

**HUBUNGAN KADAR AQUAPORIN 3 (AQP3) DAN SERAMID (CER)
PLASMA ARTERI UMBILIKALIS NEONATUS TERHADAP SAWAR
KULIT BAYI**

*The correlation between Aquaporine 3 (AQP3) and Ceramide (CER) Level in
the Umbilical Artery Plasma of the Neonates to the Infant's Skin Barrier*

EVI MUSTIKAWATI ARIFIN

C013182003



PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

**HUBUNGAN KADAR AQUAPORIN 3 (AQP3) DAN SERAMID (CER)
PLASMA ARTERI UMBILIKALIS NEONATUS TERHADAP SAWAR
KULIT BAYI**

Disertasi
Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor
Program Studi Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh :

EVI MUSTIKAWATI ARIFIN
Nomor Pokok : C013182003

Kepada

PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2022

TIM PENILAI UJIAN

- Promotor** : Prof. dr. Muhammad Nasrum Massi, PhD, Sp.MK
- Ko-Promotor** : Prof. Dr. dr. Farida Tabri, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
- Penilai** : Dr. dr. Puguh Riyanto, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
dr. Agussalim Bukhari, M.Med, PhD, Sp.GK(K)
Dr. dr. Siswanto Wahab, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
dr. Firdaus Hamid, PhD
dr. Husni Cangara, PhD, Sp.PA(K)
Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS

DISERTASI

**HUBUNGAN KADAR AQUAPORIN 3 (AQP3) DAN SERAMID (CER)
PLASMA ARTERI UMBILIKALIS NEONATUS TERHADAP SAWAR KULIT BAYI**

*The correlation between Aquaporine 3 (AQP3) and Ceramide (CER) Level in
the Umbilical Artery Plasma of the Neonates to the Infant's Skin Barrier*

Disusun dan diajukan
Oleh

Evi Mustikawati Arifin
C013182003

*Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal, 12 Januari 2022
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor

Prof. dr. Muh. Nasrām Massi, Ph.D, Sp.MK
Nip. 19670910 199603 1 001

Co. Promotor

Prof. Dr. dr. Faida Tabri, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV
Nip. 19540128 198303 2 002

Co. Promotor

Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV
Nip. 19660213199603 1 001

Ketua Program Studi S3
Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199603 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 19661213 199503 1 009



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN

3

PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN

Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Evi Mustikawati Arifin
NIM : C013182003
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

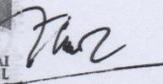
Identifikasi Kadar dan Penentuan *Cut off Point* Aquaporin-3 yang Dihubungkan dengan Kadar *Ceramide* pada Sampel Arteri Umbilikali Neonatus Normal

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa Disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 12 Oktober 2021

Yang menyatakan,


METERAI TEMPEL
3ABA/JX442201457

Evi Mustikawati Arifin

ABSTRACT

EVI MUSTIKAWATI ARIFIN. *The Correlation between Aquaporine 3 (AQP3) and Ceramide (CER) Level in The Umbilical Artery Plasma of Neonates to Infants Skin Barrier* (Supervised by Muh. Nasrum Massi, Farida Tabri, and Khairuddin Djawad)

This study aims to find the relation between AQP3 rate and CER of normal neonatal umbilical artery to an infant's skin barrier aged under one year old. Stratum corneum has a major role through its function as the skin protector, manifested as skin barrier, which facilitated by the intercellular lipid. Ceramide (CER) become an important part of the extracellular lipid through its function to keep water permeability of the barrier. Permeability impairment caused by the CER mediated by one of the proteins which role serves in water transportation, known as aquaporine (AQP) water channel. AQP3 is a type of AQP which abundantly expressed on the skin and been studied for its principal function for skin dehydration and glycerol metabolism and related with keratinocyte proliferation. This study aims to find the relation between AQP3 rate and CER of normal neonatal umbilical artery to an infant's skin barrier aged under one year old.

This study was a cohort prospective research which was included 44 samples of plasma from umbilical artery which AQP3 rate and CER were measured by Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA) method. The skin barrier state was evaluated by calculating the value of Trans Epidermal Water Loss (TEWL) from the skin of 9-10 months old infant through Tewameter instrument.

The mean values of AQP3 rate and CER are 3.7977 ± 1.60 ng/mL and 27.1980 ± 2.35 ng/mL respectively. The low AQP3 rate significantly shows the possibility of TEWL value impaired 4.5 times compared to normal AQP3 (P-value = 0.000, < 0.05). It is different compared to CER rate which is significantly not related with the value of TEWL, whereas the increasement of CER supposed to be followed by the TEWL value considerably (P-value = 0.366, < 0.05). The rate of AQP3 and the skin barrier's state that may be used as a reference for biomarker candidate and one of the risk factors of skin barrier's impairment. It is contrary to the CER that is suggested not sufficient enough to be a risk factor of skin damage.

Keywords: Aquaporin 3, ceramide, umbilical artery, transepidermal waterloss, skin barrier



ABSTRAK

EVI MUSTIKAWATI ARIFIN. *Hubungan Kadar Aquaporin (Aqp3) dan Seramid (Cer) Plasma Arteri Umbilikalis Neonatus terhadap Sawar Umbilikalis Neonatus Normal terhadap Sawar Kulit Bayi* (dibimbing oleh Muh. Nasrum Massi. Farda Tabri, Khairuddin Djawa)

Penelitian ini bertujuan mengetahui hubungan kadar AQP3 dan CER arteri umbilikalis neonates normal terhadap sawar kulit bayi usia < 1 tahun. Stratum korneum berperan penting dalam fungsi pelindung sawar kulit yang diperantarai oleh lipid antar sel. Seramid (CER) merupakan komponen penting lipid ekstra seluler menjaga permeabilitas air pada sawar. Gangguan permeabilitas yang CER dimediasi oleh salah satu protein yang berperan dalam transportasi y 9 dengan nama aquaporine (AQP) water channel. AQP3 merupakan jenis AQP yang banyak diekspresikan di kulit dan telah diteliti berperan penting terhadap dehidrasi kulit dan metabolisme gliserol serta berhubungan dengan proliferasi keratinosit.

Penelitian ini merupakan penelitian kohort prospektif dengan jumlah sampel penelitian sebanyak 44 sampel plasma arteri umbilikalis yang diukur kadar U an CER menggunakan metode Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA) Kondisi sawar kulit dievaluasi dengan menilai Trans-epidermal Water Loss (TEWL) pada kulit bayi usia 9-10 bulan menggunakan alat Tewameter.

Hasil. didapatkan rerata kadar AQP3 dan CER masing-masing adalah 3.7977 ± 1.60 ng/mL dan 27.1980 ± 2.35 ng/mL Kadar AQP3 rendah secara signifikan menunjukkan kemungkinan nilai TEWL terganggu 4 5 kali dibandingkan dengan AQP3 normal (P-value = 0.000, <0.05). Berbeda dengan kadar CER yang tidak signifikan berhubungan dengan nilai TEWL, dimana jika nilai CER meningkat maka nilai TEWL cenderung meningkat (P-value = 0.366, <0.05). Ditemukan hubungan yang bermakna antara kadar AQP3 dengan kondisi sawar kulit yang dapat dijadikan sebagai kandidat biomarker dan salah satu faktor risiko terjadinya gangguan sawar kulit. Namun, berbeda dengan CER yang tidak dapat memprediksi kondisi sawar kulit bayi.

Kata kunci: Aquaporin 3, Ceramide, Arteri Umbilikalis, Transepidermal Waterloss Sawar Kulit



PERNYATAAN KEASLIHAN DISERTASI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Evi Mustikawati Arifin

Nomor Pokok : C013182003

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, januari 2020

Yang menyatakan,

Evi Mustikawati Arifin

DAFTAR ISI

TIM PENILAI UJIAN	3
PERNYATAAN KEASLIHAN DISERTASI	4
DAFTAR GAMBAR	8
DAFTAR TABEL.....	9
DAFTAR SINGKATAN	10
ABSTRAK.....	11
ABSTRACT.....	12
BAB 1 PENDAHULUAN	13
1.1 Latar Belakang.....	13
1.2 Rumusan masalah.....	17
1.3 Tujuan Penelitian	18
1.3.1 Tujuan Umum.....	18
1.3.2 Tujuan Khusus.....	18
1.4 Manfaat Penelitian	18
1.4.1 Aspek Pengembangan keilmuan	18
1.4.2 Manfaat Aplikasi	19
1.5 Kebaruan Penelitian ini.....	19
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	20
2.1 Tinjauan Umum Kulit.....	20
2.2 Perkembangan Struktur Kulit Neonatus dan Bayi.....	24
2.3 Perkembangan Fisiologi Kulit Neonatus dan Bayi.....	27
2.4 Pembentukan dan Fungsi Sawar Kulit.....	30
2.5 Aquaporine (AQP) pada Manusia.....	34
2.5.1 Peran AQP pada Kulit	37
2.5.2 Peran AQP3 terhadap Fungsi Sawar Kulit.....	38
2.6 Ceramide (CER).....	43
2.6.1 Produksi CER Kulit.....	46

2.6.2	<i>Peran CER pada Sawar Kulit</i>	48
2.7	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).....	51
2.8	Kerangk Teori	56
2.9	Kerangka Konsep	50
2.10	Hipotesis Penelitian	51
2.11	Definisi Operasional.....	51
BAB 3 METODE PENELITIAN		53
3.1	Jenis dan Desain Penelitian	53
3.2	Lokasi dan Waktu Penelitian.....	53
3.3	Populasi dan Sampel.....	53
3.3.1	<i>Teknik Sampling</i>	54
1.4.1	<i>Kriteria inklusi dan eksklusi</i>	54
	<i>Kriteria inklusi</i>	54
	<i>Kriteria Eksklusi</i>	54
3.4	Protokol Kerja.....	55
3.4.1	<i>Alat dan bahan yang diperlukan</i>	55
3.4.2	<i>Prosedur Kerja</i>	56
3.5	Alur Penelitian	58
BAB 4 HASIL PENELITIAN		59
4.1	Deskripsi Subjek Penelitian	59
4.2	<i>Hasil Pemeriksaan TEWL</i>	60
4.3	<i>Hasil Pemeriksaan Kadar AQP3 dan CER</i>	61
4.4	<i>Analisa Uji Perbandingan kadar AQP3 dengan sawar kulit yang dinilai dengan kategori TEWL</i>	61
4.5	<i>Analisa Uji Perbandingan kadar CER dengan sawar kulit yang dinilai dengan kategori TEWL</i>	62
4.6	<i>Uji Keeratan Hubungan AQP3 dengan sawar Kulit yang dinilai dengan TEWL</i> 63	
4.7	<i>Uji Keeratan Hubungan CER dengan Sawar Kulit dinilai dengan TEWL</i> 65	
BAB 5 DISKUSI		67
5.1	Penilaian TEWL terhadap bayi umur kurang dari 1 Tahun	67
5.2	Perbandingan Sampel dan Penilaian AQP3 dan CER.....	70

5.3	Perbandingan Pemilihan Metode Pemeriksaan AQP3 dan CER ..	72
5.4	Penilaian AQP3 terhadap Sawar Kulit.....	73
5.5	Peran CER pada sawar kulit.....	76
5.6	Keterbatasan.....	80
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN.....		81
6.1	Kesimpulan	81
6.2	Saran	81
DAFTAR PUSTAKA		82
LAMPIRAN.....		90
Lampiran 1. Lembar <i>Informed Consent</i>		90
Lampiran 2. Lembar Rekomendasi Persetujuan Etik.....		92
Lampiran 3. Dokumentasi Pengukuran TEWL.....		93
Lampiran 4. Dokumentasi Pengukuran Kadar AQP3 dan CER		94

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur dan Anatomi Lapisan Kulit.....	21
Gambar 2. Struktur Kulit, epidermis, korneosit dan lipid kulit.....	25
Gambar 3. Periode waktu perkembangan kulit.....	27
Gambar 4. Sistem kompleks fungsi sawar kulit.....	30
Gambar 5. Struktur skema sawar kulit dan model “bata dan mortir”	32
Gambar 6. Kerusakan Barrier Kulit	33
Gambar 7. Komposisi Lipid Startum Korneum.....	34
Gambar 8. Aquaporine Channel.....	35
Gambar 9. Jenis AQP yang terekspresi pada berbagai jaringan.....	37
Gambar 10. AQPs pada kulit.....	38
Gambar 11. Mekanisme hidrasi kulit yang dimediasi AQP3	39
Gambar 12. Hubungan Transport Glycerol dengan AQP3 pada lapisan kulit	41
Gambar 13. Struktur CER	44
Gambar 14. Struktur lapisan Epidermis, stratum korneum dan lapisan lipid penghalang	45
Gambar 15. CER yang terdapat pada stratum korneum manusia.....	46
Gambar 16. Jalur De Novo	47
Gambar 17. Sintesis CER dalam Kulit.....	48
Gambar 18. Perbedaan kulit normal dan kulit kering yang disebabkan oleh defisiensi CER	51
Gambar 19. Tipe ELISA.....	54
Gambar 20. Kerangka Konsep	50
Gambar 21. Alur Penelitian.....	58

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Purposive Sampling	55
Tabel 2. Karakteristik Sampel Penelitian.....	60
Tabel 3. Hasil pemeriksaan Sawar kulit.....	60
Tabel 4. Kadar AQP3 dan CER Plasma Arteri Umblikalis	61
Tabel 5. Uji Perbandingan AQP3 sampel plasma arteri umbilikalis neonatus dan sawar kulit bayi pada usia 9-10 bulan berdasarkan kategori nilai TEWL	62
Tabel 6. Uji Perbandingan CER sampel plasma arteri umbilikalis neonatus dan sawar kulit bayi pada usia 9-10 bulan berdasarkan kategori nilai TEWL	63
Tabel 7. Uji Korelasi AQP3 dengan nilai TEWL.....	63
Tabel 8. Uji Risk Estimate AQP3 dengan nilai TEWL.....	64
Tabel 9. Uji Korelasi CER dengan nilai TEWL	65
Tabel 10. Uji Risk Estimate CER dengan nilai TEWL	65
Tabel 11. Perbandingan Nilai TEWL Bayi dengan Penelitian sebelumnya.....	70
Tabel 12. Perbandingan Penilaian AQP3 dengan Penelitian sebelumnya	75
Tabel 13. Perbandingan Penilaian CER dengan Penelitian sebelumnya.....	79

DAFTAR SINGKATAN

aTRA	: <i>all-trans retinoic acid</i>
AQP	: Aquaporine
AQP3	: Aquaporine- 5
CER	: Ceramide
CerS (1-6)	: Ceramide synthase (1-6)
DEJ	: <i>Dermal-Epidermal Junction cer</i>
DA	: Atopic Dermatitis
DES-1	: Desaturase-1 DMBA : dimethylbenz [a] anthracene
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immuniassay</i>
ELC	: <i>Loop ekstraseluler</i>
HPLC	: <i>High Pressure Liquid Chromatograh</i> y
HPMC	: <i>Human Peritoneal Mesothelial Cells</i>
IHC	: Immunoassay
ICL	: <i>Loop intraseluler</i>
LC-MS/MS	: <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i>
NMF	: <i>Natural Moisturizing Factor</i>
NPA	: <i>asparagine-proline-alanine</i>
qPCR	: Real Time PCR
TEWL	: <i>Transepidermal Water Loss</i>
TGF	: <i>Tumor Growth Factor</i>
SPTL	: <i>Serine palmitoyltransferase</i>

ABSTRAK

Pendahuluan : Stratum korneum berperan penting dalam fungsi pelindung sawar kulit yang diperantarai oleh lipid antar sel. Seramid (CER) merupakan komponen penting lipid ekstra seluler yang berfungsi menjaga permeabilitas air pada sawar. Gangguan permeabilitas yang disebabkan oleh CER dimediasi oleh salah satu protein yang berperan dalam transportasi air yang dikenal dengan nama aquaporine (AQP) *water channel*. AQP3 merupakan jenis AQP yang banyak diekspresikan di kulit dan telah diteliti berperan penting terhadap dehidrasi kulit dan metabolisme gliserol serta berhubungan dengan proliferasi keratinosit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan kadar AQP3 dan CER arteri umbilikalis neonatus normal terhadap sawar kulit bayi usia < 1 tahun.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian kohort prospektif dengan jumlah sampel penelitian sebanyak 44 sampel plasma arteri umbilikalis yang diukur kadar AQP3 dan CER menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunoassay* (ELISA). Kondisi sawar kulit dievaluasi dengan menilai *Trans-epidermal Water Loss* (TEWL) pada kulit bayi usia 9-10 bulan menggunakan alat Tewameter.

