

KARYA AKHIR

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN MIKROBIOM TOPIKAL YANG
MENGANDUNG LACTOCOCCUS FERMENT LYSATE 5% TERHADAP
PERBAIKAN KLINIS DAN KADAR INTERLEUKIN-10 PADA AKNE
VULGARIS**

***EFFECTIVENESS OF TOPICAL MICROBIOME CONTAINING 5%
LACTOCOCCUS FERMENT LYSATE ON CLINICAL IMPROVEMENT AND
INTERLEUKIN-10 LEVELS IN ACNE VULGARIS***

KETUT ALIT PINIDHA SAVITRI

115201002



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (Sp.1) PROGRAM
STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDINMAKASSAR**

2023

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN MIKROBIOM TOPIKAL YANG
MENGANDUNG LACTOCOCCUS FERMENT LYSATE 5% TERHADAP
PERBAIKAN KLINIS DAN KADAR INTERLEUKIN-10 PADA AKNE
VULGARIS**

Karya Akhir

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis

Program Studi Pendidikan Dokter Spesialis

Disusun dan diajukan oleh

KETUT ALIT PINIDHA SAVITRI

Kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKER SPESIALIS-1 (Sp.1)
PROGRAM STUDI DERMATOLOGI DAN VENEREOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2023

LEMBAR PENGESAHAN

**EFEKTIVITAS PEMBERIAN MIKROBIOM TOPIKAL YANG MENGANDUNG
LACTOCOCCUS FERMENT LYSATE 5% TERHADAP PERBAIKAN KLINIS DAN
KADAR INTERLEUKIN-10 PADA AKNE VULGARIS**

Disusun dan diajukan oleh:

KETUT ALIT PINIDHA SAVITRI

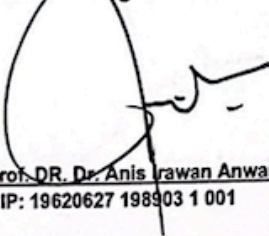
Nomor Pokok: C1105201002

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Spesialis Program Studi Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 25 Mei 2023 dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Komisi Penasehat,

Pembimbing Utama



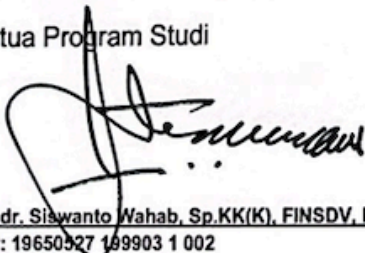
Prof. DR. Dr. Anis Irawan Anwar, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
NIP: 19620627 198903 1 001

Pembimbing Anggota




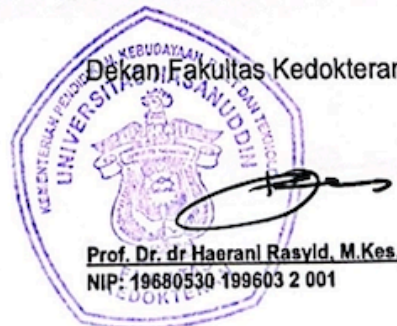
Dr. dr. Nurelly Waspodo, Sp.KK, MH, FINSDV, FAADV

Ketua Program Studi



Dr. dr. Siawanto Wahab, Sp.KK(K), FINSDV, FAADV
NIP: 19650327 199903 1 002

Dekan Fakultas Kedokteran

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD, KGH, Sp-GK, FINASIM
NIP: 19680530 199603 2 001

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Ketut Alit Pinidha Savitri

No. Stambuk : C115201002

Program Studi : Dermatologi dan Venereologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 18 Juli 2023

Yang menyatakan



Ketut Alit Pinidha Savitri

PRAKATA

Segala hormat, puji, dan syukur ke hadirat Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas seluruh berkah dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat selesai. Saya mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah berperan sehingga saya dapat menempuh Pendidikan Dokter Spesialis I sampai tersusunnya tesis ini.

Kepada Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Ketua Program Pendidikan Dokter Spesialis I Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar, saya mengucapkan banyak terima kasih atas izin dan kesempatan yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan dokter spesialis di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Kepada yang saya hormati Prof. DR. Dr. Anis Irawan Anwar, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV sebagai pembimbing utama pada penelitian saya, saya ucapkan terima kasih banyak atas semua arahan, bantuan, dukungan, bimbingan, doa dan kasih sayang yang telah diberikan, yang sama saya hormati Dr. dr. Nurelly Waspodo, Sp.KK, MH, FINS DV, FAADV sebagai pembimbing anggota, saya ucapkan banyak terima kasih atas semua didikan, arahan, bimbingan, dukungan, doa dan kasih sayang yang telah diberikan untuk saya. Kepada yang terhormat Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, MKM selaku pembimbing statistik/ metode penelitian, saya ucapkan terima kasih atas segala bimbingan serta masukannya sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik. Kepada yang terhormat penguji tesis saya, Dr. dr. Khairuddin Djawad, Sp.KK(K), FINS DV, FAADV dan Prof Dr. dr. Muh. Nasrum Massi, PhD, Sp.MK atas segala masukan, bimbingan, dan umpan balik yang disampaikan selama penyusunan tesis ini. Semoga segala kebaikan pembimbing dan penguji tesis ini mendapatkan balasan dengan kebaikan dan keberkahan yang berlipat.

Kepada yang terhormat seluruh Staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala doa dan kesabaran dalam

mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan seluruh tahapan demi tahapan pendidikan ini dengan baik, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal saya dalam memberikan manfaat bagi sesama.

Kepada yang terhormat seluruh Staf pengajar dan guru-guru saya di Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, terima kasih atas segala bimbingan dan kesabaran dalam mendidik sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini dengan lancar, semoga ilmu yang telah diberikan dapat menjadi bekal dalam menghadapi era globalisasi mendatang.

Penghargaan dan terima kasih yang sebesar-besarnya saya berikan kepada suami saya dr. Komang Werdhi Sentosa atas kasih sayang, pengorbanan, kesabaran, pengertian, kesetiaan, dukungan, dan doanya selama saya menjalani pendidikan ini. Saya ucapkan juga terima kasih yang teramat dalam untuk kedua orangtua saya, ayahanda Almarhum Drs. Putu Ardhana, M.M dan ibunda Putu Harthiny, SE terimakasih atas cinta dan kasih sayangnya dalam membesarkan, mendidik dan memberikan pengorbanan yang luar biasa untuk saya, segala doa, kesabaran serta dukungan sehingga saya dapat menyelesaikan tahapan pendidikan ini dengan baik. Kepada ketiga kakak laki-laki saya Putu Eka Cahyadi, ST. MM, Dr. Ade Krisna Permadi, ST, MM dan Dr. Komang Andika Triadhi, SE. M.Ak. MM terima kasih untuk segala bentuk dukungan dan doa sehingga saya dapat sampai pada tahap ini. Semoga Ida Sang Hyang Widhi Wasa senantiasa melimpahkan rahmat-Nya.

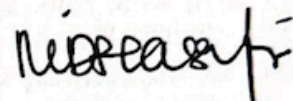
Teruntuk teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialis Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan dan pengertian teman-teman selama bersama-sama menjalani pendidikan ini. Terkhusus kepada sahabat-sahabat "Hep7agon" dr. Akbar Pratama, dr. Natalia Widjaja, dr. Ayuda Febriliani Mardhana, dr. Tania Azhari, dr. Ritami Masita dan dr. Clinton terima kasih banyak atas semua semangat, bantuan, kerjasama dan kekompakannya selama ini.

Kepada seluruh teman-teman Peserta Program Pendidikan Spesialis

Dermatologi dan Venereologi Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin terima kasih atas segala bantuan, dorongan, pengertian dan telah menjadi inspirasi dan pelajaran berharga bagi saya. Doa terbaik terpanjatkan agar kiranya Ida Sang Hyang Widi Wasa memberi balasan berkali-kali lipat untuk setiap amalan dalam proses pendidikan ini.

Semoga Ida Sang Hyang Widhi Wasa Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang selalu melimpahkan berkah dan karunia-Nya bagi kita.

Makassar, 20 Juli 2023



Ketut Alit Pinidha Savitri

ABSTRAK

KETUT ALIT PINIDHA SAVITRI. *Efektivitas Pemberian Mikrobion Topikal yang Mengandung Lactococcus Ferment Lysate 5% terhadap Perbaikan Klinis dan Kadar Inter leukin-10 pada Akne Vulgaris* (dibimbing oleh Anis Irawan Anwar dan Nurelly Waspodo).

