besar *growth factor* yang ada pada AMSCMP merupakan molekul hidrofilik yang berukuran besar > 25.000 Dalton (Da), sedangkan molekul hidrofilik yang berukuran >500 Da sulit untuk penetrasi ke dalam kulit (Prakoewa, 2018). Sehingga untuk meningkatkan sifat penetrasinya diperlukan penambahan enhancer khusus dari golongan peptida yaitu *Skin Penetrating and Cell Entering* (SPACE) (Kumar, 2015). SPACE berinteraksi dengan protein kulit dan menginduksi perubahan struktur sekunder protein kulit yakni α -helix dan β sheet (Kumar S, 2015). Kelebihan dari SPACE adalah sifatnya yang reversibel dan tidak mengiritasi (Ming chen, 2013; Punit, 2012; Kumar S, 2015). Setelah penambahan SPACE, maka mekanisme AMSCMP adalah mengarahkan efeknya pada jalur intraseluler dengan melonggarkan struktur sekunder melalui ikatan polipeptida yang distabilkan oleh gugus C-O dan N-H (Kumar S, 2015). AMSCMP yang telah menembus stratum korneum mereka dapat berinteraksi dengan reseptor spesifik pada keratinosit dan memulai *cytokine signaling cascade* yang mempengaruhi fibroblas dan sel-sel lain dalam dermis (Patricia K, 2014)

Berdasarkan latar belakang tersebut kemudian dilakukan studi stabilitas penyimpanan terhadap suhu ruang dan dingin, pH, penentuan kadar TGF- β , serta penentuan Berat Molekul (BM) antar *fluid* dan *freeze dried* AMSCMP. Setelah diperoleh hasil bahwa *freeze dried* AMSCMP lebih stabil kemudian dilakukan uji karakterisasi fisik sebagai skrining awal untuk selanjutnya digunakan sebagai formula antara lain *Scanning Electron Microscope* (SEM), *X-Ray Diffraction* (XRD), *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Differential Thermal Analysis*

(DTA). Kemudian penelitian ini membandingkan pengaruh peningkatan kadar SPACE Peptida terhadap penetrasi formula *freeze dried* AMSCMP ke dalam kulit terhadap beberapa parameter yaitu penentuan kadar TGF- β , berat molekul, penetrasi dan iritasi.



Gambar 3.1 Bagan kerangka konseptual

3.2 Hipotesa

1. Stabilitas penyimpanan *freeze dried* lebih baik dibandingkan bentuk *fluid*
2. Penambahan SPACE dapat meningkatkan penetrasi AMSCMP kedalam kulit