Hasil, didapatkan rerata kadar AQP3 dan CER masing-masing adalah 3.7977 ± 1.60 ng/mL dan 27.1980 ± 2.35 ng/mL. Kadar AQP3 rendah secara signifikan menunjukkan kemungkinan nilai TEWL terganggu 4.5 kali dibandingkan AQP3 normal (P-value = 0.000, <0.05). Berbeda dengan kadar CER yang tidak signifikan berhubungan dengan nilai TEWL, dimana jika nilai CER meningkat maka nilai TEWL cenderung meningkat (P-value = 0.366, <0.05).

Kesimpulan : ditemukan hubungan yang bermakna antara kadar AQP3 dengan kondisi sawar kulit yang dapat dijadikan sebagai kandidat biomarker dan salah satu faktor risiko terjadinya gangguan sawar kulit. Namun berbeda dengan CER yang tidak dapat memprediksi kondisi sawar kulit bayi.

Kata Kunci : Sawar kulit, Aquaporin (AQP), Aquaporin-3 (AQP3), Trans-epidermal water loss (TEWL), arteri umbilikalis neonatus

ABSTRACT

Introduction: Stratum corneum has a major role through its function as the skin protector, manifested as skin barrier, which facilitated by the intercellular lipid. Ceramide (CER) become an important part of the extracellular lipid through its function to keep water permeability of the barrier. Permeability impairment caused by the CER mediated by one of the proteins which role serves in water transportation, known as aquaporine (AQP) water channel. AQP3 is a type of AQP which abundantly expressed on the skin and has been studied for its principal function for skin dehydration dan glycerol metabolism and related with keratinocyte proliferation. This study aims to find the relation between AQP3 rate and CER of normal neonatal umbilical artery to an infant's skin barrier aged under one year old.

Method: This study is a cohort prospective research which included 44 samples of plasma from umbilical artery which AQP3 rate and CER measured by Enzyme-Linked Immunoassay (ELISA) method. The skin barrier state evaluated by calculating the value of Trans Epidermal Water Loss (TEWL) from the skin of 9-10 months old infant through Tewameter instrument.

Result: The mean values of AQP3 rate and CER were 3.7977 ± 1.60 ng/mL and 27.1980 ± 2.35 ng/mL respectively. The low AQP3 rate significantly showed the possibility of TEWL value impaired 4.5 times compared to normal AQP3 (P-value = 0.000, <0.05). It was different compared to CER rate which significantly not related with the value of TEWL, whereas the increasement of CER supposed to be followed by the TEWL value considerably (P-value = 0.366, <0.05).

Conclusion: The rate of AQP3 and the skin barrier's state that may be used as a reference for biomarker candidate and one of the risk factors of skin barrier's impairment. It is contrary to the CER that is suggested not sufficient enough to be a risk factor of skin damage.

Key Word : Skin barrier, Aquaporine (AQP), Aquaporine3 (AQP3), Trans-epidermal water loss (TEWL), Neonatal umbilical artery

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Epidermis merupakan lapisan terluar dari kulit manusia yang berfungsi sebagai sawar untuk mengontrol pertukaran air dan mencegah hilangnya air, yang berperan penting untuk homeostatis pada fungsi fisiologi kulit (Verdier-Sévrain and Bonté, 2007). Sawar kulit sangat penting dalam hal pertukaran air dan gas selama kehidupan janin dan mengalami perubahan adaptasi yang cepat saat lahir, diikuti oleh pematangan progresif, pertahanan terhadap paparan berlebih zat berbahaya yang dapat menyebabkan iritasi atau alergen, dan memungkinkan implantasi mikroflora normal. Pemeliharaan yang optimal dari struktur dan fungsi sawar kulit sangat penting untuk perkembangan anak yang sehat setelah dilahirkan (Visscher *et al.*, 2015).

Disfungsi atau gangguan sawar kulit pada neonatus dan bayi dapat sangat merugikan atau mematikan, seperti yang ditunjukkan pada defek epidermal genetik yang parah. Dalam konteks ini, adaptasi cepat yang diatur dengan baik dari lingkungan cair ke gas tidak sepenuhnya dipahami. Stratum korneum menyediakan sawar udara-cair, tautan ketat (*tight junction*) pada lapisan granular menyediakan sawar cair-cair, Aquaporin (AQP) mewakili sistem pori air selektif untuk transpor air-gliserol serta pertukaran gas, dan sel Langerhans sebagai sawar imunologi (Yoshida *et al.*, 2013). Pembentukan mantel asam sangat penting untuk interaksi yang tepat antara kulit dan simbiosis mikroba. Suhu dan pH mengatur aktivitas enzim utama yang bertanggung jawab atas integritas stratum korneum (Taïeb, 2018).

Permeabilitas sawar kulit dapat dinilai secara non-invasif dan sederhana dengan perangkat mini dengan prinsip mengukur kehilangan air transepidermal (TEWL). Menurut beberapa penelitian yang telah dilakukan kehilangan air lebih cepat pada kondisi sawar kulit yang rusak atau prematur secara fungsional (Rawlings, 2010). TEWL adalah jumlah air yang menguap secara pasif melalui kulit ke lingkungan luar yang disebabkan oleh tekanan uap air pada kedua sisi sawar kulit (Alexander *et al.*, 2018).

Nilai normal TEWL dan ambang batas yang mungkin menunjukkan relevansi patologis masih menjadi perdebatan. Nilai TEWL yang tinggi jelas berhubungan dengan disfungsi sawar kulit, sedangkan TEWL yang rendah dianggap sebagai indikator sawar kulit yang normal (Boer *et al.*, 2016). Nilai TEWL yang digunakan berdasarkan *Research and Development Department, Courage & Khazaka Electronics GmbH*, Koln, Jerman, mengkategorikan menjadi lima, yaitu: 0 - <10 g/m² /h (kondisi kulit sangat sehat), 10 - <15 g/m² /h (kondisi kulit sehat), 15 - <25 g/m² /h (kondisi kulit normal), 25 - <30 g/m² /h (kondisi batas) dan >30 g/m² /h (kondisi kulit kritis).

Sawar kulit terutama diperankan oleh stratum korneum sel epidermis yang berfungsi antara lain mempertahankan kadar air dan mengatur kehilangan air melalui epidermis (Trisnowati and Soebono, 2015). Kadar air pada stratum korneum berpengaruh pada penampilan dan sifat fisik kulit. Terdapat beberapa faktor yang mengontrol kadar air stratum korneum, yaitu kelembaban eksternal, komposisi lipid, protein dan konsentrasi osmolaritas penahan air atau faktor pelembab alami (*natural moisturizing factor/NMF*) (Darmawan and Wijayadi,

2015). Faktor penting lain yang berperan dalam mempertahankan kadar air atau hidrasi kulit adalah adanya peranan AQP (Hara-Chikuma and Verkman, 2008).

AQP adalah sekelompok kecil protein, hidrofobik, protein membran integral yang berfungsi terutama sebagai pori-pori air selektif, memfasilitasi transportasi air yang secara osmotik melintasi membran plasma sel. Setidaknya ada 13 AQP mamalia (AQP0 - AQP12), yang telah dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan permeabilitasnya. AQP-1, 2, 4, 5, dan 8 berfungsi sebagai transporter air-selektif; AQP-3, 7, 9, dan 10, disebut "*aquaglyceroporins*", berfungsi sebagai transporter air serta gliserol, permeabel terhadap air serta zat terlarut kecil, seperti gliserol dan urea (Hara-Chikuma and Verkman, 2005). AQP bekerja sejak dalam kandungan, mengangkut cairan dari ibu ke janin melewati membran plasenta melalui jalur transelular dan paraseluler (Boury-Jamot *et al.*, 2009; William R Swindell *et al.*, 2014).

Beberapa jenis AQP telah diteliti memiliki peran terhadap kulit, yang didistribusikan ke epidermis (AQP 1, 3, 7 dan 10), dermis (AQP1, 3 dan 5), hipodermis (AQP7) (Patel R *et al.*, 2017). Aquaporine-3 (AQP3) merupakan kelompok *aquaglyceroporins* yang diteliti terbukti memiliki ekspresi berlimpah pada kulit, berperan dalam hidrasi kulit, fungsi sawar permeabilitas air epidermis (Verkman, 2000, 2013; Hara, Ma and Verkman, 2002; Hara-Chikuma and Verkman, 2008). Metabolisme gliserol dan proliferasi serta migrasi membran sel plasma pada keratinosit lapisan basal epidermis kulit normal. Abnormalitas AQP3 dapat menimbulkan berbagai masalah kulit (Yulianti *et al.*, 2015; Bollag *et al.*, 2020). Selain di kulit juga ditemukan terekspresi dalam eritrosit (Roudier *et al.*,

1998).

Transpor gliserol oleh AQP3 terlibat dalam metabolisme lipid di kulit. Lipid interselular mengontrol permeabilitas sawar yang tersusun menjadi lapisan lamelar yang terdiri dari ceramide (CER), asam lemak bebas, dan kolesterol (Cleary, 2013; Meckfessel and Brandt, 2014). CER merupakan komponen lipid utama dari stratum korneum dan merupakan *N-acylsphingosines* yang termasuk dalam kelompok lipid kompleks, dikenal dengan nama *sphingolipids*. CER mengatur proses proliferasi, diferensiasi, dan apoptosis (Vavrova, Kovačik and Opalka, 2017).

CER berkontribusi pada lipid interselular bilayer, berikatan dengan korneosit dalam meregulasi kemampuan epidermis mengikat air dan mencegah TEWL (Jang and Lee, 2016). Perubahan struktur lipid pada stratum korneum dapat menyebabkan disfungsi sawar kulit dengan berbagai manifestasi kelainan kulit (Bollag *et al.*, 2020). Penelitian telah menunjukkan bahwa tingkat CER epidermal berkurang pada penyakit kulit seperti dermatitis atopik, psoriasis dan dengan bertambahnya usia, mengakibatkan kerusakan sawar kulit (Tessema *et al.*, 2017)

Berdasarkan data di atas maka dapat diasumsikan bahwa disfungsi sawar kulit sebagai pintu masuk terjadinya berbagai kelainan kulit terutama bagi neonatus dan bayi, sehingga perlu lebih memahami perkembangan struktur dan fungsi sawar kulit neonatus dan bayi pada tingkat molekuler dan seluler untuk mencegah kelainan kulit sejak dini, menjaga selama masa perkembangan pematangan kulit serta menentukan pedoman penatalaksanaan pemeliharaan

integritas kulit yang sehat dan pengobatan kulit yang sakit untuk mencegah komplikasi.

Pada penelitian ini, metode penilaian yang digunakan untuk mengukur kadar AQP3 dan CER adalah metode *Enzyme Linked Immunoassay* (ELISA). Beberapa studi sebelumnya yang melakukan penilaian AQP3 menggunakan metode *real time* PCR untuk menilai pada level *messenger* RNA (mRNA) dan *western blot* untuk menilai kadar protein, sedangkan penilaian CER menggunakan metode *Liquid Chromatography* dengan *Mass Spectrometer* (LC-MS, *Immunohistochemical and immunofluorescence staining* (Nomoto *et al.*, 2015), metode *Stopped-Flow Light Scattering* (SFLS) (Laviad *et al.*, 2008).

Pemilihan ELISA sebagai metode uji didasarkan pada tujuan penelitian ini yaitu mengukur kadar protein AQP3 maupun CER secara kuantitatif (jumlah), tidak melalui ekspresi gen mRNA atau ekspresi protein. Menganalisa jumlah protein, menurut peneliti jauh lebih bermanfaat dan sederhana bagi klinisi

1.2 Rumusan masalah

Fungsi sawar kulit dapat dinilai dari beberapa aspek, antara lain dengan melakukan pengukuran nilai TEWL pada kulit menggunakan alat Tewameter serta mengukur biomarker kadar protein yaitu AQP3 dan CER. Berdasarkan uraian diatas maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

- 1.2.1 Apakah terdapat hubungan kadar AQP3 arteri umbilikalis neonatus dengan sawar kulit bayi < 1 tahun yang dinilai menggunakan Tewameter.
- 1.2.2 Apakah terdapat hubungan kadar CER arteri umbilikalis neonatus dengan sawar kulit bayi < 1 tahun yang dinilai menggunakan Tewameter.

1.2.3 Apakah AQP3 pada arteri umbilikalis neonatus dapat memprediksi kondisi sawar kulit bayi < 1 tahun.

1.2.4 Apakah CER pada arteri umbilikalis neonatus dapat memprediksi kondisi sawar kulit bayi < 1 tahun.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan kadar AQP3 dan CER arteri umbilikalis neonatus normal terhadap sawar kulit bayi < 1 tahun

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui hubungan kadar AQP3 sampel arteri umbilikalis neonatus normal dengan sawar kulit yang dinilai menggunakan tewameter.
2. Mengevaluasi kadar AQP3 sebagai faktor prediktor terhadap gangguan sawar kulit pada bayi usia < 1 tahun.
3. Mengetahui hubungan kadar CER sampel arteri umbilikalis neonatus normal dengan sawar kulit yang dinilai menggunakan tewameter.
4. Mengevaluasi kadar CER sebagai faktor prediktor terhadap gangguan sawar kulit pada bayi usia < 1 tahun

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Aspek Pengembangan keilmuan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah di bidang dermatologi khususnya dermatologi anak, terkait hubungan AQP3 dan CER arteri umbilikalis neonatus normal terhadap sawar kulit bayi. Dijadikan sebagai data awal pengembangan produk perawatan kulit bayi dalam penentuan pedoman pemilihan model terapi terhadap berbagai kelainan kulit sejak dini

1.4.2 Manfaat Aplikasi

Dengan diketahuinya hubungan kadar AQP3 dan CER arteri umbilikalis neonatus dengan sawar kulit bayi usia < 1 tahun, dapat sebagai kandidat biomarker, dan pengetahuan dasar dalam menentukan pendekatan protektif sejak dini terhadap masalah kulit yang banyak dialami oleh bayi, serta menjaga integritas kulit tetap sehat selama masa perkembangan.