Mikrobiom kulit berperan penting dalam patogenesis akne vulgaris melalui jalur hiperinflamasi yang memicu kerusakan sawar kulit dan menimbulkan gangguan keseragaman mikrobiota yang disebut disbiosis. Penelitian mengenai efek probiotik yang diberikan secara topikal jarang dilakukan. Namun, pemberian melalui oral didapatkan perubahan yang signifikan dalam perbaikan lesi akne serta didapatkan adanya hubungan antara derajat akne dengan kadar interleukin-10 (IL- 10). Penelitian ini bertujuan menilai efektivitas krim mikrobiom yang mengandung *lactococcus ferment lysate* terhadap kadar IL-10 sebagai terapi akne vulgaris. Desain penelitian yang digunakan ialah *true experimental double-blind, pre- and post-treatment randomized controlled clinical trial*. Pemilihan sampel dilakukan secara *consecutive sampling*. Terdapat lima kali kunjungan dengan jeda dua minggu antar kunjungan (0, 2, 4, 6, 8 minggu). Perbaikan lesi dilihat secara klinis, sedangkan kadar IL-10 dianalisis menggunakan ELISA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah lesi noninflamasi pada minggu ke-6 ($p= 0,015$) dan minggu ke-8 ($p= 0,002$). Rata-rata jumlah lesi noninflamasi pada kelompok perlakuan turun dari 66,31 ke 31,69, sedangkan kelompok placebo hanya menunjukkan penurunan sebesar 65,09 ke 50,34. Terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah lesi noninflamasi pada minggu ke-8 ($p= 0.018$). Selain itu, rata-rata jumlah lesi inflamasi pada kelompok plasebo sebesar 5,77 dan kelompok perlakuan sebesar 3,2. Terdapat peningkatan kadar IL-10 pada kelompok perlakuan, namun peningkatan ini tidak signifikan secara statistik. Dapat disimpulkan bahwa dengan pemberian gel yang mengandung *lactococcus ferment lysate* terbukti memberikan perbaikan lesi dan meningkatkan kadar IL-10 pada pasien akne vulgaris dalam delapan minggu pengobatan.

Kata kunci: akne vulgaris, IL-10, perbaikan klinis, *lactococcus ferment lysate*, probiotik.



ABSTRACT

KETUT ALIT PINIDHA SAVITRI. *The Effectiveness of Topical Microbiome Containing 5% Lactococcus Ferment Lysate on Clinical Improvement and Interleukin-10 Level in Acne Vulgaris* (supervised by Anis Irawan Anwar¹, Nurelly Waspodo)

The skin of microbiome plays an important role in the pathogenesis of acne vulgaris through hyperinflammatory pathways that trigger damage to the skin barrier and disturb the balance of microbiota (dysbiosis). Research on the effects of probiotics given topically is rarely carried out, however, oral administration has been proven to improve acne lesions. There is also a correlation between the degree of acne severity and the level of interleukin-10 (IL-10). This study aims to assess the effectiveness of microbiome cream containing Lactococcus ferment lysate on IL-10 levels as acne vulgaris therapy. This study used a double-blind, pre- and post-treatment randomized controlled clinical trial design. The sample selection was carried out by consecutive sampling. There were five visits with an interval of two weeks between visits (0, 2, 4, 6, 8 weeks). Lesion improvement was seen clinically, while IL-10 levels were analyzed using ELISA. The results show that there is a significant difference in the number of non-inflammatory lesions at week 6 ($p=0.015$) and week 8 ($p = 0.002$). The mean number of non-inflammatory lesions in the treatment group decreases from 66.31 to 31.69, while placebo group only shows a decrease of 65.09 to 50.34. There is a significant difference in the number of non-inflammatory lesions at week 8 ($p = 0.018$). In addition, the average number of inflammatory lesions in placebo group is 5.77 and the treatment group is 3.2. There is an increase in IL-10 level in the treatment group, but this increase is not statistically significant. In conclusion, administration of a gel containing Lactococcus ferment lysate is proven to improve lesion improvement and increase IL-10 level in acne vulgaris patients within eight weeks of treatment.

Keywords: acne vulgaris, IL-10, clinical improvement, lactococcus ferment lysate, probiotics.



DAFTAR ISI

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA AKHIR	ii
PRAKATA	iii
ABSTRAK	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GRAFIK	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Akne Vulgaris	7
2.2 Mikrobiom Kulit.....	11
2.3 Lactococcus Ferment Lysate.....	23
2.4 Interleukin 10.....	23
2.5 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	26
2.6 Kerangka Teori	28
2.7 Kerangka Konsep.....	28
BAB III METODE PENELITIAN	30
3.1. Desain Penelitian.....	30

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	30
3.3 Populasi Penelitian	30
3.4. Sampel Penelitian.....	31
3.5. Ijin Penelitian dan Kelayakan Etik	33
3.6. Variabel dan Definisi Operasional	33
3.7 Alat dan Bahan	35
3.8 Prosedur Penelitian	36
3.9 Alur Penelitian	40
3.10 Pengolahan dan Analisis Data	41
BAB IV HASIL PENELITIAN	42
4.1 Karakteristik Subjek Penelitian	43
4.2 Perbaikan Klinis Lesi Akne Vulgaris	44
4.3 Analisis Kadar Interleukin 10	49
4.4 Korelasi Antara Perbaikan Klinis Terhadap Kadar IL-10	54
BAB V PEMBAHASAN	59
5.1 Karakteristik Subjek Penelitian	59
5.2 Perbaikan Klinis Lesi Akne Vulgaris	59
5.3 Analisis Kadar Interleukin 10	62
5.4 Korelasi Antara Perbaikan Klinis Terhadap Kadar IL-10	64
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	66
6.2 Saran	66
6.3 Ucapan Terima Kasih	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68
LAMPIRAN	70

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Klasifikasi <i>combined acne severity</i>	11
Tabel 2. Definisi operasional pada penelitian.....	35
Tabel 3. Sebaran subjek berdasarkan jenis kelamin.....	45
Tabel 4. Sebaran subjek berdasarkan derajat akne.....	46
Tabel 5. Perbandingan nilai perbaikan klinis lesi non inflamasi	48
Tabel 6. Perbandingan nilai perbaikan klinis lesi inflamasi	50
Tabel 7. Uji normalitas kadar IL-10	52
Tabel 8. Hasil uji perbandingan kadar IL-10.....	53
Tabel 9. Hasil uji perbandingan kadar IL-10 sebelum dan sesudah perlakuan	53
Tabel 10. Korelasi antara perbaikan klinis lesi non inflamasi terhadap peningkatan kadar IL-10	57
Tabel 11. Korelasi antara perbaikan klinis lesi inflamasi terhadap peningkatan kadar IL-10	59

DAFTAR GRAFIK

Grafik 1. Perubahan Jumlah Lesi antar Jenis Lesi pada Kelompok Plasebo	47
Grafik 2. Perubahan Jumlah Lesi antar Jenis Lesi pada Kelompok Perlakuan.....	47
Grafik 3. Perbandingan penurunan klinis lesi non inflamasi	49
Grafik 4. Perbandingan penurunan klinis lesi inflamasi	51
Grafik 5. Perbandingan kadar IL-10 pada tiap kelompok.....	54
Grafik 6. Kadar IL-10 pada kedua kelompok	55
Grafik 7. Perbandingan IL-10 pada tiap kelompok.....	56
Grafik 8. Grafik scatterplot untuk menilai korelasi antara perbaikan lesi non inflamasi terhadap peningkatan kadar IL-10.....	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Ekosistem mikrobiom pada kulit normal.....	14
Gambar 2. ELISA <i>Reader</i>	28
Gambar 3. Kerangka Teori.....	29
Gambar 4. Kerangka Konsep.....	30
Gambar 5. Alur Penelitian	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Persetujuan Etik Penelitian.....	72
Lampiran 2. Alat dan Bahan	73
Lampiran 3. Inform Consent dan Kuisisioner Penelitian	75
Lampiran 4. Data SPSS	81

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

AMP = *adenosine monophosphate*

ELISA = *enzyme linked immunosorbent assay*

FFA = *free fatty acid*

Ig = *Immunoglobulin*

IL = *Interleukin*

INF = *interferon*

MHC = *major histocompatibility complex*

mRNA = *messenger ribonucleic acid*

OD = *optical density*

PAMP = *pathogen associated molecular pattern*

PBS = *Phosphate buffered saline*

PRR = *pattern recognition receptor*

RPM = *rotation per minute*

TNF = *tumor necrosis alpha*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Akne vulgaris adalah dermatosis inflamasi kronis yang ditandai dengan adanya komedo terbuka (*blackheads*) atau komedo tertutup (*whiteheads*), dan lesi inflamasi, termasuk papul, pustul, nodul dan kista (Zaenglein et al., 2016). Mekanisme terjadinya akne vulgaris melibatkan sebum berlebih, keratinisasi folikuler abnormal, dan proliferasi *Cutibacterium acnes* pada unit pilosebaceus. Hasil dari keseluruhan interaksi tersebut adalah perubahan lingkungan mikro kulit dan berakibat kepada reaksi inflamasi. Penelitian terbaru terkait patofisiologi akne vulgaris melibatkan aktivitas proinflamasi dari mikrobiom kulit (Dréno, 2017).