1.5 Kebaruan Penelitian ini :

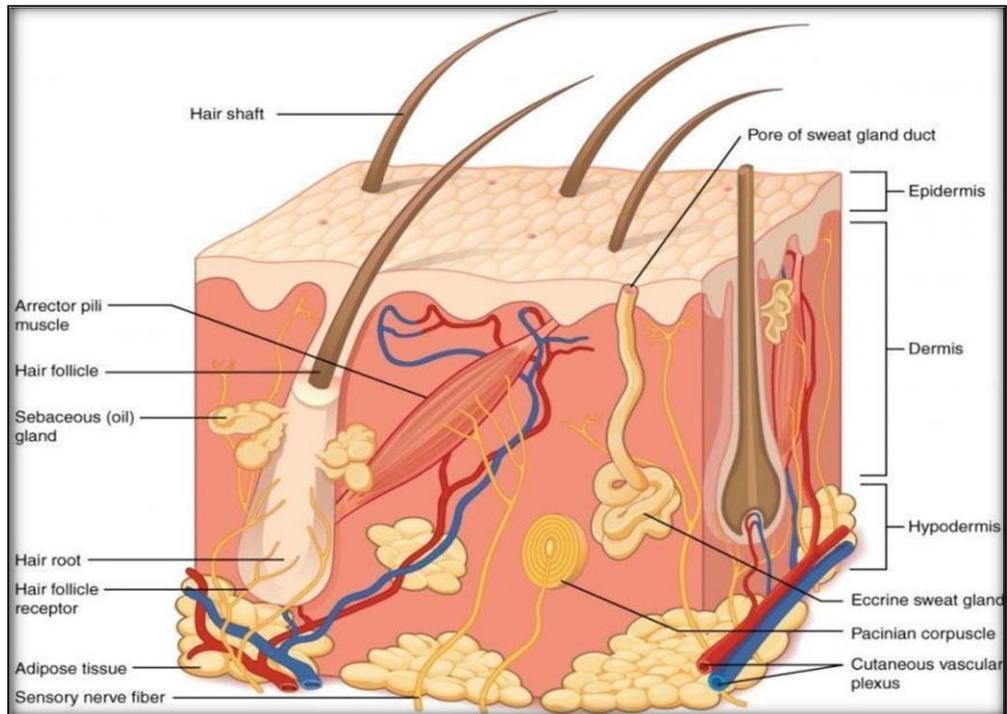
1. Penelitian pemeriksaan kadar AQP3 dan CER menggunakan arteri umbilikalis.
2. Penelitian korelasi antara kadar AQP3 dan CER pada sampel arteri umbilikalis neonatus sehat dengan TEWL bayi usia <1 tahun.
3. Pemeriksaan penilaian kadar AQP3 dan CER menggunakan metode ELISA
4. Penelitian biomarker dan faktor risiko antara AQP3 dan CER terhadap kondisi kulit bayi < 1 tahun

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Kulit

Kulit atau *cutis* merupakan organ tubuh paling besar yang melapisi seluruh bagian tubuh, membungkus otot dan organ-organ yang ada di dalamnya. Kulit memiliki fungsi melindungi bagian tubuh dari berbagai macam gangguan dan rangsangan ultraviolet (Sinulingga, Budiastuti and Widodo, 2018). Fungsi perlindungan ini terjadi melalui sejumlah mekanisme biologis, seperti pembentukan lapisan tanduk secara terus menerus (keratinisasi dan deskuamasi), respirasi dan pengaturan suhu tubuh, produksi sebum dan keringat serta pembentukan pigmen melanin untuk melindungi kulit dari bahaya sinar ultra (Yousef H, Alhajj M, 2020).

Pembagian kulit secara garis besar terdiri dari tiga lapisan yaitu lapisan epidermis, dermis, dan hipodermis, yang memiliki fungsi dan karakteristik yang berbeda-beda (Sadick and Krueger, 2014).



Gambar 1. Struktur dan Anatomi Lapisan Kulit

Kulit terdiri dari dua lapisan utama: epidermis, terbuat dari sel epitel yang rapat, dan dermis, terbuat dari jaringan ikat padat dan tidak teratur yang menampung pembuluh darah, folikel rambut, kelenjar ke kelenjar keringat, dan struktur lainnya. Di bawah dermis terletak hipodermis, yang terdiri dari jaringan ikat dan lemak yang longgar.

Sumber : *Am J Clin Dermatol* 2003; 4 (2)

Lapisan epidermis merupakan lapisan paling tipis dan terluar kulit, didefinisikan sebagai epitel skuamosa berlapis. Sel-sel utama epidermis terdiri atas 95% keratinosit yang mensintesis protein keratin dan 5% melanosit yang mengandung melamin, sel Langerhans untuk sistem imunitas tubuh dan sel merkel untuk mendeteksi tekanan pada kulit (Lawton, 2019). Lapisan epidermis dibagi menjadi empat lapisan yaitu sel basale, spinosum, granulosum dan korneum (Yousef H, Alhaji M, 2020).

Lapisan Sel basale atau stratum germinativum merupakan lapisan paling bawah epidermis. Bentuk selnya kuboid, lapisan tunggal terdiri dari sel-sel kolumnar tinggi yang terus menerus mengalami pembelahan sel dan membantu

membentuk keratinosit baru yang menggantikan sel-sel yang hilang dari lapisan korneum. Lapisan ini mengandung banyak keratinosit, terdapat sel melanosit untuk mensintesis melanin dan sel merkel untuk sensasi (Yousef H, Alhadj M, 2020) .

Lapisan Sel Prickle / *Stratum Malpighi* (*Stratum Spinosum*), merupakan lapisan setelah sel basal, berbentuk polihedral dengan inti bulat merupakan hasil pembelahan dari sel basal yang bergerak ke atas dan saling dihubungkan dengan desmosom. Diantara sel-sel spinosum terdapat sel Langerhans berperan dalam reaksi kekebalan kulit (Lawton, 2019).

Lapisan Keratohialin (*Stratum Granulosum*), merupakan lapisan dengan butiran / granula keratohialin di dalam sel, berbentuk datar dan tidak ada inti. Granula keratohialin mengandung profilagrin dan akan berubah menjadi filagrin dalam dua sampai tiga hari. Filagrin terdegradasi menjadi molekul yang berkontribusi terhadap hidrasi stratum korneum dan membantu penyerapan radiasi sinar ultraviolet. *Stratum granulosum* terdiri dari dua atau tiga lapisan sel-sel gepeng dengan sitoplasma berbutir kasar, terdiri dari keratohialin yang tampak sangat jelas pada telapak tangan dan kaki. Keratohialin sangat basophil dan tidak teratur dalam bentuk dan ukuran (Yousef H, Alhadj M, 2020).

Lapisan Sel Tanduk (*Stratum korneum*), merupakan lapisan paling superfisial dari epidermis yang terdiri dari beberapa lapisan sel-sel gepeng yang mati, tidak berinti dan protoplasmanya telah berubah menjadi keratin (zat tanduk). Pada lapisan ini, keratinosit yang sudah matang akan mengalami proses keratinisasi yang dikenal dengan sebagai korneosit. Lapisan korneosit ini

memberikan perlindungan mekanik pada kulit dan sebagai sawar untuk mencegah kehilangan air pada kulit atau mencegah terjadi *transepidermal water loss* (TEWL) serta mencegah masuknya bakteri (Yousef H, Alhadj M, 2020).

Dermis merupakan lapisan yang terletak di antara lapisan epidermis dan subkutan. Lapisan ini lebih tebal daripada lapisan epidermis. Ketebalan lapisan epidermis bervariasi tergantung usia. Semakin tua, ketebalan dan kelembaban kulit akan menurun. Saraf, pembuluh darah, dan kelenjar keringat ada pada lapisan ini. Sel penyusun utama lapisan dermis adalah fibroblas yang mensintesis kolagen, elastin dan glikosaminoglikan. Selain itu, terdapat sel dendrosit, sel mast, makrofag, dan limfosit (Lawton, 2019).

Zona membran basalis yang membentuk perbatasan antara epidermis dan dermis disebut *dermal-epidermal junction* (DEJ). Lapisan ini berfungsi untuk melekatkan lapisan epidermis dan dermis, mempertahankan terhadap kerusakan dari luar, serta mempertahankan integritas kulit (Keng Wooi Ng and Wing Man Lau, 2015).

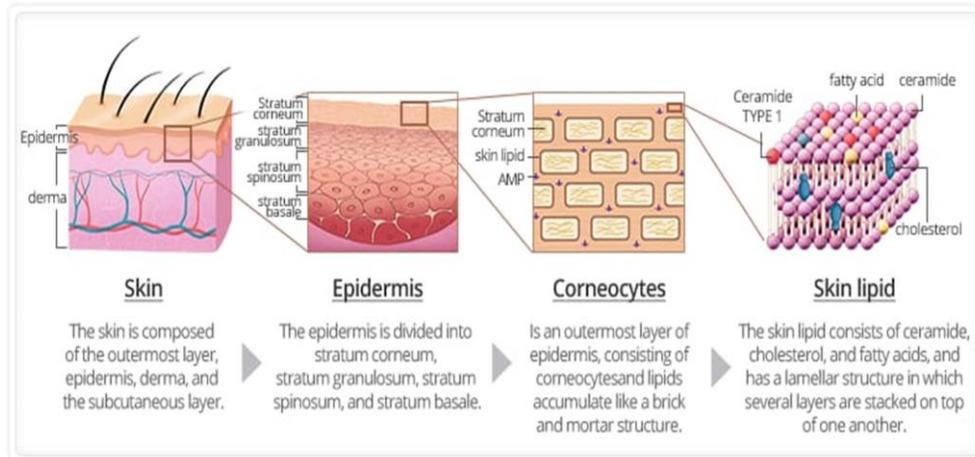
Lapisan dermis terbagi menjadi pars papilare dan pars retikulare. Pars papilare yaitu bagian yang menonjol ke epidermis berisi ujung saraf dan pembuluh darah. Pars retikulare yaitu bagian dibawah pars papilare yang menonjol ke arah subkutan yang terdiri atas serabut kolagen, elastin dan retikulin (Yousef H, Alhadj M, 2020).

Lapisan hipodermis atau subkutan merupakan lapisan paling bawah terdiri atas jaringan ikat longgar, berisi sel-sel lemak didalamnya. Fungsi dari lapisan hipodermis yaitu membantu melindungi tubuh dari benturan-benturan fisik

dan mengatur panas tubuh (Hans Schaefer, 2005). Jumlah lemak pada lapisan ini akan meningkat apabila makan berlebihan. Jika tubuh memerlukan energi ekstra maka lapisan ini akan memberikan energi dengan cara memecah simpanan lemaknya (Partogi, 2008; Yousef H, Alhajj M, 2020)

2.2 Perkembangan Struktur Kulit Neonatus dan Bayi

Neonatus merupakan periode kehidupan pertama ekstrasuteri hingga usia 28 hari (Setiayani, Sukesni and Esyuananik, 2016) . Salah satu bagian tubuh yang berperan pada periode transisi dari lingkungan intrauterin menjadi ekstrasuterin yaitu kulit. Maturasi kulit dimulai saat embriogenesis melalui sinyal interselular dan intraselular antara lapisan jaringan yang berbeda. Perkembangan sawar kulit meningkat seiring meningkatnya usia kehamilan dan mengalami pematangan epidermis (basal, spinosum, granula dan stratum korneum) pada usai kemamilan di 34 minggu (Oranges, Dini and Romanelli, 2015), stratum korneum akan mencapai kematangan fungsional pada minggu ke-37 kehamilan dan selanjutnya akan matang ekstrasuterin pada tahun pertama kehidupan (Boiten *et al.*, 2018a). Epidermis terdiri dari keratin yang terbungkus dalam *cross-linked protein* dan dikelilingi oleh matriks lipid. Transglutaminase merupakan enzim yang bertanggung jawab untuk *cross-linking* antara protein dan memiliki peranan utama dalam pembentukan cornified envelope. Gangguan selama pembentukan *cornified envelope* berhubungan dengan kelainan permeabilitas sawar kulit (Candi, Schmidt and Melino, 2005).

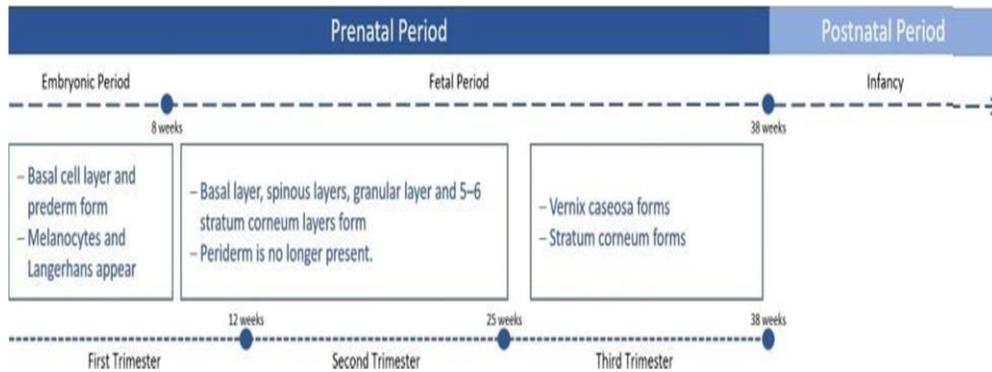


Gambar 2. Struktur Kulit, epidermis, korneosit dan lipid kulit
Sumber : Int. J.Mol.Sci. 2020. 21,2867

Penelitian yang dilakukan pada tahun 1983 oleh **Janet A, Fairly** yang membuktikan bahwa pada neonatus prematur mengalami penurunan ketebalan epidermis dan stratum korneum dibandingkan dengan orang dewasa (Oranges, Dini and Romanelli, 2015). Neonatus lahir cukup bulan memiliki *well-developed epidermis* dengan ketebalan menyerupai kulit orang dewasa, sedangkan penelitian lain yang mengamati mikrostruktur kulit bayi secara *in vivo* dibandingkan dengan kulit orang dewasa, dimana epidermis dan stratum korneum bayi lebih tipis dibandingkan dengan orang dewasa serta lapisan korneosit dan ukuran sel granula lebih kecil (Stamatas *et al.*, 2010). Homeostasis kulit tergantung pada kohesi stabil antara epidermis dan dermis, yang terhubung dengan erat melalui tautan dermoepidermal. Kompleks penyambung dalam zona taut dermis-epidermis berperan pada stabilitas kohesi dermis-epidermis dan terdiri dari hemidesmosom keratinosit basalis, filamen penyambung yang menghubungkan hemidesmosom ke membran basalis, dan fibril penyambung yang

menghubungkan membran basalis dengan dermis yang ada di bawahnya (Oranges, Dini and Romanelli, 2015). Selama maturasi kulit, perlekatan sel dan selularitas epidermis meningkat, dan tautan dermis-epidermis menjadi berundulasi (Schachner *et al.*, 2020). Pada neonatus prematur, *papillary* dermis yang berada di bawah *dermoepidermis junction* mengalami edema, fibril kolagen lebih kecil dibandingkan yang terdapat pada neonatus lahir cukup bulan atau orang dewasa, dan struktur penahan berkurang, dengan jarak antara titik penghubung lebih lebar (Oranges, Dini and Romanelli, 2015).

Pada trimester terakhir secara alami terbentuk *vernix caseosa* ketika pembentukan stratum korneum dan diferensiasi terminal epidermis yang akan menutupi permukaan kulit janin serta berfungsi sebagai sawar kulit / pelindung kulit yang belum matang (Pickens *et al.*, 2000; Rissmann *et al.*, 2006). *Vernix caseosa* sebagian besar terdiri dari air yang berperan sebagai pelembab alami serta lipid yang terdiri dari kolesterol (52%), asam lemak bebas (28%) dan CER (25%) (Boiten *et al.*, 2018a). Lapisan *vernix caseosa* sebelum lepas yaitu sekitar 6 jam sampai 5 hari pasca kelahiran akan meningkatkan hidrasi, kekenyalan dan plastisitas stratum korneum yang berfungsi untuk meningkatkan pH permukaan kulit, menghambat pertumbuhan bakteri patologis, dan memfasilitasi pertumbuhan komensal (Oranges, Dini and Romanelli, 2015; Boiten *et al.*, 2018b).



Gambar 3. Periode waktu perkembangan kulit

Sumber : Journal of Drugs in Dermatology August 2020 Volume 19 Issue 8

2.3 Perkembangan Fisiologi Kulit Neonatus dan Bayi

Fungsi kulit pada neontaus sebagai termoregulasi, sawar terhadap toxin dan infeksi, sekresi air dan elektrolit, penyimpanan lemak, dan sensasi taktil. Sawar kulit merupakan pelindung utama tubuh dari mikroba, zat kimia, fisik, dan merupakan *immun barrier*. Selain sebagai sawar dari lingkungan luar, sawar kulit juga akan mengatur permeabilitas air. Sawar kulit terutama diperankan oleh startum korneum yang merupakan sawar pemeabilitas epidermal dan matriks ekstraselular yang terdiri dari korneosit dan bersifat *lipid-depleted* (Moore and Rawlings, 2017).

Saat bayi baru lahir permukaan kulit lebih kasar dan lebih kering dibandingkan anak yang lebih dewasa. Selama 30 hari pertama kehidupan, kehalusan kulit berhubungan dengan peningkatan hidrasi kulit. Hidrasi stratum korneum meningkat dan melebihi tingkat hidrasi pada orang dewasa pada 3 bulan berikutnya (Hoeger and Enzmann, 2002). Pematangan fungsional kelenjar keringat merupakan mekanisme utama dalam peningkatan hidrasi kulit setelah kelahiran. Stratum korneum bayi berumur 3 - 12 bulan lebih terhidrasi secara

signifikan bila dibandingkan dengan kulit orang dewasa. Perbedaan hidrasi kulit antara bayi dan orang dewasa lebih jelas terlihat pada permukaan kulit. Defisiensi fungsi stratum korneum berakibat pada berkurangnya kapasitas kulit neonatus untuk mempertahankan air dibandingkan kulit orang dewasa (Oranges, Dini and Romanelli, 2015).

Kulit bayi memiliki tingkat absorpsi dan desorpsi air yang lebih tinggi dibandingkan orang dewasa. Terdapat keseimbangan antara keluar dan masuknya cairan di stratum korneum. Masuknya cairan endogen berasal dari proses difusi dari dermis ke permukaan kulit dan juga sekresi kelenjar keringat (Partogi, 2008). Pemasukan secara eksogen meningkat ketika kelembaban relatif tinggi. Keseimbangan terjadi bila kelembaban relatif lingkungan ialah 85%, dibawah konsentrasi tersebut terjadi *transepidermal water loss* (TEWL) dan diatas konsentrasi tersebut terjadi sebaliknya (Gorzelanny *et al.*, 2020).

Mekanisme utama yang digunakan oleh stratum korneum untuk menjaga hidrasi kulit adalah lipid pipih antar sel, korneodesmosom yang terikat, korneosit hidrofob CER dan NMF. Konsentrasi NMF pada bayi lebih rendah daripada orang dewasa, namun pada 2 minggu awal kehidupan jumlah NMF lebih tinggi. Tingkat NMF yang tinggi di hari-hari awal kehidupan dapat merupakan mekanisme kompensasi untuk menyeimbangkan pH alkali dan hidrasi kulit selama masa postnatal (Rawlings and Matts, 2005). Tingkat pH kulit pada bayi lebih tinggi daripada kulit orang dewasa dengan nilai pH berkisar antara 5-5.5. Neonatus memiliki permukaan kulit yang basa berkisar antara 6.34-7.5, tergantung dari lokasi anatomi. Beberapa mekanisme memainkan peranan pada

pH basa kulit saat lahir, yang paling relevan adalah paparan terhadap cairan amniotik selama dalam kandungan. Lapisan asam merupakan mekanisme pertahanan kulit melawan infeksi yang mempengaruhi komposisi flora bakteri kulit. (Moore and Rawlings, 2017)

TEWL berhubungan secara signifikan dengan nilai absolut dari kehilangan air yang dinilai secara gravimetris. Perhitungan jumlah air yang menguap di permukaan kulit sebagai penanda fungsi sawar kulit tercapai (Kurniawan, 2012). Nilai TEWL lebih tinggi pada bayi prematur dibandingkan dengan bayi lahir cukup bulan, berkorelasi terbalik antara TEWL dengan umur kehamilan yang tercermin dari persamaan $TEWL = 4.17 + 64.76e$ (Giusti *et al.*, 2001). Sebagian besar penelitian mengenai TEWL menunjukkan bahwa neonatus lahir cukup bulan dan orang dewasa memiliki nilai TEWL yang sama sedangkan penelitian lainnya melaporkan nilai TEWL pada bayi yang lebih rendah atau lebih tinggi dibandingkan pada orang dewasa. Nilai TEWL yang tinggi segera setelah lahir dapat dikaitkan dengan adaptasi fungsional kulit terhadap lingkungan di luar rahim yang penuh gas dan kering. Terdapat pula variasi TEWL antar lokasi pengukuran (Fluhr *et al.*, 2012).

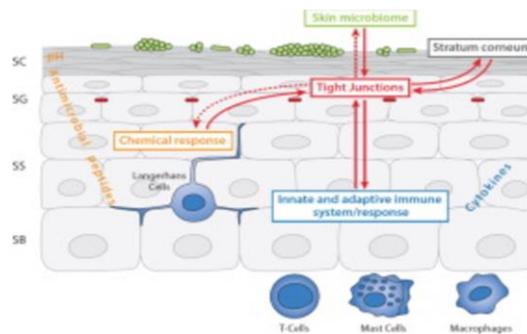
Neonatus memiliki nilai yang lebih tinggi pada lengan, telapak tangan, dan daerah inguinal dibandingkan dengan lokasi anatomi lainnya dan hal ini dapat berhubungan dengan berkeringat dan pronasi fleksural yang lebih dominan pada ekstremitas neonatus. Setelah minggu pertama kehidupan, nilai TEWL yang lebih tinggi terdapat pada daerah popok yang menandakan bahwa kelembaban yang tinggi akibat popok dapat menurunkan kemampuan sawar kulit (Yosipovitch *et*

al., 2000; Oranges, Dini and Romanelli, 2015).

Kehilangan cairan juga dihubungkan dengan berbagai keadaan misalnya cuaca berangin, suhu lingkungan yang tinggi maupun rendah, udara yang kering, penggunaan bahan yang mengandung surfaktan, bahan alkali (sabun), pelarut organik (contohnya eter, aseton, alokohol), enzim proteolitik dan lipolitik, proses penuaan, serta berbagai kelainan kulit (Partogi, 2008).

2.4 Pembentukan dan Fungsi Sawar Kulit

Sistem sawar kompleks merupakan suatu sistem untuk mencegah hilangnya air dan zat terlarut yang terdiri dari stratum korneum, *tight junction*, mikrobioma, sawar kimia dan sawar imunologis. Sawar ini bekerjasama, saling mempengaruhi, Memiliki tiga fungsi utama yaitu, membatasi kehilangan air pasif, membatasi penyerapan kimia lingkungan, dan mencegah infeksi mikroba melalui proses keratinisasi yang merupakan pembentukan keratinosit yang berdiferensiasi akhir. Sebagai lapisan terluar kulit, dengan ketebalan 10-20 m, stratum korneum merupakan mediator utama dari sawar permeabilitas epidermis, lebih 90% dari fungsi kulit (Darlenski, Kazandjieva and Tsankov, 2011)

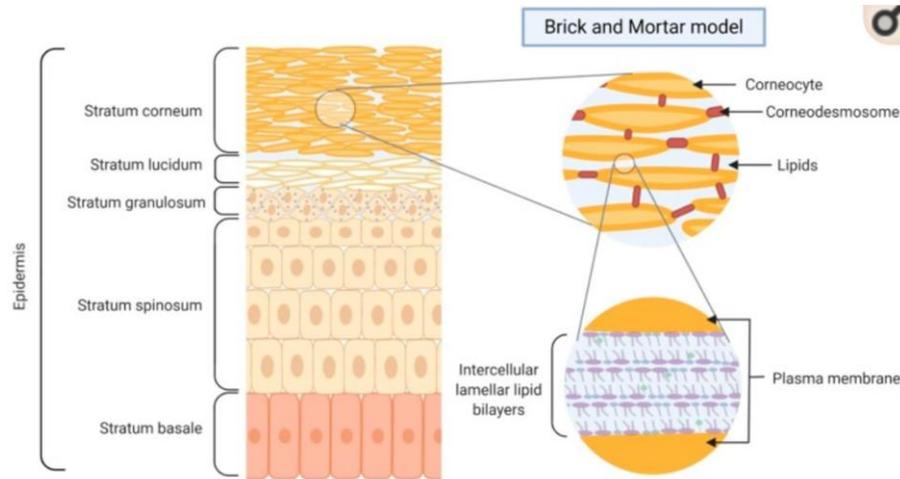


Gambar 4. Sistem kompleks fungsi sawar kulit

Sumber : Jurnal of controlled Release, Vol 242, 28 Nov 2016, p.105-118

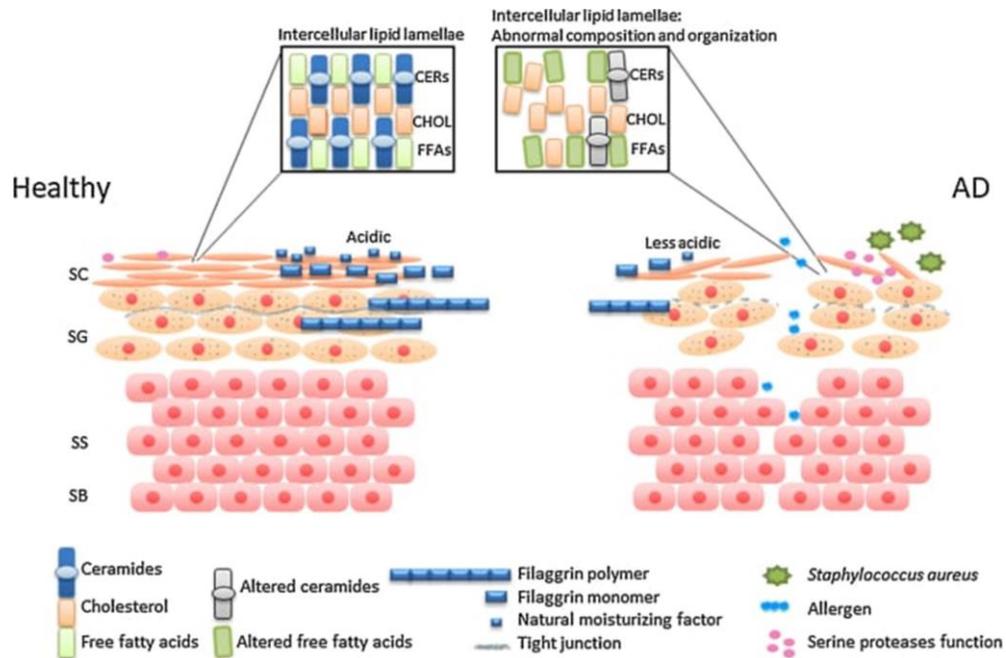
Fungsi pertahanan utama kulit adalah mempertahankan homeostasis dengan mencegah kehilangan air, ion, dan protein serum yang tidak terkontrol. Stratum korneum menggunakan serangkaian strategi yang beragam untuk mempertahankan integritas epidermis, termasuk reaksi enzimatik, kolonisasi bakteri komensal, sinyal imun, lipid dan peptida antimikroba, pH rendah, dan NMF. Kompleks stratum korneum terdiri dari korneosit dan matriks lipid interseluler (ceramide, kolesterol, dan asam lemak bebas), dengan kedua komponen yang berasal dari proses diferensiasi terminal keratinosit (Lee, 2006).

Stratum korneum (Gambar 1) dikenal dengan istilah "*bricks dan mortar*", di mana korneosit (batu bata) yang tertanam dalam matriks lipid antarsel (mortar). Korneosit bertanggung jawab untuk perlindungan terhadap cedera kimia dan mekanik, dengan matriks lipid menyediakan komponen penting dari sawar air. Sebagian besar resistensi mekanik oleh sawar epidermis adalah korneosit. Suatu selubung korneosit mengelilingi setiap korneosit; komponennya termasuk loricrin, involucrin, dan filaggrin. Di luar dan dalam korneosit terdapat selubung lipid korneosit, yang merupakan struktur lipid khusus, yang kaya protein sangat penting untuk pembentukan fungsi sawar kulit. Dengan demikian, fungsi sawar epidermis normal merupakan produk dari kualitas komponen bata dan mortarnya. (Yang et al., 2020)



Gambar 5. Struktur skema sawar kulit dan model “bata dan mortir”.
 Sumber: Int.J.Sci.2020,21,2867

Gangguan sawar kulit dapat disebabkan oleh penurunan CER dan gangguan pembentukan filagrin. Kerusakan sawar kulit meningkatkan sensitisasi melalui kulit dan aktivasi interleukin serta sitokin akibat paparan antigen dan rangsangan lingkungan (Trisnowati and Soebono, 2015). Kerusakan sawar kulit dapat dipengaruhi oleh banyak faktor yaitu pemakaian perawatan topikal yang tidak sesuai dengan kulit, kelainan genetik maupun karena adanya mekanisme tertentu yang menyebabkan lapisan penyusun sawar mengalami abnormal (Jang and Lee, 2016).



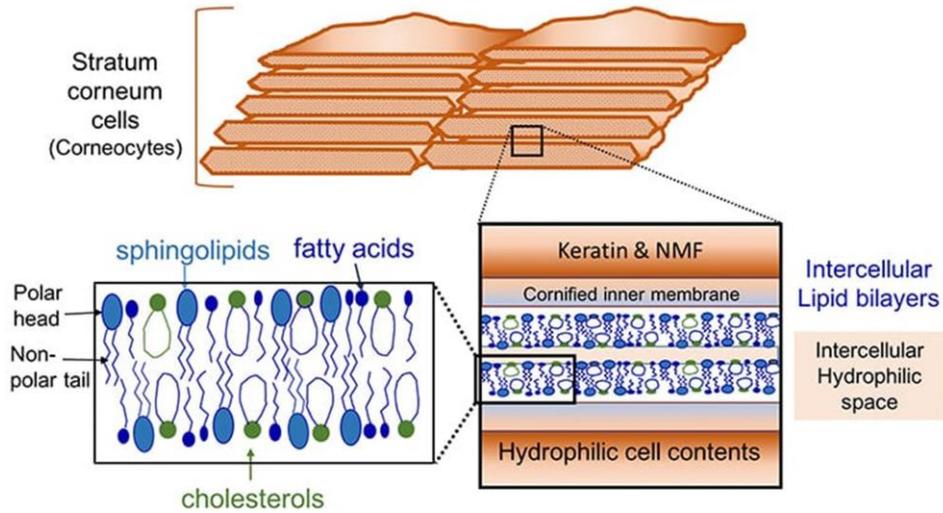
Gambar 6. Kerusakan Barrier Kulit

Sumber : Sumber : Journal of Drugs in Dermatology August 2020 Volume 19 Issue 8

Pada orang dewasa gangguan tersebut dapat menimbulkan berbagai macam penyakit kulit mulai dari kulit kering hingga penyakit kulit yang parah. Pada neonatus gangguan sawar kulit dapat menyebabkan kecacatan epidermal genetik maupun kematian (Taïeb, 2018).