Beberapa mikrobiom kulit berperan dalam patofisiologi akne vulgaris, yaitu *C. acnes*, *Staphylococcus aureus*, dan *Streptococcus pyogenes*. Pada keadaan mikrobiom seimbang, *S. epidermidis* dapat membatasi kolonisasi berlebih dan respons inflamasi kulit yang ditimbulkan oleh *C. acnes*. *C. acnes* dapat menstimulasi produksi interleukin-6 (IL-6) dan tumor necrosis factor- α (TNF- α) oleh keratinosit. Berkebalikan dari itu, *C. acnes* membatasi proliferasi *S. aureus* dan *S. pyogenes* sehingga menjaga pH asam dari folikel pilosebaceus. Oleh karena itu, perubahan dari komposisi mikrobiom akan menyebabkan kerusakan sawar kulit, efek yang

disebut juga dengan disbiosis. Keadaan disbiosis ini dapat memicu aktivasi imun dan terjadinya inflamasi (Dréno, 2017).

Apabila keberagaman dan keseimbangan di antara filotipe *C. acnes* berkurang, aktivasi imun yang terjadi diperlihatkan dengan meningkatnya marker imun *innate* (IL-6, IL-8, IL-10, IL-17) (Dréno et al., 2020). IL-10 adalah sitokin anti inflamasi yang berperan untuk menginhibisi sel Th-1, sel natural killer, makrofag, serta membatasi produksi sitokin proinflamasi (termasuk IL-1 α dan β , IL-6, IL-12, IL-18, dan TNF- α) (Couper et al., 2008).

Peran IL-10 sebagai sitokin antiinflamasi pada akne dibuktikan dari penelitian yang menunjukkan bahwa kadar IL-10 secara signifikan lebih rendah pada kelompok dengan akne vulgaris dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kadar IL-10 juga berhubungan dengan tingkat keparahan akne, dimana akne derajat ringan memiliki IL-10 paling tinggi dan akne derajat berat memiliki IL-10 paling rendah (Rahmayani et al., 2019a).

Penemuan baru terkait patofisiologi akne yang melibatkan disbiosis mikrobiom sehingga menyebabkan pelepasan mediator inflamasi, membuat tujuan pengobatan akne mengalami pergeseran menjadi untuk mengembalikan keseimbangan mikrobiom alami (Dréno, 2017). Selain itu, penggunaan antibiotik sebagai tatalaksana utama akne selama 40 tahun mengakibatkan peningkatan resistensi *C. acnes* terhadap antibiotik (Lee et al., 2019). Pengobatan akne ke depannya bertujuan bukan untuk membunuh *C. acnes* melainkan mencegah atau mengobati disbiosis. Salah satu caranya adalah dengan memberikan suplementasi mikrobiota kulit

dengan probiotik. Beberapa uji acak terkendali menunjukkan bahwa pemberian probiotik topikal dan oral dapat mempengaruhi mikrobiom kulit, respon imun, dan penyakit kulit (Dréno et al., 2020).

Salah satu probiotik yang diketahui bermanfaat menimbulkan efek antiinflamasi adalah *Lactococcus ferment lysate*. Bakteri ini telah berkembang dari penemuan dan penggunaan awalnya terbatas pada fermentasi produk susu. Bakteri ini diketahui memperbaiki kondisi kulit merupakan bidang studi yang relatif baru. Misalnya, bakteriosin nisin secara topikal dari *Lactococcus lactis* meredakan infeksi stafilokokus, seperti yang ditunjukkan untuk pengobatan mastitis selama menyusui. Penelitian mengenai efek probiotik yang diberikan secara topikal jarang dilakukan, namun, pemberian melalui topikal memungkinkan konsentrasi yang lebih tinggi pada organ target dibandingkan dengan pemberian oral. Hasil awal menunjukkan perbaikan dari fungsi dinding kulit setelah pemberian *Lactococcus lactis lysate*. Penelitian lain dari Reti et.al dilakukan dengan pemberian terapi probiotik (*Lactococcus lactis*) dengan kadar 5% pada kasus akne vulgaris. Pasien dengan akne vulgaris diberi terapi tabir surya dan probiotik secara topikal selama 4 minggu dan kemudian dilakukan pemeriksaan swab untuk melihat jenis dan jumlah mikrobiom. Hasilnya tidak ditemukan kolonisasi *C. acnes* dan juga penurunan jumlah dan derajat keparahan lesi. Merujuk kepada hasil-hasil penelitian di atas, maka peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas penggunaan

mikrobiom yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% terhadap pasien akne vulgaris.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah di atas, maka disusun perumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% dapat memberikan gambaran perbaikan klinis pada akne vulgaris?
2. Apakah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% dapat memberikan gambaran peningkatan kadar IL-10?
3. Apakah terdapat hubungan antara perbaikan klinis dengan peningkatan kadar IL-10 pada akne vulgaris setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5%?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektifitas mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% sebagai pengobatan pada pasien akne vulgaris.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui perbaikan klinis pada akne vulgaris setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5%.
2. Mengetahui peningkatan kadar IL-10 pada akne vulgaris setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5%.
3. Mengetahui hubungan antara perbaikan klinis dengan peningkatan kadar IL-10 setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5%.

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% dapat memberikan perbaikan klinis pada akne vulgaris.
2. Pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% dapat meningkatkan kadar IL-10 pada akne vulgaris.
3. Terdapat hubungan antara perbaikan klinis dengan peningkatan kadar IL-10 setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactococcus ferment lysate* 5% pada akne vulgaris.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Teoritis

1. Hasil penelitian dapat menjadi data ilmiah dari penggunaan mikrobiom topikal sebagai tatalaksana akne vulgaris.
2. Hasil penelitian dapat menambah pengetahuan terhadap agen baru yang dapat digunakan sebagai tatalaksana akne vulgaris.

1.5.2 Aplikatif

Hasil penelitian dapat digunakan sebagai salah satu pilihan terapi akne vulgaris pada pasien yang mengalami kegagalan pengobatan ataupun sebagai terapi kombinasi.

1.5.3 Metodologi

Hasil penelitian dapat menjadi bahan dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Akne Vulgaris

2.1.1 Definisi

Akne vulgaris adalah penyakit pada unit pilosebaceus yang menyebabkan lesi non inflamatori (komedo tertutup dan terbuka), lesi inflamasi (papul, pustul, dan nodul) dan berbagai derajat skar. (Kang, 2019)

2.1.2 Epidemiologi

Prevalensi akne vulgaris pada usia remaja mencapai 85%, usia dewasa mencapai 50.9% (wanita usia 20 sampai 29 tahun) dan 26.3% pada wanita usia 40 sampai 49 tahun. Keluhan akne merupakan keluhan yang paling sering dikeluhkan oleh wanita, sekitar dua per tiga dari total kasus kunjungan ke dermatologi. Prevalensi akne vulgaris di kawasan Asia Tenggara terdapat 40-80% kasus. Prevalensi penderita akne vulgaris di Indonesia ialah 80 – 85% pada remaja dengan puncak insiden usia 15 – 18 tahun, 12% pada wanita usia > 25 tahun dan 3% pada usia 35 – 44 tahun. (Kang, 2019)

2.1.3 Etiopatogenesis

Mekanisme akne sampai saat ini tidak diketahui secara pasti namun merupakan kombinasi dari empat faktor patogen utama: 1. peningkatan produksi sebum; 2. hiperkornifikasi saluran pilosebaceus, 3. peningkatan *C. acnes*; dan 4. reaksi inflamasi.