Pada kulit yang sakit seperti pada psoriasis dan eksem (terdapat kelainan epidermis), sawar kulit melemah sehingga nilai TEWL meningkat 10 kali lebih besar dari normal. Stratum korneum terdiri dari sel- sel tak berinti yang banyak mengandung protein (profilaggrin, filaggrin dan garnul keratohyalin) dan ruang interseluler yang banyak mengandung lipid (CER, asam lemak bebas dan kolesterol) dan bahan pelembab alami yaitu NMF yang mempunyai kemampuan mengikat air sangat kuat. Di samping itu enzim –enzim yang ada di ruang interseluler juga dapat menyebabkan perubahan komposisi lipid interseluler

sehingga dapat mempengaruhi TEWL (Partogi, 2008).

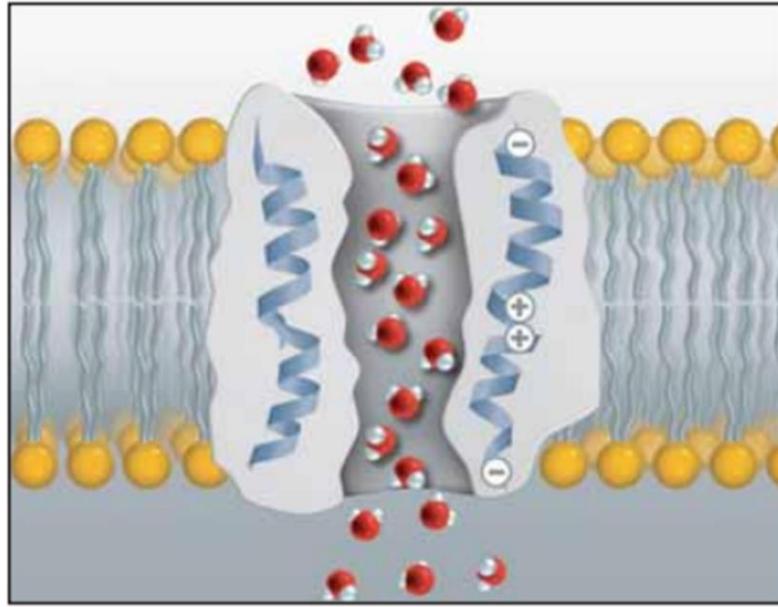


Gambar 7. Komposisi Lipid Startum Korneum

Sumber : Sumber : Journal of Drugs in Dermatology August 2020 Volume 19 Issue 8

2.5 Aquaporine (AQP) pada Manusia

AQP merupakan kelompok protein transmembran yang dikenal dengan *water channels* bekerja sebagai regulator transportasi air antar sel (Zannetti *et al.*, 2020). AQP pertama kali ditemukan oleh Peter Agre pada tahun 1988 (Agre, 2006). AQP menyebabkan air mengalir lebih cepat ke dalam dan ke luar sel dibandingkan berdifusi melalui lapisan ganda lipid. Peranan AQP telah diteliti pada kondisi fisiologis maupun dalam kondisi patologis dan hasilnya menunjukkan bahwa AQP berperan dalam transportasi air, gas dan molekul kecil (urea dan glycerol) untuk memperbaiki homeostatis sel (Verkman, 2013; Day *et al.*, 2014).



Gambar 8. Aquaporine Channel

Struktur saluran aquaporin yang terikat membran sel yang terdiri dari enam heliks transmembran. Lebar pori pada titik tersempitnya, bersama-sama dengan residu bermuatan pada -heliks, hanya memungkinkan difusi melalui saluran molekul kecil yang tidak bermuatan seperti air dan gliserol sepanjang gradien osmotik atau konsentrasi.

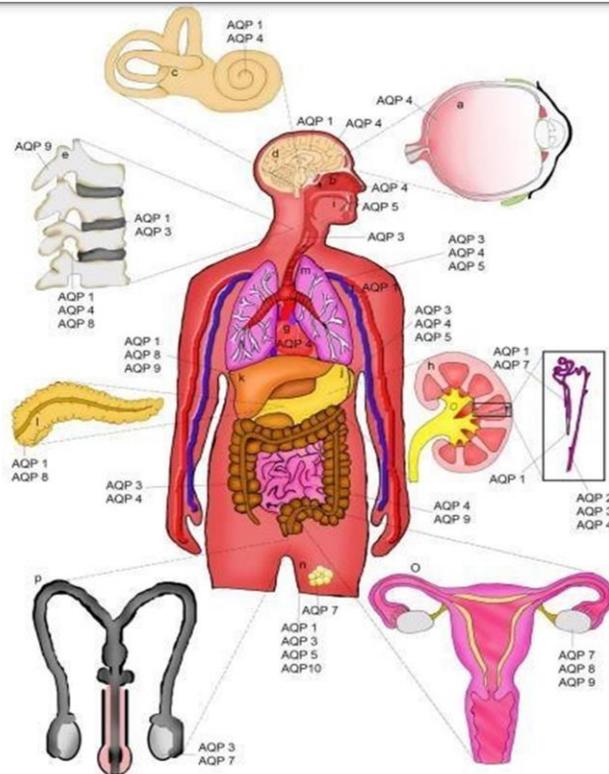
Sumber : Biol. Cell (2005) 97, 479–486

Secara fungsional AQP berbentuk homotetramer dan masing-masing monomer AQP terdiri dari enam transmembrane α -helices yang terkoneksi dengan loop intraseluler (ICL) dan ekstraseluler (ECL) yang terdapat pada sitoplasma. Dua loop hidrofobik mengandung motif NPA (*asparagine-proline-alanine*) yang membentuk laras yang mengelilingi daerah seperti pori pusat yang mengandung kepadatan protein tambahan (Agre, 2006; Kurniadi, 2012). Air dapat melewati membran sel melalui difusi sederhana karena merupakan molekul kecil, dan melalui osmosis, dalam kasus di mana konsentrasi air di luar sel lebih besar daripada di dalam. Air adalah molekul polar, maka proses difusi sederhana ini relatif lambat, dan sebagian besar air melewati AQP (Verkman, 2013).

Penemuan kelompok AQP sebagai jalur transportasi telah menambah

pemahaman bagaimana air dapat melintasi sel-sel epitel terutama pada ginjal. Mekanisme yang melibatkan pengaturan permeabilitas air, khususnya duktus koligentes telah meningkat sangat pesat sejak AQP2 diidentifikasi dan dikarakterisasi pada tahun 1993. Salah satu penemuan yang banyak dilihat pada protein ini adalah pengetahuan bahwa perubahan ini merupakan suatu jalan untuk mengatur efek diuretik akut dari vasopressin (VP). Selanjutnya beberapa perubahan menjadi penyebab patologis yang berarti pada beberapa kelainan klinis terkait keseimbangan cairan (Agre, 2006).

Terdapat 13 AQP yang ditemukan di manusia, hewan dan tumbuhan dan di klasifikasikan menjadi 3 kelompok berdasarkan kemampuan transport yaitu *Classic-AQP*, *aquaglyceroporins* dan AQP yang belum dikarakterisasi (*unorthodox-AQPs*). AQP0, AQP1, AQP2, AQP2, AQP5, AQP6 dan AQP8 berfungsi secara selektif permeabilitas terhadap air (AQP klasik). Sedangkan AQP3, AQP7, AQP9 dan AQP10 disebut sebagai *aquaglyceroporin* yang permeabilitas terhadap air, gliserol, urea dan *small neutral solutes* (Zannetti *et al.*, 2020).



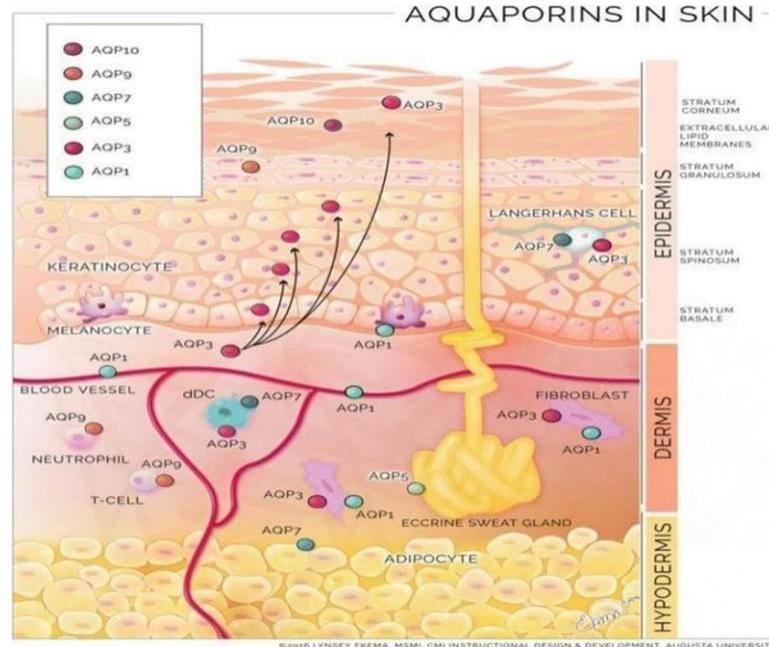
Gambar 9. Jenis AQP yang terekspresi pada berbagai jaringan

Sumber : *Biochimica et Biophysica Acta* 1840 (2014) 1492–1506

2.5.1 Peran AQP pada Kulit

Beberapa jenis AQP telah diteliti memiliki peran terhadap kulit, yang didistribusikan ke epidermis (AQP 1, 3, 7 dan 10), dermis (AQP1, 3 dan 5), hipodermis (AQP7). Mutasi, disregulasi, malfungsi atau disfungsi AQP kulit ini akan menyebabkan banyak penyakit kulit (Patel R *et al.*, 2017). AQP telah banyak diteliti berkaitan dengan hidrasi kulit (Boury-Jamot *et al.*, 2006), proliferasi sel, dan diferensiasi, migrasi, imunitas, dan penyembuhan luka (William R Swindell *et al.*, 2014). Secara khusus, AQP3 terlibat dalam proliferasi sel epidermis dan migrasi; AQP1 mengontrol pergerakan air di antara darah dan dermis untuk menjaga hidrasi; AQP5, ditemukan di kedua membran basolateral kelenjar keringat terlibat dalam sekresi air; AQP7 memainkan peran penting untuk

melepaskan gliserol dari adiposit untuk produksi energi dan AQP9 memfasilitasi transportasi gliserol, urea, dan H₂O₂ untuk mekanisme pertahanan (Patel *et al.*, 2017).



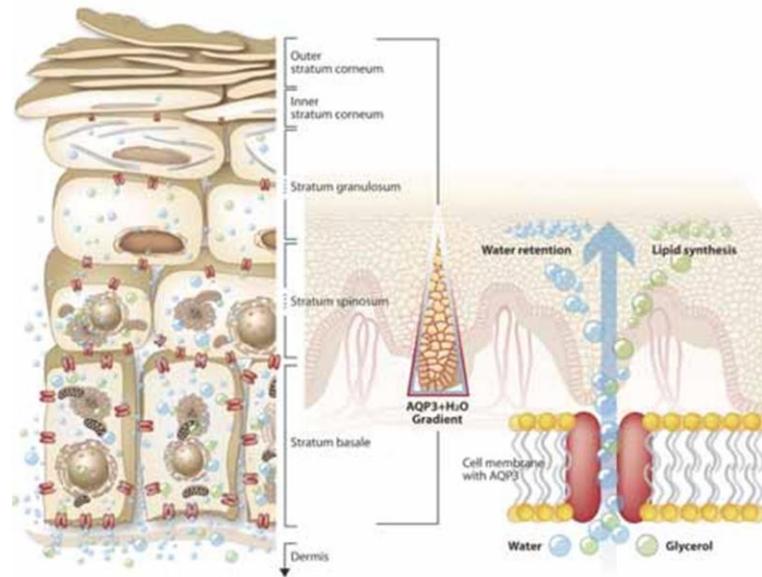
Gambar 10. AQPs pada kulit

Sumber : B. Yang (ed.), Aquaporins, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 969

2.5.2 Peran AQP3 terhadap Fungsi Sawar Kulit

Aquaporin-3 (AQP3) adalah aquaporin yang dominan dan paling banyak dipelajari pada kulit mamalia. Ini adalah aquaglyceroporin dan mampu mengangkut air, gliserol, urea dan hidrogen peroksida (Verkman, 2013). Fungsi AQP3 di kulit sebagian besar disimpulkan dari penelitian pada tikus yang kekurangan AQP3. Transportasi gliserol yang dimediasi AQP3 memainkan peran penting dalam hidrasi stratum korneum, elastisitas kulit, pemulihan sawar, penyembuhan luka dan proliferasi sel, transportasi air yang dimediasi AQP3 sangat penting untuk migrasi sel (Hara, Ma and Verkman, 2002; Hara-Chikuma and Verkman, 2008). AQP3 dilaporkan untuk memediasi serapan hidrogen

peroksida yang bertanggung jawab untuk regulasi migrasi sel T dan respon imun kulit (Hara-Chikuma *et al.*, 2012).



Gambar 11. Mekanisme hidrasi kulit yang dimediasi AQP3.

Saluran AQP3 di epidermis membran sel memfasilitasi gliserol dan transportasi air ke dalam dan antar sel. AQP3 diekspresikan terutama dalam stratum basale, dengan ekspresi menurun menuju stratum granulosum. Gradien ekspresi AQP3 ini sesuai dengan gradien penurunan air dari dermis ke stratum korneum. Gliserol di lapisan epidermis luar mengikat dan menahan air, menjaga hidrasi kulit yang optimal. Selain itu, gliserol dapat meningkatkan metabolisme lipid, sehingga meningkatkan fungsi penghalang SC.

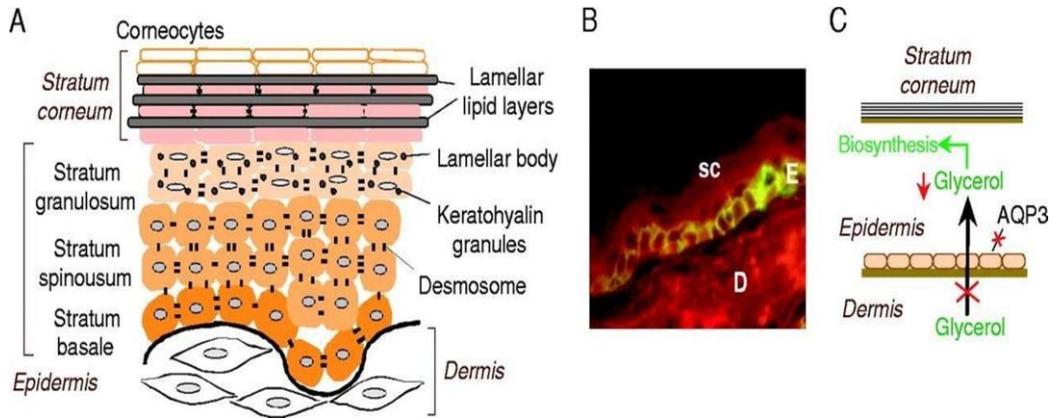
Sumber : Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology, 2012 Vol. 5 Number 7

Peranan gliserol yang difasilitasi AQP3 dalam mengatur startum korneum dan kandungan gliserol epidermis menunjukkan bahwa gliserol adalah salah satu kunci dalam penentuan hidrasi kulit. Gliserol sebagai endogen humektan yang berdifusi secara osmotik ke dalam startum korneum dan epidermis di bawahnya, menarik air dan menciptakan efek reservoir, sehingga meningkatkan kapasitas penahan air dari kulit (Hara-Chikuma and Verkman, 2008).

Efek tambahan dari gliserol pada kulit mempengaruhi komposisi lipid

dan metabolisme di stratum korneum, yang pada gilirannya mempengaruhi fungsi sawar (Fluhr, Darlenski and Surber, 2008). Gliserol endogen merupakan produk dari pemecahan trigliserida yang berasal dari dua sumber utama dalam tubuh yaitu serum, di mana antara gliserol dan asam lemak dilepaskan setelah hidrolisis trigliserida, dan kelenjar sebacea, yang menunjukkan tingkat pergantian trigliserida (Choi *et al.*, 2005). Beberapa peneliti telah mengusulkan bahwa sumber utama gliserol diangkut oleh AQP3 adalah dari serum (Boury-Jamot *et al.*, 2009).

Gliserol dalam fungsi kulit didukung oleh penelitian pada model tikus asebia. Tikus-tikus ini, karena mutasi pada gen yang mengkode stearoyl-CoA desaturase-1, menunjukkan hipoplasia kelenjar sebaceous dan oleh karena itu, kekurangan produksi sebum, sekresi minyak yang kaya akan trigliserida dan lipid lain dapat ditindaklanjuti oleh lipase untuk melepaskan metabolit seperti gliserol di kulit (Boury-Jamot *et al.*, 2009). Defek pada produksi sebum menyebabkan penurunan kandungan gliserol epidermal dan hidrasi stratum korneum abnormal, yang sehingga menyebabkan hiperkeratosis (penebalan epidermis), hiperplasia epidermal, dan aktivasi sel mast. Fenotip ini dapat dikoreksi dengan pemberian topikal gliserol tetapi tidak urea atau air. Hal ini mendukung peran fisiologis kunci gliserol dalam fungsi kulit serta keterlibatan AQP3 dalam mempertahankan kandungan gliserol epidermis dan kapasitas menahan air stratum korneum (Qin *et al.*, 2011).



Gambar 12. Hubungan Transport Glycerol dengan AQP3 pada lapisan kulit.

Sumber : Biol. Cell (2005) 97, 479–486 (Printed in Great Britain)

AQP3 juga telah ditemukan menjadi penting dalam fungsi sawar permeabilitas air epidermis. Fungsi sawar permeabilitas ini dapat dinilai dengan memantau kehilangan air transepidermal (TEWL). Verkman dkk, menunjukkan bahwa tikus *knockout* AQP3 menunjukkan keterlambatan dalam perbaikan sawar permeabilitas air dibandingkan dengan tikus tipe liar. Lebih lanjut, pemberian gliserol oral mengembalikan pemulihan sawar yang terganggu pada tikus *knockout* AQP3 dan bahkan mempercepat pemulihan pada tikus tipe liar (Hara, Ma and Verkman, 2002). Studi lain menunjukkan bahwa tikus transgenik di mana AQP3 diekspresikan secara berlebihan di epidermis di bawah kendali promotor keratin 1 menunjukkan perbaikan sawar permeabilitas air yang dipercepat (Qin *et al.*, 2011).

Penelitian terkait peningkatan ekspresi AQP3 yang berpengaruh terhadap peningkatan TEWL juga dilaporkan oleh Nakahigasi dkk terhadap 2 model tikus berbeda, tikus dengan AQP3-null yang menunjukkan hiperplasia epidermal dengan gangguan penghalang selama DA menggambarkan nilai TEWL tinggi,

terjadi penurunan level ekspresi AQP3 dibandingkan tikus tipe liar (Nakahigashi *et al.*, 2011). Regulasi AQP3 meningkat pada ekspresi mRNA maupun pada lesi dermatitis atopik atau eksim pada pasien manusia dan model tikus (Olsson *et al.*, 2006). Agren dkk, melakukan investigasi apakah AQP berhubungan dengan sawar air epidermal menggunakan embrionik tikus hari ke-18 dan ke-20, serta postnatal hari ke-4. TEWL dan hidrasi kulit diukur dengan Tewameter dan Corneometer sedangkan ekspresi AQP3 diukur dengan metode Semiquantitative Reverse Transcription PCR. Kadar AQP khususnya AQP3 memiliki ekspresi lebih tinggi (Ågren *et al.*, 2003).

Beberapa data penelitian melaporkan keterlibatan tingkat AQP3 dalam patologi penyakit kulit tertentu. Penurunan regulasi dan atau mislokasi AQP3, yang paling banyak dipelajari adalah berhubungan dengan psoriasis (Lee *et al.*, 2012) dan vitiligo (William R Swindell *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian telah melaporkan peningkatan kadar mRNA AQP3 dalam keratinosit yang berproliferasi pada psoriasis (Roberson and Bowcock, 2010). Pengamatan kontroversial juga dilaporkan pada kanker kulit non-melanoma (NMSC), basal dan karsinoma sel skuamosa (SCC) yang melibatkan AQP3. Sementara Studi dengan pendekatan imunohistokimia mengungkapkan regulasi turun AQP3 di NMSC dan SCC (Seleit *et al.*, 2015), penelitian lain mengamati peningkatan regulasi protein ini di keduanya penyakit (Ishimoto *et al.*, 2012). Pengamatan selanjutnya adalah didukung oleh penelitian yang menunjukkan tikus AQP3-null resisten terhadap pembentukan tumor dalam model perkembangan SCC (Hara-Chikuma and Verkman, 2008). Up-regulasi AQP3

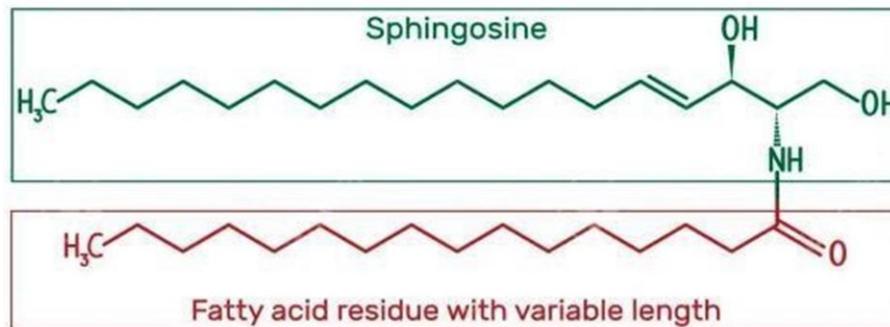
keduanya dalam mRNA dan tingkat protein telah ditunjukkan pada lesi dermatitis atopi atau eksim pada pasien manusia dan model tikus (Olsson *et al.*, 2006; Nakahigashi *et al.*, 2011). Regulasi menurun AQP3 seharusnya dikaitkan dengan xeroderma yang diamati pada diabetes karena diabetes yang diinduksi streptozotocin tikus menunjukkan penurunan kadar AQP3 dengan pengurangan kadar air dermal (Ikarashi *et al.*, 2017).

Studi terbaru menjelaskan bahwa regulasi AQP3 menurun mungkin terlibat dalam beberapa penyakit kulit lainnya seperti pemfigus bulosa (Korany *et al.*, 2019) dan akrokeratoderma simetris (Rong *et al.*, 2019), namun, regulasinya mungkin terlibat dalam scleroderma / sklerosis sistemik (Luo *et al.*, 2016). Stratum korneum pun berdasarkan pengamatan terhadap fisiologi kulit dan patogenesis penyakit saat ini belum diketahui, kemampuan untuk mengatur ekspresi AQP3 keratinosit menunjukkan kemungkinan mengembangkan agen farmakologis untuk mengubah ekspresi AQP3 (atau fungsi) untuk pengobatan penyakit kulit yang berhubungan dengan proliferasi abnormal atau homeostasis air (Hara-Chikuma and Verkman, 2008).

2.6 Ceramide (CER)

CER merupakan komponen lipid utama dari stratum korneum yang terdiri dari rantai panjang basa sphingoid (*dihydrosphingosine, sphingosine, phytosphingosine* atau *6-hydroxysphingosine*) yang terikat dengan rantai panjang asam lemak (*non-hydroxy fatty acids, α -hydroxy fatty acids or ester-linked ω -hydroxy fatty acids*) melalui ikatan amida (Davis, Kannan and Wattenberg, 2018). Gugus utama CER termasuk gugus hidroksil dapat membentuk antar dan intramolekul dengan ikatan hidrogen. Jumlah gugus hidroksil dalam gugus utama

CER sangat penting untuk integritas fungsi penghalang stratum korneum. Rantai panjang asam lemak dalam CER umumnya adalah 24-26 karbon, akan tetapi ada beberapa asam lemak yang terdiri dari 16-18 karbon sehingga panjang rantainya mempengaruhi permeabilitas kulit dan fungsi penghalang stratum korneum. CER merupakan protein dengan berat molekul yang besar dan sangat lipofilik, sehingga sangat susah larut dalam air (Kahraman *et al.*, 2019).



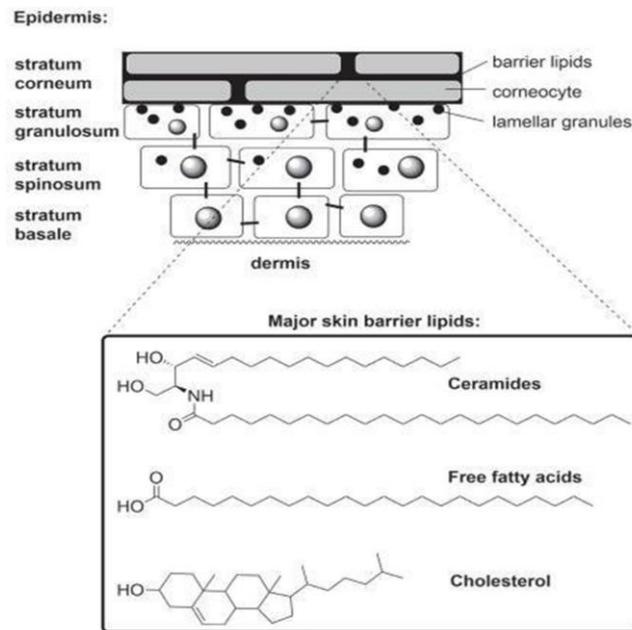
Gambar 13. Struktur CER
 Sumber : J AM ACAD Dermatology, 2014

CER terdapat di stratum korneum, berfungsi sebagai modulator air dan sawar permeabilitas dengan membentuk struktur lamellar berlapis dengan lipid di antara sel yang terdapat di stratum korneum. Selain itu CER juga berperan sebagai penghubung sinyal ekstra seluler untuk menginduksi apoptosis sel (Farwanah *et al.*, 2005).

CER merupakan salah satu komponen lipid vernix caseosa yang merupakan zat putih seperti lilin yang ditemukan melapisi kulit bayi manusia yang baru lahir dengan komposisi sekitar 20.1% dari lipid lainnya dan meningkat menjadi 50% di kulit pascakelahiran. Gangguan sintesis kandungan lemak kulit termasuk CER dapat menyebabkan gangguan homeostatis sawar yang dapat menyebabkan masalah pada kulit seperti kekeringan, iritasi, eritema dan gatal-

gatal (Schachner *et al.*, 2020).

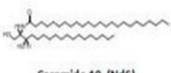
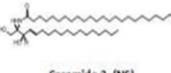
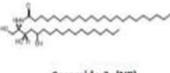
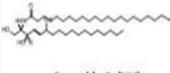
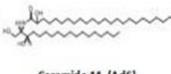
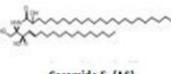
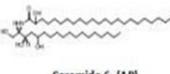
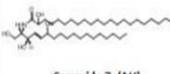
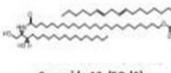
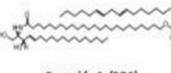
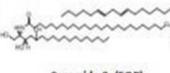
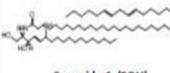
Stratum korneum membentuk sawar antara lingkungan luar dan internal tubuh. Fungsi sawar tersebut untuk pencegahan kehilangan air dan perlindungan dari benda asing. Struktur stratum korneum sering disebut sebagai "batu bata" dan mortir "bricks" yang merupakan keratinosit yang berdiferensiasi akhir yang sebagian besar terdiri dari filamen keratin dan filaggrin (Meckfessel and Brandt, 2014). Mortar terdiri dari lipid antar sel yang tersusun menjadi lapisan lamelar yang terdiri dari CER, asam lemak bebas, dan kolesterol (Vavrova, Kovačik and Opalka, 2017).



Gambar 14. Struktur lapisan Epidermis, stratum korneum dan lapisan lipid penghalang.
Sumber :Eur.Pharm.J.2017,64(1):1-8.

Sampai saat ini terdapat 12 tipe CER yang berhasil diidentifikasi pada stratum korneum manusia yang diturunkan berdasarkan asam lemak dan basa sphingoid. Berbeda antara satu dengan yang lainnya berdasarkan gugus utama

atau esterifikasi asam lemak (Kahraman *et al.*, 2019)

	Dihidrosphingosine (dS)	Sphingosine (S)	Phytosphingosine (P)	6-hydroxy sphingosine (H)
Non-hydroxy fatty acid chain (N)	 Ceramide 10, (NdS)	 Ceramide 2, (NS)	 Ceramide 3, (NP)	 Ceramide 8, (NH)
α -hydroxy fatty acid chain (A)	 Ceramide 11, (AdS)	 Ceramide 5, (AS)	 Ceramide 6, (AP)	 Ceramide 7, (AH)
ω -hydroxy fatty acid chain (EO)	 Ceramide 12, (EoS)	 Ceramide 1, (EOS)	 Ceramide 9, (EOP)	 Ceramide 4, (EOH)

Gambar 15. CER yang terdapat pada stratum korneum manusia.