Peningkatan produksi sebum merupakan salah satu faktor penting dalam perkembangan lesi akne yaitu peran primer dalam komedogenesis. Peran lain dari sebum ialah menyediakan substrat bagi pertumbuhan *C. Acnes*, trigliserida spesifik yang berperan dalam metabolisme lipase *C. Acnes* untuk membentuk digliserida, monogliserida, dan asam lemak bebas yang berperan untuk metabolisme *C. Acnes*.

Obstruksi saluran pilosebaceus mengawali dari patogenesis lesi akne. Obstruksi dihasilkan oleh akumulasi sel keratinosit yang menempel dalam kanal yang membentuk sumbatan aliran sebum. Penyebabnya belum diketahui secara pasti namun dapat disebabkan oleh abnormalitas dari lipid dalam kelenjar sehingga menyebabkan hiperproliferasi korneosit atau defisiensi asam linoleat. Ketika lumen folikel menjadi terobstruksi oleh sel folikel yang mengalami deskuamasi, sebum menjadi terjebak dalam sumbatan hiperkeratotik, menyebabkan dilatasi folikel. Akibat dari sumbatan ini membentuk komedo dimana secara mikroskopik berisi campuran epitel, sebum, bakteri dan fungi yang bersifat saprofitik.

Bakteri *C. acnes* yang bersifat anaerob berproliferasi dalam lingkungan ideal komedo: lumen kaya akan lipid dan terobstruksi sehingga rendah oksigen. Pertumbuhan bakteri ini menghidrolisis trigliserida sebum, menghasilkan asam lemak bebas yang mendorong pembentukan mikrokomedo. Namun, pertumbuhan *C. acnes* ini akan mendorong reaksi inflamasi diakibatkan adanya polipeptida pada komponen *C. acnes* yang menarik leukosit polimorfonuklear ke tempat folikel. Bakteri ini akan

diingesti oleh neutrofil, dan menyebabkan pelepasan enzim hidrolitik yang menyebabkan efek dishesi dan pecahnya dinding folikel. Gangguan ini membuat konten intrafolikel keluar menuju area dermis dan menyebabkan reaksi inflamasi. Kombinasi keratin, sebum, dan mikroorganisme terutama *C. acnes* menyebabkan pelepasan mediator proinflamatori dan akumulasi limfosit sel T, neutrofil dan badan asing. Hal ini menyebabkan pembentukan papul inflamatori, pustula, dan lesi nodulokistik. Komedo terbuka tampak sebagai lesi datar atau sedikit terangkat dengan impaksi folikular sentral berwarna keratin dan lipid. Komedo ini berwarna gelap karena oksidasi. Komedo tertutup tampak seperti papul kecil berwarna krem sampai putih, sedikit lebih tinggi, dan tidak memiliki lubang yang terlihat secara klinis. Peregangan atau palpasi kulit dapat membantu dalam mendeteksi lesi ini. (Perdoski, 2017, Kang, 2019)

Lesi inflamasi bervariasi dari papul eritema kecil hingga pustul dan nodul besar, lunak, dan fluktuatif. Beberapa nodul besar sebelumnya disebut "kista," dan istilah *nodulocystic* telah digunakan untuk menggambarkan kasus-kasus parah peradangan akne. (Tahir, 2010)

2.1.4 Manifestasi Klinis

Lokasi akne vulgaris dapat ditemukan pada area wajah atau pada area punggung, dada, dan bahu. Akne vulgaris ditandai oleh beberapa jenis lesi: lesi non-inflamasi (komedo terbuka atau tertutup) dan lesi inflamasi (papul eritema, pustul, nodul). Meskipun satu jenis lesi dapat mendominasi, pemeriksaan yang cermat biasanya menunjukkan adanya beberapa jenis

lesi. Komedo tertutup dikenal sebagai "*whiteheads*" dan komedo terbuka dikenal sebagai "*blackheads*". Komedo terbuka muncul sebagai lesi datar atau sedikit meninggi dengan impaksi folikel berwarna gelap dari keratin dan lipid akibat proses oksidasi. Komedo tertutup muncul sebagai papul kecil berwarna krem hingga putih, sedikit meninggi, dan tidak memiliki lubang yang terlihat secara klinis.

Lesi inflamasi bervariasi dari papul eritematosa kecil hingga pustul dan nodul besar, lunak, dan nyeri tekan ketika dipalpasi. Beberapa nodul besar sebelumnya disebut "kista", dan istilah *nodulocystic* telah digunakan untuk menggambarkan inflamasi jerawat yang parah. Meskipun sebagian besar lesi inflamasi tampaknya berasal dari komedo (54%), sejumlah besar lesi inflamasi (26%) muncul dari kulit normal yang tidak terlibat. Mekanisme yang terlibat dalam evolusi lesi inflamasi masih belum jelas, tetapi dianggap disebabkan oleh proses inflamasi, apakah lesi muncul sebagai papul, pustul, atau nodul tergantung pada luas dan lokasi infiltrasi inflamasi pada dermis. (Kang, 2019)

2.1.5 Klasifikasi

Terdapat beberapa macam klasifikasi akne untuk menentukan berat ringannya akne, namun klasifikasi akne vulgaris yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan klasifikasi *Combined Acne Severity* yang mengelompokkan akne vulgaris menjadi tiga derajat, yaitu ringan, sedang, dan berat sebagai berikut: (Kang, 2019)

Tabel 1. Klasifikasi *Combined Acne Severity* berdasarkan Lehmann

Derajat	Komedo	Pustul	Kista	Total
Ringan	< 20	< 15	Tidak ada	<30
Sedang	20 – 100	15 - 50	< 5	30-125
Berat	> 100	> 50	> 5	>125

- a. Akne vulgaris ringan: bila jumlah komedo < 20, atau lesi inflamasi < 15 atau lesi total berjumlah < 30 buah.
- b. Akne vulgaris sedang: bila jumlah komedo 20-100, atau lesi inflamasi 15-50 atau lesi total berjumlah 30-125 buah.
- c. Akne vulgaris berat: bila jumlah komedo >100, atau lesi inflamasi >50, atau jumlah lesi total >125 buah atau kista berjumlah >5.

2.2 Mikrobiom Kulit

2.2.1 Mikrobiom Secara Umum

Kulit manusia adalah rumah dari berbagai bakteri, fungi, dan virus yang membentuk suatu mikrobiom kulit. Mikrobiom kulit memiliki peran dalam perlindungan terhadap patogen. Sebagai organ terbesar di tubuh, kulit merupakan perlindungan fisik untuk mencegah invasi patogen. Ketika perlindungan fisik rusak atau keseimbangan antara mikroorganisme komensal dan patogen terganggu, penyakit kulit hingga penyakit sistemik dapat terjadi. (Mottin VHM et al. 2018)