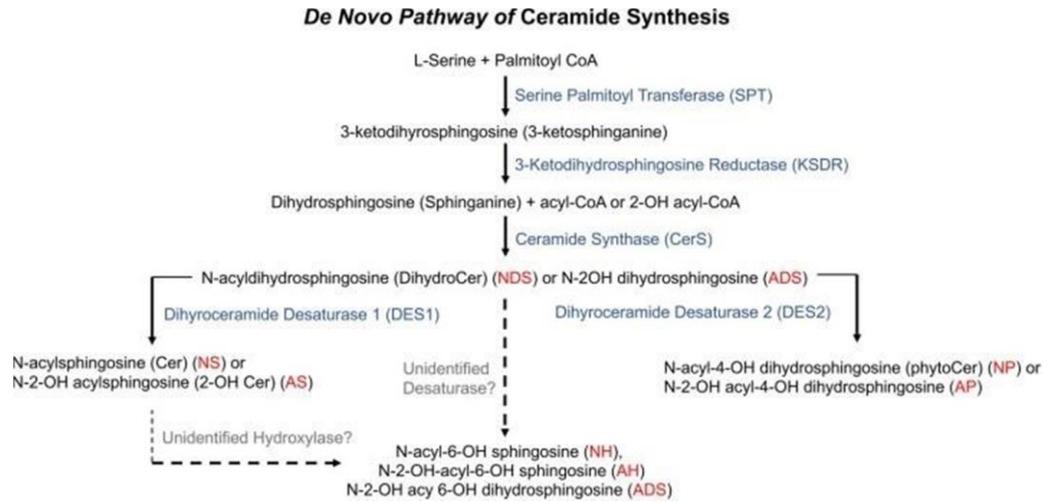
Sumber : Cosmetics 2019, 6, 52

2.6.1 Produksi CER Kulit

Produksi biosintesis CER pada kulit melewati dua jalur yaitu jalur *de novo* dan jalur *salvage* (Mullen, Hannun and Obeid, 2012). Jalur *de novo* menciptakan CER dari molekul yang kurang kompleks yang terjadi di retikulum endoplasma korneosit di lapisan basal dan merupakan jalur rutin produksi CER pada kulit (Merrill, 2002).

Produksi CER melewati jalur *de novo* diawali dengan kondensasi *L-serine* dan *palmitoyl-CoA* melalui *serine palmitoyl transferase*, yang terdiri dari dua subunit protein (SPTL1 dan SPTL2). Rantai panjang CER pertama terbentuk dan diikuti dengan 3- *ketodihydrosphingosine* yang direduksi menjadi *sphinganine (dihydrosphingosine)* (Uchida, 2017). *Dihydrosphingosine* diubah menjadi *dihydroceramide* dengan *N-asilasi* menggunakan lemak *asetil-KoA* oleh CER sintesis (CERSyn). *Dihydroceramide* selanjutnya dapat dimodifikasi melalui desaturasi menjadi Basis sphingoid yang di temukan di kulit. Terdapat 6 CERSyn

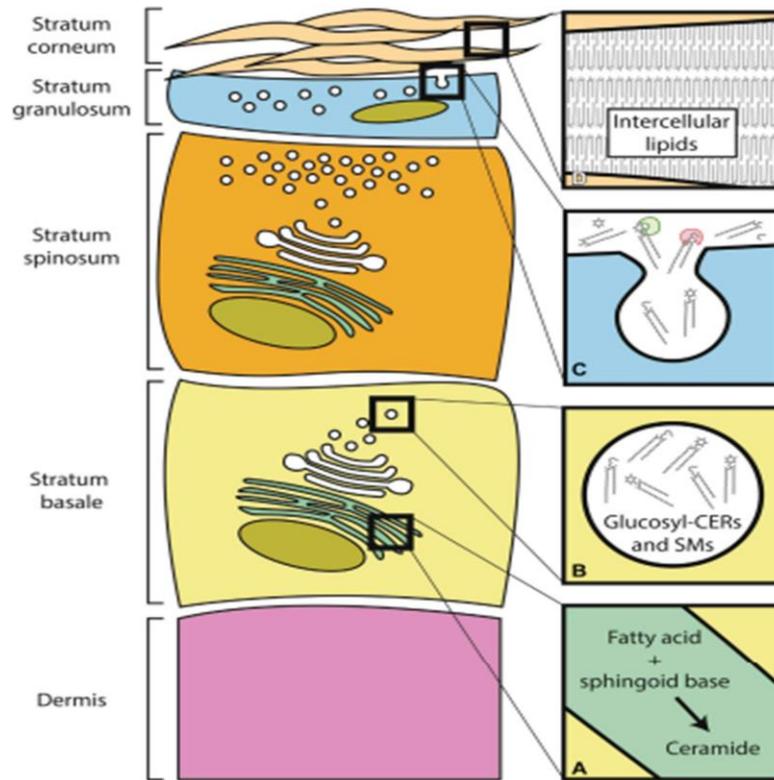
yang ditemukan di kulit (Meckfessel and Brandt, 2014).



Gambar 16. Jalur De Novo

Sumber : American Journal of Clinical Dermatology, 2021

Sintesis CER kulit *de novo* terjadi di lapisan suprabasal epidermis di endoplasma retikulum. CER yang baru diproduksi diangkut ke Golgi aparatus dan diubah menjadi *sphingomyelin*. Selanjutnya *Glucosyl-CERs* dan *sphingomyelin* diangkut melalui Golgi aparatus menjadi vesikel sekretorik yang menumpuk dan meningkat jumlahnya saat keratinosit berdiferensiasi melalui stratum korneum (Gambar 14) (Mizutani *et al.*, 2008). Ketika keratinosit mencapai batas antara stratum granulosum dan stratum korneum, vesikel sekretorik menyatu dengan membran plasma dan menyimpan isinya ke dalam ruang antar sel dari stratum korneum. Setelah disetorkan ke stratum korneum, glukosil-CER dan sfinngomielin masing masing diproses kembali menjadi CER oleh b-glukoserebrosidase dan sfinngomielinase (Uchida and Park, 2021).



Gambar 17. Sintesis CER dalam Kulit

(A) Sintesis CER dimulai di stratum basale. CER disintesis de novo di retikulum endoplasma dengan konjugasi asam lemak pada basa sphingoid. (B) CER diubah menjadi sphingomyelin (SM) di aparatus Golgi dan dikemas ke dalam vesikel sekretori. Jumlah vesikel meningkat seiring dengan diferensiasi keratinosit seperti yang terlihat pada lapisan stratum spinosum. (C) Vesikel mengeluarkan glukosil-CER dan sphingomyelin ke dalam ruang ekstraseluler di mana β -glukoserebrosidase dan sphingomyelinase masing-masing mengubahnya kembali menjadi CER. (D) CER bersama dengan asam lemak bebas dan kolesterol, tersusun menjadi lapisan pipih di ruang antar sel korneosit di stratum korneum

Sumber : J AM ACAD Dermatol, 2014

2.6.2 Peran CER pada Sawar Kulit

CER berperan penting dalam menahan korneosit dan mencapai matriks antar sel di dalam kulit dan mempertahankan integritas kulit. Lipid antar sel matriks lamelar stratum korneum sangat penting untuk menjaga fungsi sawar kulit dan mencegah TEWL. Perubahan jumlah dan komposisi CER stratum korneum

dapat menyebabkan beberapa kelainan kulit yang berefek pada pertahanan (Aoki *et al.*, 2019).

Sebuah penelitian yang dilakukan pada tikus menunjukkan bahwa CERSyn3 sangat penting untuk kelangsungan hidup. Tikus yang kekurangan CERSyn3 akan mati tak lama setelah lahir sebagai akibat dari TEWL. Kulit yang dikultur dari tikus yang baru lahir juga lebih banyak rentan terhadap kolonisasi bakteri yaitu *Candida albicans* (Jennemann *et al.*, 2012). Analisis CER komposisi pada tikus yang kekurangan CERSyn3 terungkap kehilangan CER rantai panjang yang mengandung asil bagian yang lebih besar dari 26 karbon (Meckfessel and Brandt, 2014).

Telah banyak pengembangan penelitian terkait pengaruh CER terhadap kelembaban dan hidrasi kulit yang di teliti dengan pengembangan terapi berbasis pengobatan maupun pencegahan. Chabely Robles dari Dr Jart menjelaskan stratum korneum pada kerusakan sawar kulit tidak hanya menyebabkan hilangnya kelembaban, tetapi juga dapat menyebabkan iritasi tambahan seperti kemerahan, peradangan, gatal, tekstur kasar, dan garis halus. Stratum korneum tubuh manusia terdiri dari hampir 70% air, menurut *Journal of Biological Chemistry*, ini berkurang saat mencapai permukaan kulit, jadi yang terpenting adalah bagaimana mekanisme menahan sebanyak mungkin. CER membantu menyatukan sel-sel sehat, yang menjaga tingkat kelembaban kulit, seimbang dan terhidrasi secara optimal untuk kulit yang lembab, halus, dan lembut (Luisa Coderch, Olga López, 2012).

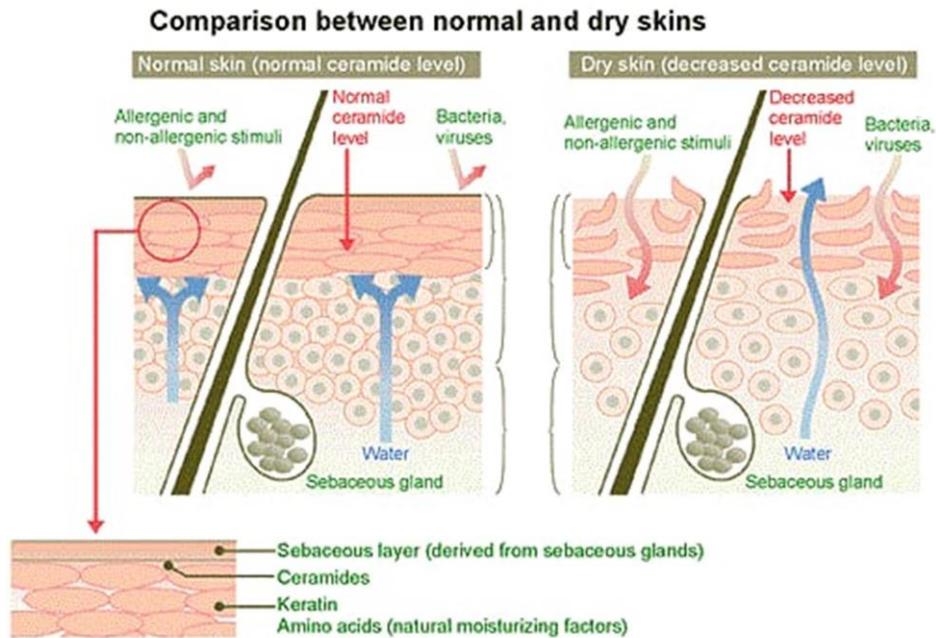
Penelitian lain yang dilakukan oleh Zoe Diana Draelos (2007),

menjelaskan efek pemberian pengobatan pada stratum korneum yang mengandung CER pada kondisi eksim. Dari hasil studi tersebut diperoleh data bahwa pemberi stratum korneum care yang mengandung CER mampu mengobati, serta mengurangi eksim ringan sampai sedang dengan durasi yang lebih singkat dibandingkan dengan produk perawatan stratum korneum tanpa CER (Draelos, 2008).

Lain halnya dengan penelitian dilakukan oleh Kenichiro dkk (2009), mengevaluasi perubahan TEWL, hidrasi kulit dan interkorneal kandungan lipid pada anjing dengan DA. Hasil pengukuran jumlah relatif CER didapatkan bahwa secara signifikan bahwa anjing dengan DA pada kulit lesi dan non-lesi lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya, tidak ada perbedaan signifikan yang ditemukan dalam jumlah relatif pada kolesterol dan asam lemak bebas antara anjing dengan DA dan kontrol. Selain itu, ada korelasi bermakna secara statistik antara TEWL dan jumlah relatif CER, tetapi tidak pada kolesterol dan asam lemak, baik pada kulit lesi maupun kulit non-lesi anjing dengan DA. Dari penelitian ini disimpulkan penurunan CER akan mempercepat TEWL pada anjing dengan DA, kondisi tersebut juga mirip dengan situasi yang terlihat pada DA di manusia (Shimada *et al.*, 2009).

Beberapa kasus melaporkan bahwa CERSyn1 yang merupakan CER rantai panjang, menurun 52% pada DA. Selain itu, CERSyn5 di bagian kulit yang tidak mengalami lesi meningkat, dan CERSyn1 dan CERSyn3 pada bagian kulit yang memiliki lesi menurun. Pada sindrom Dorfman-Chanarin, ichthyosis juga menunjukkan bahwa w-OH-acylceramide dan w-O-acylceramide mengalami

penurunan serta enzim CERSyn3 yang mensintesis ceramide 3 memiliki kerusakan gen pada pasien dengan bawaan iktiosis. Begitu pula beberapa laporan terhadap kulit kering, dimana nilai TEWL meningkat menyebabkan CER berkurang dibandingkan dengan kulit normal (Kahraman *et al.*, 2019).



Gambar 18. Perbedaan kulit normal dan kulit kering yang disebabkan oleh defisiensi CER
 Pada Kulit sehat CER keluar di antara sel-sel yang disadap dan kelembapan terjaga. Pada Kulit kering/ defisiensi CER, barrier kulit menjadi colaps/break
 Sumber : Journal of Lipid Research Volume 49, 2008

2.7 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

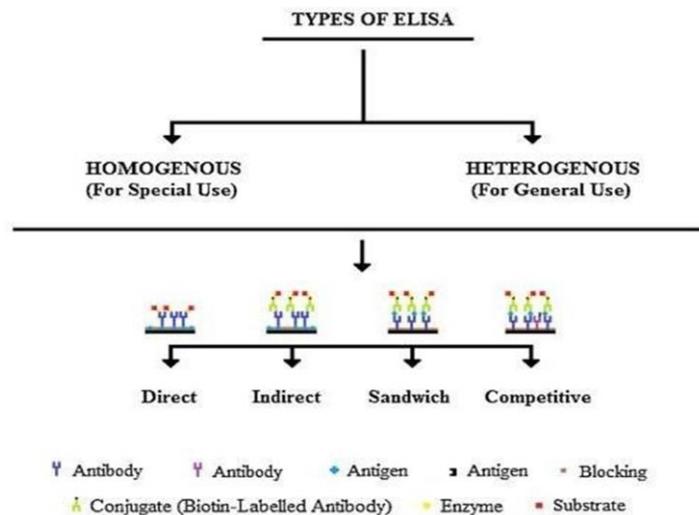
Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) adalah teknik biokimia yang digunakan dalam bidang imunologi untuk mendeteksi kehadiran antibodi atau antigen dalam suatu sampel (Vashist and Luong, 2018). Tes imunologi ini sangat sensitif dan digunakan untuk mendeteksi dan mengukur kadar zat termasuk antibodi, antigen, protein, glikoprotein, dan hormon (Mandy Alhadj and Aisha Farhana, 2020).

Deteksi produk ini dilakukan dengan pengompleksan antibodi dan antigen untuk menghasilkan hasil yang dapat diukur. Antibodi adalah jenis protein yang diproduksi oleh sistem kekebalan individu. Jenis protein ini memiliki daerah spesifik yang mengikat antigen (Engvall, 2010). Antigen adalah protein yang dapat berasal dari beberapa sumber asing dan, ketika terikat pada antibodi, menyebabkan serangkaian kejadian melalui sistem kekebalan tubuh. Interaksi ini digunakan dalam pengujian ELISA dan memungkinkan untuk identifikasi antibodi dan antigen protein tertentu, dengan hanya sejumlah kecil sampel uji (Mandy Alhadj and Aisha Farhana, 2020).

Prinsip kerja ELISA adalah sejumlah antigen yang tidak dikenal ditempelkan pada suatu permukaan, kemudian antibodi spesifik dicucikan pada permukaan tersebut. Maka terjadilah ikatan antigen dan antibody, selanjutnya terikat dengan enzim yang ditambahkan pada substansi yang dapat diubah oleh enzim menjadi sinyal yang dapat dibaca (Aydin, 2015).

Secara garis besar metode elisa terbagi menjadi 3 yaitu *direct* ELISA, *indirect* ELISA, *competitive* ELISA. **Direct ELISA** merupakan teknik yang pertama kali dikembangkan pada tahun 1971 oleh Engvall dan Perlmann dan Van Weemen and Schuurs. Teknik ini merupakan pelopor dari teknik Elisa Lainnya. Direct Elisa merupakan metode yang memungkinkan pengukuran jumlah analit tertentu secara langsung (antigen, antibodi, hormon, peptida dll) (Vashist and Luong, 2018) . Pada direct ELISA, antigen diimobilisasi langsung ke permukaan well plate 96, dan kemudian dikompleksikan dengan antibodi primer berlabel enzim khusus untuk antigen. Proses inkubasi antigen dan antibody dilanjutkan

dengan proses pencucian untuk menghilangkan sisa antibodi yang tidak berikatan dengan antigen. Setelah antibodi primer berlabel enzim mengikat antigen, antibodi primer terkonjugasi mengkatalisis reaksi dengan substratnya masing-masing sehingga menghasilkan perubahan warna secara kolorimetri yang terlihat dan diukur dengan spektrofotometer atau Elisa Reader. Berbeda dengan **Indirect ELISA** Teknik *indirect ELISA* merupakan teknik modifikasi dari direct elisa yang bertujuan untuk mengukur antigen dengan menggunakan 2 antibodi yaitu antibody pertama dan antibodi kedua berlabel enzim. Antibodi pertama akan mengikat antigen yang terdapat dalam sampel, selanjutnya diinkubasi dengan menggunakan antibodi kedua yang berlabel enzim. Substrate enzim ditambahkan dalam reaksi yang selanjutnya menghasilkan perubahan warna secara kolorimetri yang terlihat dan diukur dengan spektrofotometer atau Elisar Reader (Hnasko, 2015). Berbeda dengan kedua metode diatas **Competitive ELISA** pengukuran sampel antara antigen dan antibodi yang diberi tanda enzim ditempatkan ke dalam sumur secara bersamaan (Aydin, 2015). Antigen yang diberi tanda dan tidak diberi tanda (antigen pasien) atau molekul antibodi bersaing satu sama lain untuk mengikat antibodi atau antigen di dalam sumur. Setelah sumur dicuci dan substrat enzim ditambahkan, pewarnaan yang dihasilkan memungkinkan pengukuran konsentrasi. Ada proporsi terbalik antara konsentrasi analit dan intensitas pewarnaan yang dihasilkan. Dengan kata lain, ketika jumlah antigen atau antibodi yang dianalisis dalam serum rendah, absorbansi tinggi diperoleh, sedangkan jumlah yang lebih besar menghasilkan absorbansi rendah (Engvall, 2010).



Gambar 19. Tipe ELISA

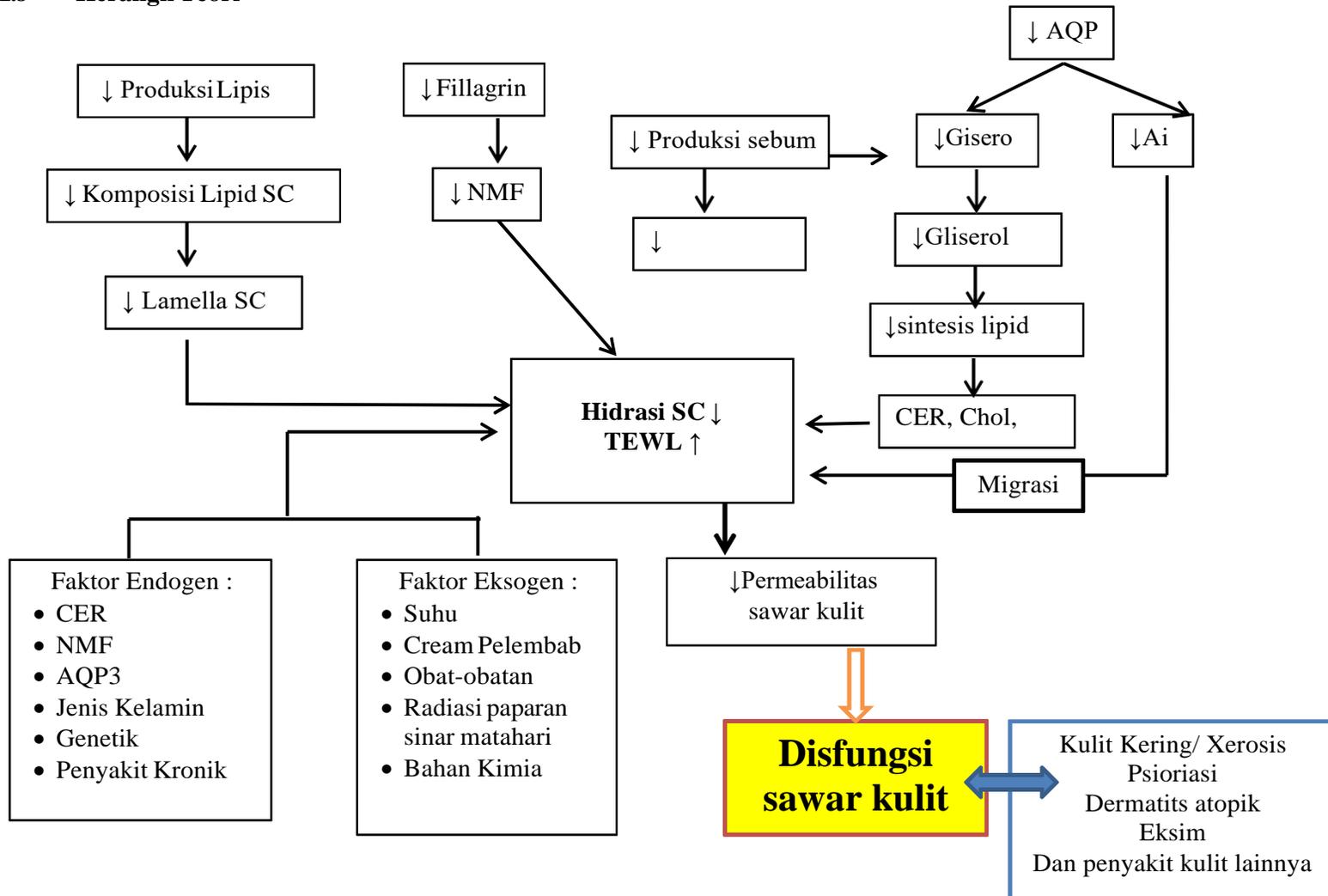
ELISA dilakukan dalam well polistiren, dalam format 96 well/lubang untuk mengikat protein dengan sangat kuat. Tergantung pada jenis ELISA, pengujian ELISA memerlukan beberapa komponen yaitu antibodi pendeteksi primer dan / atau sekunder, analit / antigen, antibodi pelapis / antigen, penyangga, pencucian, dan substrat / kromogen. Antibodi pendeteksi primer adalah antibodi spesifik yang hanya mengikat protein yang diinginkan, sedangkan antibodi pendeteksi sekunder adalah antibodi terkonjugasi enzim kedua yang mengikat antibodi primer yang tidak terkonjugasi dengan enzim.

Ada empat langkah umum utama untuk menyelesaikan ELISA immunoassay. Langkah-langkah tersebut adalah:

- a. Coating/ Pelapisan dengan antigen atau antibodi
- b. Blocking (biasanya dengan penambahan albumin serum sapi [BSA])
- c. Deteksi
- d. Pembacaan

Deteksi dilakukan dengan penambahan substrat yang dapat menghasilkan warna. Ada banyak substrat yang tersedia untuk digunakan dalam deteksi ELISA. Namun, enzyme peroksidase (HRP) yang paling umum digunakan dan alkali fosfatase (ALP). Substrat untuk HRP adalah hidrogen peroksida dan menghasilkan perubahan warna biru. ALP mengukur warna kuning nitrofenol setelah periode inkubasi suhu kamar 15 hingga 30 menit dan biasanya menggunakan P-Nitrofenil-fosfat (pNPP) sebagai substratnya.

2.8 Kerangk Teori



Berbagai bukti menunjukkan bahwa aquagliseroporin AQP3 penting dalam fungsi permeabilitas air pada sawar kulit epidermis. AQP3 memiliki kemampuan untuk transpor air dan gliserol. Air yang diangkut kemungkinan memainkan peran dalam hidrasi epidermis dan tekanan hidrostatik yang terlibat dalam migrasi (Qin *et al.*, 2011).

Stratum korneum merupakan lapisan epidermis terluar yang memiliki fungsi utama sebagai sawar fisik kulit, sawar permeabilitas terhadap bahan terlarut dari lingkungan luar dan mencegah kehilangan air yang berlebih dari tubuh. Sawar kulit dipengaruhi oleh beberapa faktor-faktor yaitu komposisi lipid, NMF dan defisiensi *skin moisture network* yang diperantarai oleh aquaporine water channel (Hayati *et al.*, 2015).

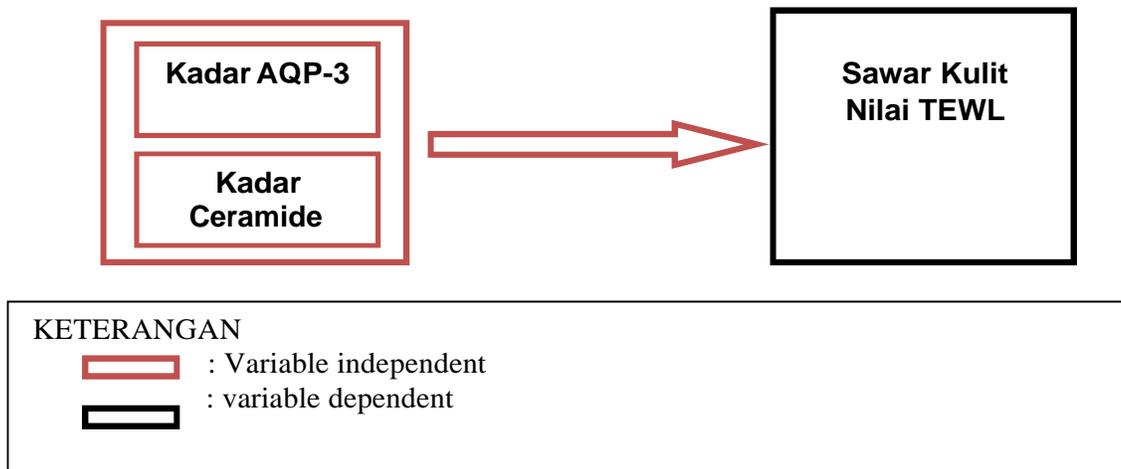
Pada transpor gliserol oleh AQP3 menunjukkan keterlibatan mekanisme sintesis lipid antar sel yang terdiri dari CER, kolesterol dan asam lemak bebas. CER adalah lipid utama dari lipid interseluler pada stratum korneum yang memainkan peran penting menjaga fungsi sawar kulit untuk mempertahankan hidrasi kulit dan mencegah hilangnya air. Gliserol endogen, produk dari pemecahan trigliserida yang berasal dari dua sumber utama dalam tubuh yaitu serum, di mana antara gliserol dan asam lemak dilepaskan setelah hidrolisis trigliserida, dan kelenjar sebacea, yang menunjukkan tingkat pergantian trigliserida (Choi *et al.*, 2005)

Bila terjadi gangguan lipid dan air pada sawar kulit maka akan terganggu

homeostasis sawar kulit yang dapat dinilai dengan mengukur hilangnya air transepidermal / TEWL dan hidrasi kulit (Jang and Lee, 2016; Made, Savitri and Ayu, 2017; Bollag *et al.*, 2020; Loeffelholz *et al.*, 2022

2.9 Kerangka Konsep

Dalam kajian pustaka yang telah diuraikan sebelumnya, kerangka konsep penelitian ini terdiri dari variable bebas yaitu kadar AQP3 dan CER, variable terikat yaitu sawar kulit yang dinilai dari hilangnya air epidermal/TEWL (Gambar20)



Gambar 20. Kerangka Konsep

Variabel perancu seperti pengaruh lingkungan yaitu suhu dan kelembaban udara dikendalikan oleh peneliti dengan mengambil sampel dari satu lingkup yang sama yaitu bayi lahir SCE. Kemudian untuk usia dikendalikan oleh peneliti dengan kriteria inklusi

Variabel perancu lainnya pada penelitian ini antara lain genetik, kadar radikal bebas, NMF yang secara endogen ada pada kulit. Sedangkan faktor eksogen adalah pajanan bahan kimia, aktivitas sehari-hari dan radiasi ultraviolet.

2.10 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan uraian dari tinjauan pustaka dan landasan teori dapat diajukan hipotesa penelitian ini sebagai berikut :

1. Terdapat hubungan hubungan kadar AQP3 dan CER dengan sawar kulit yang dinilai dengan TEWL pada plasma arteri umbilikalis neonatus normal
2. AQP3 dan CER dapat sebagai prediktor dan faktor risiko terhadap kondisi sawar kulit bayi.

2.11 Definisi Operasional

1. Neonatus adalah bayi yang baru lahir 28 hari pertama kehidupan.
Neonatus normal memiliki berat 2.700 sampai 4.000 gram, panjang 48-53 cm, lingkar kepala 33-35cm
2. Transepidermal Water loss (TEWL) adalah kehilangan air melalui difusi epidermis, yang dinilai dengan alat kombinasi Tewameter (TM300) buatan pabrik Courage dan Khazaka electronic GmbH, Jerman tahun 1998 dan dinyatakan dalam satuan gram/hour/m². Tempat pengukuran TEWL dilakukan daerah volar lengan bawah. Sawar kulit merupakan lapisan terluar kulit yang keras dan terikat bersama oleh lipid berfungsi sebagai pelindung.
3. AQP3 adalah protein utama yang berperan pada hidrasi kulit melalui transportasi air dan gliserol yang berperan dalam proses proliferasi dan diferensiasi keratinosit.
4. CER adalah salah satu jenis asam lemak yang secara alami terdapat paa

sel kulit manusia dan membentuk sekitar 50% lapisan kulit terluar (epidermis).

5. ELISA adalah Teknik yang digunakan untuk mendeteksi antigen atau antibodi. Deteksi produk ini dilakukan dengan pengompleksan antibodi dan antigen untuk menghasilkan hasil yang dapat diukur. Antibodi adalah jenis protein yang diproduksi oleh sistem kekebalan individu. Jenis protein ini memiliki daerah spesifik yang mengikat antigen.
6. Kadar adalah Ukuran atau satuan unsur tertentu dalam sebuah materi
7. Cut off adalah Ambang batas yang merupakan unit aktivitas dalam tes serodiagnostik dimana jika nilai diatas diklasifikasikan sebagai nilai positif/tinggi dan di bawah dianggap nilai negatif/ rendah.