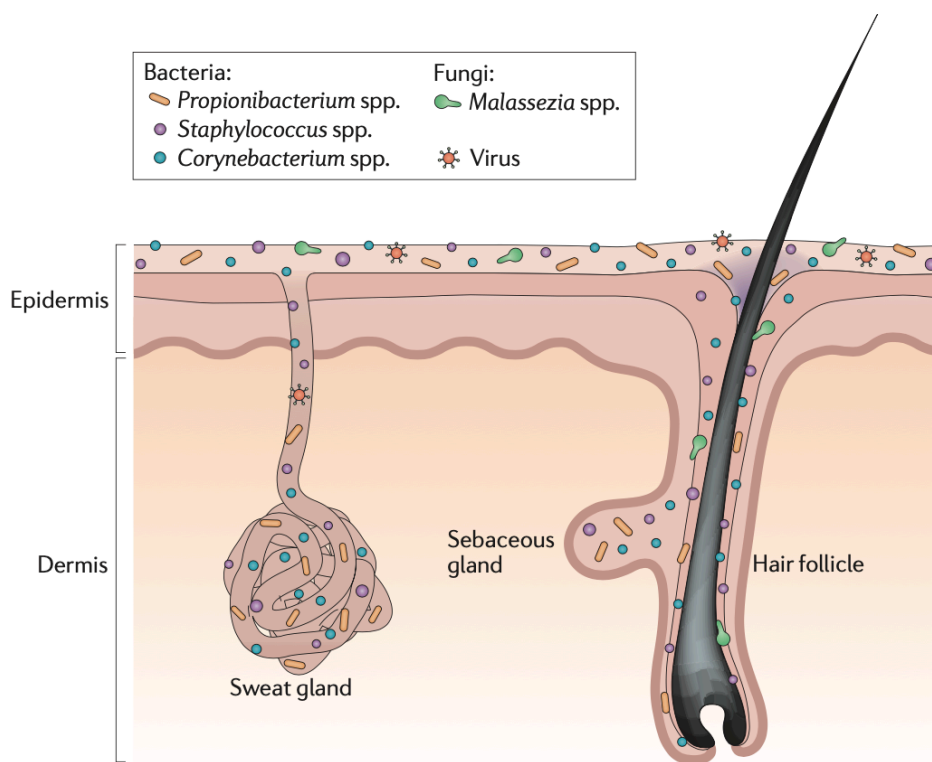
Mikrobiom kulit normal tersusun atas bakteri, fungi, dan virus. Komposisi mikrobiom normal pada kulit bergantung pada fisiologi dari lokasi kulit. Terdapat setidaknya 19 filum bakteri yang menyusun mikrobiom kulit. Taksonomi bakteri ini berkaitan dengan klasifikasi lingkungan mikro, yaitu lembab, kering, dan berminyak. Daerah yang berminyak, yaitu pada wajah, dada, dan punggung memiliki sebum yang bersifat hidrofobik untuk melubrikasi dan menghasilkan perlindungan antibakteri pada rambut dan kulit. Daerah lembab, yaitu pada lipatan siku dan lutut, serta pangkal paha, memiliki kelenjar keringat yang penting untuk termoregulasi melalui evaporasi air. Akibat perbedaan fisiologi pada lokasi kulit ini, maka mikrobiom normal dan patogen yang tumbuh juga berbeda. (Byrd AL et al., 2018)

Pada lokasi berminyak, mikroba yang mendominasi adalah spesies *Cutibacterium* *profundum*. Pada lokasi lembab, mikroba yang hidup adalah spesies *Staphylococcus* dan *Corynebacterium*, yaitu pada lipatan siku dan lutut. Berbeda dengan bakteri, komposisi jamur relatif serupa pada regio trunkus. *Malessezia* mendominasi regio trunkus dan ekstremitas superior, sedangkan regio ekstremitas inferior dikolonisasi oleh kombinasi spesies *Malessezia*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Epicoccum*, dan lainnya. Virus lebih bersifat individual dibandingkan menyesuaikan dengan lokasi anatomis. Meskipun begitu, mengidentifikasi virus spesifik cukup sulit. Selain bakteriofage yang berkaitan dengan spesies *Cutibacterium* dan *Staphylococcus*, tidak ada virom DNA inti yang pernah ditemukan pada

individu. Di antara seluruh mikrobiom, manusia cenderung dikolonisasi oleh berbagai jenis strain dari *Cutibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. Strain *S. epidermidis* memiliki spesifisitas lokasi. Pengetahuan ini bermanfaat untuk mengetahui apakah beberapa strain memiliki resistensi terhadap strain lainnya dalam spesies yang sama maupun terhadap spesies yang berbeda sebagai langkah yang penting dalam perkembangan terapi mikrobiom. Mikrobiom kulit merupakan mikrobiom yang cukup stabil pada studi selama 2 tahun dengan komunitas bakteri dan fungi pada lokasi berminyak menjadi yang paling stabil. Mikrobiom pada kaki merupakan mikrobiom yang paling tidak stabil, mungkin karena keberadaan jamur di lingkungan. Dibandingkan lingkungan yang lebih kaya akan nutrisi di saluran pencernaan, kulit memiliki sedikit nutrisi di samping protein dan lipid dasar. Untuk hidup dalam lingkungan yang dingin, asam, dan kering, Mikrobiom kulit memiliki kemampuan adaptif untuk menggunakan bahan yang terdapat di keringat, sebum, dan stratum korneum. (Byrd AL et al., 2018)

Bakteri anaerob fakultatif, *C. Acnes* dapat hidup pada kelenjar sebum yang anoksik dengan menggunakan protease untuk melepaskan arginin dari protein kulit dan lipase untuk mendegradasi lipid di sebum. Selanjutnya terjadi pelepasan *free fatty acid* (FFA) yang memungkinkan penempelan bakteri. *Malessezia* dan *Corynebacterium* menggunakan lipid dan stratum korneum karena tidak dapat memproduksi lipid sendiri. *Corynebacterium* spp. Menggunakan lipid ini untuk memproduksi asam

korinmikolik sehingga dapat melapisi permukaan selnya. *Staphylococcus* spp. Memiliki kemampuan halotoleran (mentoleransi tingginya garam pada keringat) dan menggunakan urea sebagai sumber nitrogen. Untuk dapat berkolonisasi, *Staphylococcus* spp. dapat memproduksi adherens dan protease yang membebaskan nutrisi dari stratum korneum. (Byrd AL et al., 2018)



Gambar 1. Ekosistem mikrobiom pada kulit normal di lapisan epidermis dan dermis.

2.2.2 Peranan Mikrobiom Pada Imunitas Kulit

Sistem imun bersama dengan mikrobiom memungkinkan hubungan komensal dan eliminasi patogen, Untuk bekerja secara optimal, mikrobiom

kulit, sel epitel, imun *innate* dan adaptif harus berkomunikasi secara efektif. Keratinosit dapat mengenali pola molekuler yang berhubungan dengan patogen (PAMPs) melalui *pattern recognition receptor* (PRRs). Ikatan antara PAMPs dan PRRs memicu respon imun *innate*, menyebabkan sekresi peptida antimikroba untuk membunuh dan menginaktivasi berbagai mikroorganisme secara cepat. Sebagai pertahanan lini pertama, beberapa peptida antimikroba dihasilkan secara terus menerus, sedangkan peptida lainnya dapat dihasilkan sementara dan dikontrol oleh mikrobiom kulit. (Byrd AL et al., 2018)

Mikrobiom juga penting untuk melatih sistem imun. Saat masa pasca kelahiran, sistem imun masih belum matur sehingga memungkinkan kolonisasi mikroba tanpa menimbulkan respon inflamasi. Toleransi ini bergantung pada sel T regulatori. Setelah fase tolerogenik, berbagai mikroorganisme menunjukkan respon yang berbeda. Sebagai contoh, kolonisasi *S. epidermidis* dapat meningkatkan interleukin-1 α (IL-1 α), berfungsi agar sel T memproduksi sitokin yang berperan dalam pertahanan hospes dan inflamasi kulit. Dalam kondisi stabil, munculnya sel T efektor sebagai respon dari mikroorganisme kulit tidak menimbulkan reaksi klasik inflamasi, yang disebut dengan imunitas homeostatis. Mikrobiom yang berbeda dapat melatih aspek yang berbeda pada sistem imun untuk merespon paparan patogen di masa depan. Paparan terhadap berbagai jenis mikroba nonpatogenik pada awal kehidupan penting untuk

perkembangan sistem imun yang fungsional agar dapat merespon stimulus lingkungan dengan tepat. (Yu Y et al., 2020)

S. epidermidis sebagai bakteri yang mendominasi kulit manusia memiliki efek menguntungkan terhadap sistem imun kulit. Bakteri ini memiliki efek antiinflamasi melalui asam lipoteikoik yang dapat menghambat sinyal proinflamasi akibat rusaknya epitel. Produk bakteri mencegah inflamasi berlebih akibat kerusakan jaringan. *S. epidermidis* juga memiliki lipopeptida yang melindungi infeksi patogen dengan meningkatkan produksi peptida antimikroba (AMPs) pada keratinosit. Kolonisasi oleh *S. epidermidis* meningkatkan fungsi sel T CD8⁺ pada kulit melalui aktivasi sinyal IL-1. Proses ini meningkatkan regulasi produksi AMP di keratinosit, membatasi invasi patogen. Selain itu, sel T CD8⁺ juga mengekspresikan gen yang dapat meregulasi imun dan memperbaiki jaringan, sehingga memfasilitasi penyembuhan luka. Mikrobiom yang terletak di folikel rambut membuat diferensiasi sel T regulatori yang penting untuk diferensiasi sel punca dan terbentuknya toleransi imun terhadap mikroba komensal. (Yu Y et al., 2020)

2.2.3 Peranan Mikrobiom Pada Akne Vulgaris

Pengobatan akne vulgaris dengan menyeimbangkan mikrobiom sudah dilakukan sejak tahun 1930-an. Saat itu, Stokes dan Pillsbury menjelaskan bahwa bakteri acidophilus pada susu dapat berfungsi sebagai pengobatan dengan adanya efek inhibitori terhadap proses inflamasi pada aksis otak-pencernaan-kulit. Meskipun tren ini diterima secara luas, penelitian formal

belum dilakukan untuk membuktikan keefektifannya. Baru pada tahun 1961 uji klinis resmi pertama dan hubungannya dengan akne diterbitkan. Percobaan dilakukan oleh seorang dokter dari Union Memorial Hospital di Baltimore, bernama Robert H. Siver. Dr. Siver mengikuti 300 pasien yang menggunakan tablet probiotik oral yang tersedia secara komersial yang disebut "Latinex" (kombinasi dari *L. acidophilus* dan *bulgarikus*). Pemberian selama delapan hari berturut-turut diikuti dengan istirahat dua minggu dan kemudian meminum kembali memperlihatkan 80% pasien dengan akne mengalami perbaikan lesi terutama pada mereka yang memiliki lesi akne inflamasi, namun penelitian ini tidak memiliki kelompok plasebo untuk membandingkan hasil dan memiliki rejimen dosis probiotik yang tidak konvensional. Penelitian tersebut tetap menunjukkan hubungan yang menjanjikan antara keseimbangan flora usus dan akne. (Woo TE and Sibley CD, 2020)

Setelah penelitian Dr. Siver diterbitkan, peneliti lain menjadi tertarik pada korelasi antara probiotik oral dan akne. Pada tahun 1987, sebuah artikel Italia diterbitkan oleh Marchetti et al., yaitu 20 dari 40 pasien dengan akne diberi 250 mg oral *L. acidophilus* dan *Bifidobacterium bifidum* dikombinasi dengan terapi akne topikal. Subjek dalam kelompok studi menunjukkan kepatuhan yang lebih baik dengan rejimen antibiotik mereka selain melihat peningkatan hasil klinis pada akne mereka. Pada tahun 2001, investigasi serupa dilakukan di Rusia oleh Vokova et al. meneliti pengurangan kadar mikroflora bakteri pada pasien akne. Penelitian ini

menunjukkan perbaikan gejala klinis pada pasien yang mendapatkan terapi untuk mengurangi mikroflora pencernaan sebagai tambahan terapi konvensional akne. (Yu Y et al., 2020)

Penelitian terbaru terus mengkonfirmasi mengenai hasil tersebut. Pada tahun 2010, Kim dkk. Mengacak 36 subjek dengan akne untuk menerima laktoferin (protein susu dengan sifat anti-inflamasi, antimikroba) ditambahkan ke susu fermentasi yang mengandung probiotik (kelompok eksperimen) atau susu fermentasi dengan probiotik saja (kelompok kontrol). Setelah 12 minggu, kelompok eksperimen mengalami penurunan yang signifikan dalam jumlah lesi total (23,1%), jumlah lesi inflamasi (38,6%), tingkat akne (20,3%), dan kandungan sebum (31,1%) dibandingkan dengan kelompok kontrol. Kadar total lipid permukaan kulit berkurang pada kedua kelompok. Meskipun begitu, lipid utama, kadar triasilgliserol dan asam lemak bebas menurun pada kelompok eksperimen, sedangkan kadar yang berkurang pada kelompok plasebo hanya asam lemak bebas. Berkurangnya kadar triasilgliserol pada kelompok eksperimen berkorelasi dengan berkurangnya jumlah pada serum, jumlah lesi akne, dan derajat akne. (Yu Y et al., 2020)

Uji klinis tahun 2016 mengidentifikasi 57 pasien dengan ruam wajah papulopustular eritematosa yang sebelumnya didiagnosis sebagai akne, dermatitis seboroik, atau rosasea. Para peserta memulai diet vegetarian dan terapi standar yang sesuai untuk gangguan mereka, termasuk antibiotik, retinoid, atau steroid. 37 pasien dari pasien ini diacak untuk

menerima suplemen probiotik oral harian dengan *E. coli* Nissle. Didapatkan 89% pasien dengan akne, rosasea papulopustular, dan dermatitis seboroik merespon terhadap terapi *E. Coli* Nissle dengan perbaikan signifikan atau perbaikan penuh, dibandingkan hanya 56% pada terapi standar. Pasien yang diterapi dengan *E. coli* Nissle juga mengalami perbaikan kualitas hidup secara signifikan, dan tidak ditemukan adanya efek samping. Perbaikan signifikan berhubungan dengan peningkatan kadar IgA ke nilai normal pada serum, juga supresi sitokin proinflamasi IL-8. Pada kelompok yang diterapi dengan *E. coli* Nissle, terjadi perubahan mikrobiota kearah kelompok protektif, dengan dominasi bifidobacteria dan lactobacteria. Selain itu, flora patogenik yang terdeteksi berkurang dari 73% menjadi 14% pada kelompok eksperimen. Dengan semakin banyaknya bukti untuk peran probiotik sistemik dalam pengobatan akne, kemanjuran probiotik topikal juga menarik minat dan penyelidikan. Mirip dengan probiotik oral, penggunaan probiotik topikal sudah ada sejak awal 1900-an. Namun, uji klinis saat itu hanya memiliki jumlah sampel yang sedikit. Pada tahun 1999, Di Marzio dkk. meneliti efek *Streptococcus thermophilus* yang diformulasikan dalam krim probiotik topikal pada stratum korneum. Penelitian menunjukkan peningkatan kadar seramid secara signifikan. (Woo TE and Sibley CD, 2020)

Seramid adalah salah satu matriks lipid interseluler yang bersama-sama dengan matriks lipid lain membentuk lapisan multilamellar di dalam ruang interseluler di stratum korneum. Seramid merupakan penyusun

utama berkisar 43 – 46% dari total lipid. Matriks lipid ini sangat penting untuk menjaga fungsi kulit sebagai sawar yang efektif terhadap kehilangan air. Selain itu, matriks lipid berfungsi untuk menentukan sifat dari stratum korneum, sehingga memiliki peran penting untuk melawan kerusakan oleh lingkungan yang bisa mengganggu fungsi kulit. Seramid ditemukan rendah pada pasien dengan kulit tua, xerosis, dermatitis atopik, psoriasis, dan akne. Oleh karena itu, meningkatkan produksinya dapat berdampak signifikan terhadap gangguan ini. Marzio dkk melakukan studi in vivo dan in vitro di mana dia menambahkan bakteri *Streptococcus thermophilus* untuk kultur sel keratinosit manusia dan menemukan peningkatan produksi seramid. Dia percaya bahwa *S. thermophilus* memiliki sphingomyelinase, enzim yang menghidrolisis spingomielin menjadi seramid. (Woo TE and Sibley CD, 2020)

Banyak bakteri telah dilaporkan menghasilkan sphingomyelinase ekstraseluler termasuk genus *Bacillus*, *Listeria*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Chlamydia*, *Pseudomonas*, *Leptospira*, dan beberapa spesies *Helicobacter*. Meskipun enzim ini terutama berfungsi sebagai faktor virulensi bakteri, kemampuannya untuk meningkatkan produksi seramid dapat memberikan manfaat dalam mengobati penyakit kulit. Seramid tidak hanya berperan dalam permeabilitas air, tetapi juga berperan dalam sifat antimikroba dan anti-inflamasi kulit. (Woo TE and Sibley CD, 2020)

Probiotik topikal juga dapat membantu mengatasi akne yang disebabkan oleh stres. Diketahui bahwa akne dapat diperburuk karena

stres, terutama karena pelepasan zat kimia yang disebut zat P. Sebosit yang dirangsang oleh zat P menunjukkan tingkat sitokin proinflamasi yang lebih tinggi, seperti interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) *tumor necrosis factor-alpha* (TNF-alpha), dan proliferasi peroksisom mengaktifkan reseptor gamma (PRAR-gamma), dibandingkan dengan kontrol. Studi oleh Gueniche et al. pada tahun 2010, menggunakan *in vitro* dan uji klinis, telah menunjukkan bahwa dua bakteri, *Lactococcus ferment lysate* dan *Bifidobacterium longum*, dapat memperbaiki kondisi kulit inflamasi dengan menghambat substansi P. Sebagai tambahan untuk terapi akne saat ini, kedua bakteri ini dalam formulasi topikal dapat memberikan bantuan bagi individu yang menderita peradangan atau akne akibat stres yang tidak merespons metode pengobatan konvensional. (Woo TE and Sibley CD, 2020)

2.3 Lactococcus Ferment Lysate

Lactococcus lactis telah digunakan selama berabad-abad dalam fermentasi makanan seperti keju, yoghurt dan sejenisnya, sehingga secara umum diakui aman oleh *Food and Drug Administration* (FDA). Bakteri ini telah berkembang dari penemuan dan penggunaan awalnya terbatas pada fermentasi produk susu hingga aplikasi bioteknologi berkaitan dengan rekayasa genetik. Kelebihan dari bakteri ini ialah bersifat aman, memiliki sifat probiotik, tidak adanya badan inklusi dan endotoksin, teknologi sekresi ekstraseluler dan penampilan pada permukaan dan beragam pilihan

kloning dan vektor untuk ekspresi. Hal ini membuat *L. lactis* menjadi bakteri yang memiliki potensi menjanjikan sama seperti jenis bakteri atau ragi lain seperti *Escherichia coli*, *Salmonella cerevisiae* dan *Bacillus subtilis*. (Kimoto-Nira, 2018)

Pengembangan bakteri *L. lactis* sebagai terapi kulit merupakan bidang studi yang relatif baru. Misalnya, bakteriosin nisin secara topikal dari *Lactococcus lactis* dilaporkan mampu meredakan infeksi stafilocokus, seperti yang ditunjukkan untuk pengobatan mastitis selama menyusui. Penelitian mengenai efek probiotik yang diberikan secara topikal jarang dilakukan, namun pemberian melalui topikal memungkinkan konsentrasi yang lebih tinggi pada organ target dibandingkan dengan pemberian oral. Hasil awal menunjukkan perbaikan dari fungsi dinding kulit setelah pemberian *Lactococcus lactis* lysate. (Kimoto-Nira, 2018). Berdasarkan penelitian oleh Hausmann et.al, pemberian *Lactococcus ferment* lysate memiliki efek positif pada epidermis kulit. Pemberian *Lactococcus* dapat meningkatkan ekspresi filagrin hingga tiga kali lipat sehingga meningkatkan fungsi dinding dari kulit. Filagrin penting dalam pembentukan stratum korneum dan hidrasi kulit. Oleh karena itu, pemberian *Lactococcus ferment* lysate dapat mengoptimalkan hidrasi kulit sehingga cocok pada orang lanjut usia yang rentan terkena xerosis. Selain itu, emulsi *Lactococcus* juga berperan dalam menjaga pH pada kulit. *Lactococcus ferment* lysate juga menstimulasi ekspresi protein antimikroba pada kulit β -defensin-2. Protein

antimikroba ini sangat penting untuk menghambat patogen kulit seperti *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, dan *C. albicans*. (Anggraeni et al., n.d.)

Penelitian oleh Anggraeni et.al dilakukan dengan pemberian terapi probiotik (*Lactococcus lactis*) pada kasus akne vulgaris. Pasien dengan akne vulgaris diberi terapi tabir surya dan probiotik secara topikal selama 4 minggu dan kemudian dilakukan pemeriksaan swab untuk melihat jenis dan jumlah mikrobioma. Hasilnya tidak ditemukan kolonisasi *C. acnes* dan juga penurunan jumlah dan derajat keparahan lesi. Terapi yang sama kemudian dilanjutkan selama 4 minggu pada satu pasien dan ditemukan hasil yang sama disertai dengan perbaikan kondisi kulit wajah menjadi lebih lembab dan halus. Hal ini menunjukkan efek positif dari pemberian *Lactococcus ferment lysate* pada kulit wajah. (Anggraeni et al., n.d.)

2.4 Interleukin 10

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin antiinflamasi. Pada awalnya, IL-10 dideskripsikan sebagai produk hasil sel Th1 yang menghambat sintesis sitokin di sel Th1. Saat ini, IL-10 diketahui dihasilkan oleh makrofag, sel dendritik, sel B, dan berbagai subset CD4+ dan CD8+. Awalnya, IL-10 menunjukkan regulasi terhadap respon sel T, efek IL-10 terhadap fungsi sel T dan sel *natural killer* yang diketahui saat ini bersifat tidak langsung, yaitu dimediasi oleh efek IL-10 terhadap monosit makrofag. Oleh karena itu, IL-10 menghambat kompleks histokompatibilitas utama (MHC) kelas II dan ekspresi molekul kostimulatori B7-1/B7-2 pada monosit dan makrofag serta

membatasi produksi sitokin proinflamasi (termasuk IL-1 α dan β , IL-6, IL-12, IL-18, dan TNF- α) dan kemokin (MCP1, MCP5, RANTES, IL-8, IP-10, dan MIP-2). (Couper et al., 2008)

Peran lain yang cukup penting dari IL-10 adalah bahwa IL-10 memiliki mekanisme persinyalan autokrin di sel dendritik, sehingga menghambat produksi kemokin dan mencegah masuknya ke nodus limfatik. Selanjutnya, terjadi kegagalan rekrutmen dan stimulasi diferensiasi sel T naif Th-1. Walaupun demikian, IL-10 dapat bekerja secara langsung terhadap sel T CD4+, mencegah proliferasi dan produksi IL-12, IFN- γ , IL-4, IL-5, dan TNF- α . Dengan demikian, IL-10 dapat meregulasi respon Th1 dan Th2 *innate* dan adaptif dengan cara membatasi aktivasi sel T dan diferensiasi di nodus limfatik serta mensupresi respon proinflamasi pada jaringan, menyebabkan penurunan efek kontrol patogen dan/atau penurunan imunopatologi. (Couper et al., 2008)

Pada keadaan infeksi, IL-10 berperan sebagai immunoregulator kunci. Produksi IL-10 diketahui berhubungan dengan kurangnya kontrol patogen. Percobaan yang melakukan ablasi pada IL-10 atau menginhibisi persinyalan IL-10 menunjukkan kembalinya kontrol patogen dan pengurangan tingkat keparahan penyakit. Hal ini menunjukkan adanya korelasi langsung antara produksi IL-10 yang tidak sesuai dan tingkat keparahan penyakit. Berkebalikan dari itu, percobaan yang melakukan ablasi pada persinyalan IL-10 saat infeksi ringan dapat meningkatkan respon proinflamasi, meningkatkan kontrol patogen sehingga

memperparah imunopatologi. Oleh karena itu, keseimbangan dan waktu produksi IL-10 diperlukan untuk mencapai fungsi yang seharusnya. Infeksi membutuhkan respon inisial dari mekanisme proinflamasi untuk membunuh patogen. Selanjutnya, mekanisme tersebut harus di regulasi menurun oleh IL-10 sebelum terjadi kerusakan jaringan. (Couper et al., 2008)

Peran IL-10 pada akne vulgaris pernah dilakukan beberapa kali penelitian dan menunjukkan hasil yang berbeda. Sebuah studi in vivo menunjukkan level mRNA dari IL-10 di sekitar lesi akne lebih tinggi 46 kali lipat dibandingkan dengan kulit normal yang terdekat. Peningkatan sintesis IL-10 dianggap sebagai mekanisme umpan balik untuk menurunkan kondisi inflamasi. (Rahmayani et al., 2019b) Studi lain yang menilai level IL-10 melalui sel darah mononuklear perifer (PBMCs) menunjukkan bahwa setelah stimulasi oleh *C. acnes*, sekresi IL-10 menurun pada pasien akne dibandingkan kontrol. Kadar IL-10 sebagai respon dari lipopolisakarida juga lebih rendah pada pasien akne dibandingkan kontrol. Studi tersebut juga menilai adanya peningkatan regulasi sitokin proinflamasi, terutama TNF- α dan IL-8. Seiring dengan penambahan IL-10 eksogen ke kultur PBMCs, terjadi penurunan regulasi sitokin-sitokin tersebut. (Caillon et al., 2010) Sebuah penelitian yang dilakukan di Indonesia menunjukkan IL-10 yang berperan dalam patogenesis akne dan tingkat keparahan akne. Studi tersebut menunjukkan kadar serum rata-rata IL-10 pada subjek yang sehat lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan subjek akne vulgaris. Di antara subjek dengan akne vulgaris, kadar serum rata-rata IL-10 paling

tinggi ditemukan pada akne derajat ringan, diikuti dengan akne derajat sedang dan akne derajat berat. (Rahmayani et al., 2019a)

Selain itu *Lactococcus ferment lysate* dapat meningkatkan kadar protein β -defensin-2. β -defensin-2 sudah disinggung sebelumnya berperan penting dalam respon imun innate dimana memberikan proteksi terhadap patogen invasif seperti bakteri, virus, fungi. Selain itu, protein ini berperan dalam mengaktivasi sistem imun dengan modulasi jalur signalling dan respon inflamasi. β -defensin-2 memiliki efek terhadap IL-10 dimana dapat meningkatkan kadar IL-10 ketika terjadi respon inflamasi pada kulit. (Couper et al., 2008)

2.5 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) merupakan pemeriksaan imunologi yang sensitif dan spesifik untuk mendeteksi dan mengukur suatu zat tertentu, termasuk antibodi, antigen, protein, glikoprotein, dan hormon. Pemeriksaan imunologi tersebut dilakukan dengan mengkomplekskan antibodi dan antigen sehingga menghasilkan nilai yang dapat diukur. Antibodi adalah protein yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh seseorang. Jenis protein ini memiliki daerah spesifik yang berikatan dengan antigen. Sedangkan antigen adalah protein yang dapat berasal dari beberapa sumber asing, yang apabila terikat pada antibodi, antigen akan menginduksi serangkaian peristiwa melalui sistem kekebalan tubuh. Interaksi ini digunakan dalam pengujian ELISA dan memungkinkan untuk

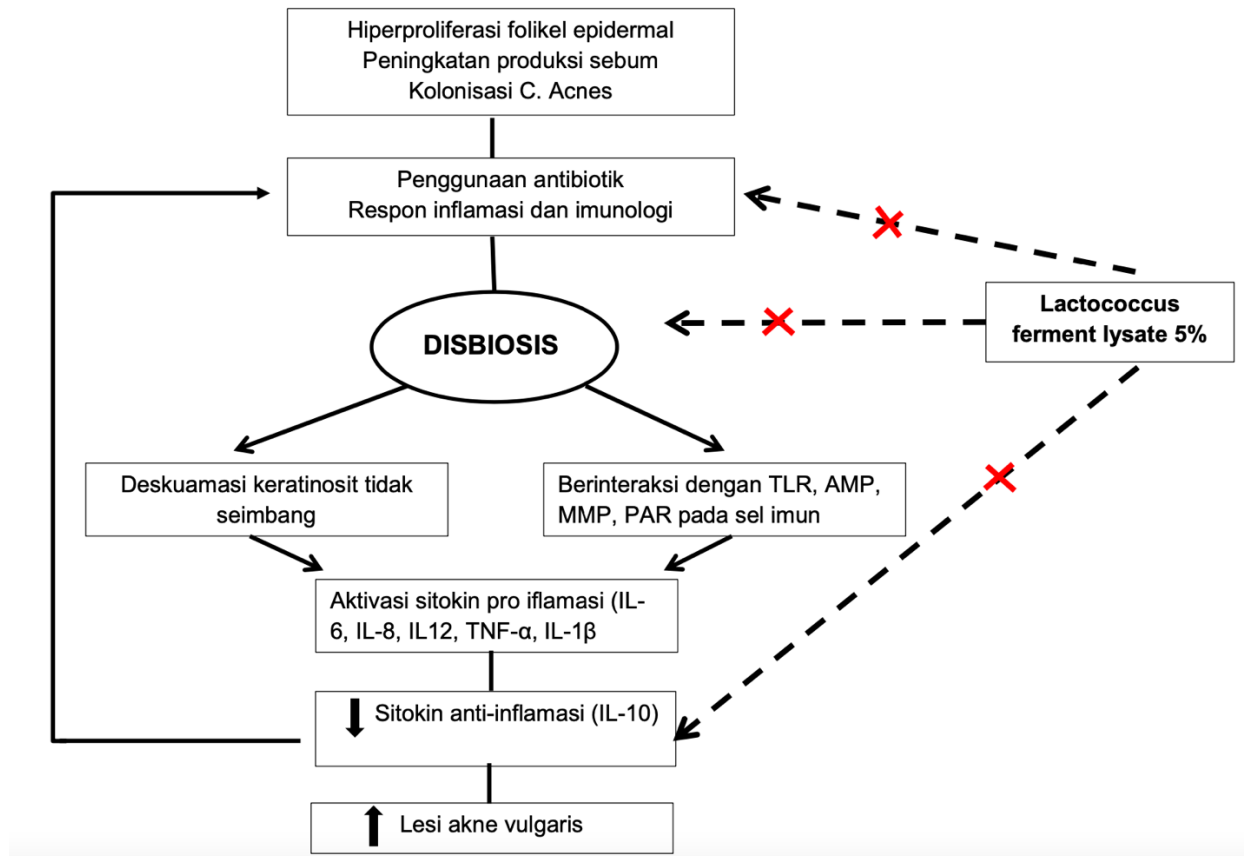
mengidentifikasi antibodi dan antigen protein spesifik dengan hanya menggunakan sejumlah kecil sampel uji. (Yunus M et al, 2020).

Pengujian IL-10 menggunakan teknik sandwich ELISA. Disebut “*sandwich*” karena antigen diapit di antara dua antibodi. Sebuah antibodi monoklonal spesifik untuk IL-10 telah dilapisi sebelumnya ke *plate* mikro. Kemudian, standar dan sampel dipipet ke dalam *plate* dan setiap IL-10 yang ada akan diikat oleh antibodi. Setelah zat yang tidak terikat di cuci, antibodi monoklonal spesifik untuk IL-10 manusia ditambahkan ke *plate*. Setelah itu dicuci kembali untuk menghilangkan antibodi-enzim yang tidak terikat. Kemudian sebuah larutan substrat ditambahkan ke *plate* dan akan muncul warna yang kecerahannya sebanding dengan jumlah IL-10 yang terikat pada tahap awal. Setelah warna tidak berubah, intensitas warna diukur. (Konstantinou, 2017).



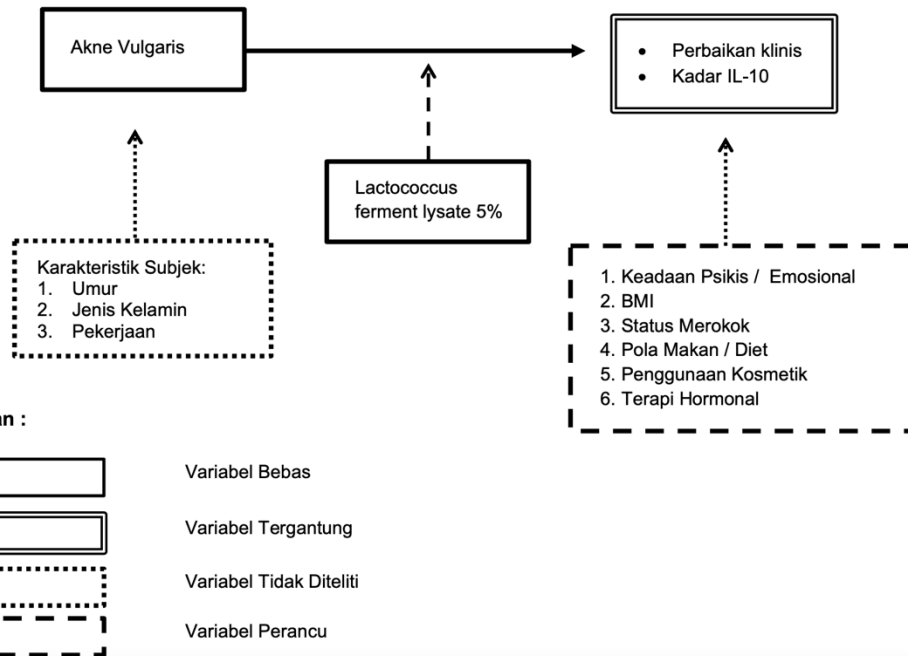
Gambar 2. ELISA Reader. Thermo Scientific™ Multiskan™ FC Microplate
Photometer

2.6 Kerangka Teori



Gambar 3. Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 4. Kerangka konsep