

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Dermatitis atopik (DA) disebut juga dengan eksim yaitu suatu kelainan inflamasi kulit kronik dan residif yang merupakan penyebab signifikan morbiditas, penurunan nilai kualitas hidup, psikologis, dan beban ekonomi. Kelainan ini terutama terjadi pada bayi dan anak tetapi dapat menetap atau bahkan dimulai saat dewasa. Ditandai gejala kardinal yaitu pruritus berat dan lesi eksema yang memiliki spektrum klinis bervariasi mulai derajat penyakit ringan hingga berat dengan morfologi yang khas serta predileksi lesi sesuai umur. Prevalensi DA meningkat cepat pada beberapa dekade terakhir akibat industrialisasi. Studi epidemiologi menunjukkan prevalensi DA pada anak-anak berkisar 0,2-24,6% dan DA pada dewasa kira-kira 1-3% (Karim et al, 2019).

Saat ini, terapi utama, terutama untuk flare pada DA adalah kortikosteroid topikal (TCS) dan tacrolimus. Namun, penggunaan TCS jangka panjang dapat memberikan efek samping sistemik seperti penekanan fungsi adrenal dan efek samping lokal seperti atrofi kulit, dilatasi kapiler, jerawat steroid, pembilasan steroid, trikopsis, perkembangan mikroba/jamur, dan infeksi kulit akibat virus dapat terjadi pada beberapa kasus. Jika TCS dihentikan secara tiba-tiba, eritema dan edema dapat memburuk. Sedangkan penggunaan tacrolimus dapat menyebabkan efek samping lokal seperti sensasi terbakar, pruritus, dan eritema. Selain itu, adanya penyakit infeksi pada kulit, seperti infeksi kulit sekunder akibat bakteri dan infeksi virus (misalnya herpes simpleks, moluskum contagiosum, dan verruca), harus dipertimbangkan. Tacrolimus juga dapat dideteksi dalam darah setelah aplikasi topikal. Meskipun tidak ada efek samping sistemik atau toksisitas yang terkait dengan transfer darah yang telah dikonfirmasi. Dengan demikian, terapi alternatif yang memiliki sedikit atau tidak ada efek samping dengan penggunaan jangka Panjang sangat dibutuhkan (Kato et al, 2020).

Komposisi mikrobiota kulit juga mengalami perubahan drastis sebagai akibat dari terapi kortikosteroid. Bahkan, selama eksaserbasi flare atopik, kulit menunjukkan berkurangnya flora bakteri yang secara bertahap terisi kembali sebagai akibat dari terapi kortikosteroid (Fanfaret, I. et al., 2021).

Pada penelitian ini menggunakan mikrobiom yang mengandung *Lactobacillus plantarum* sebagai terapi untuk pasien DA dengan meningkatkan kadar seramid dan sebum di kulit. Pada DA terjadi disfungsi sawar epidermis yang dapat



a bakteri di kulit. Stratum korneum terdiri dari sel-sel mati dan berperan dalam permeabilitas epidermis. Lipid penting dari adalah asam lemak bebas (FFA), seramid, dan kolesterol. an pembawa linoleat yang berfungsi sebagai penghalang air dan seramide pada pasien DA biasanya rendah sehingga la kulit berkurang yang mengakibatkan peningkatan kehilangan Kim, J. E. and Kim, H. S., 2019).

Jumlah seramid dalam stratum korneum diatur oleh keseimbangan antara enzim penghasil seramid termasuk *serine-palmitoyltransferase*, *sphingomyelinase* (SMase), *β -glukocerebrosidase* dan enzim degradatif *ceramidase*. Pada dermatitis atopik terjadi perubahan metabolisme sphingomyelin dan sphingomyelinase (SMase) pada kulit pasien yang telah dikaitkan dengan kekurangan fungsi SMase dan ekspresi abnormal paralel SM asilase. Laporan terbaru menunjukkan bahwa kulit pasien dengan dermatitis atopik dikolonisasi oleh sejumlah bakteri yang mengeluarkan *ceramidase* (yaitu, *Pseudomonas aeruginosa* dan/atau strain terkait) sehingga dapat menurunkan kadar seramid pada kulit (Marzio, et al, 1999 dan Marzio et al, 2008).

Sebum adalah zat berminyak dan lilin yang disekresikan oleh kelenjar sebaceous kulit, Sebum berperan juga dalam pembentukan barier kulit, proses peradangan kulit, dan pertahanan anti-mikroba. Adanya kerusakan barier kulit pada dermatitis atopik memungkinkan terjadinya penurunan produksi sebum pada dermatitis atopik meskipun proses spesifiknya belum diketahui. (Agrawal K, 2018)

Probiotik adalah mikroorganisme hidup yang dapat memberikan dampak baik pada kesehatan jika diberikan pada seseorang dalam jumlah yang cukup. Mikroorganisme yang paling dikenal sebagai probiotik adalah bakteri yang berasal dari famili *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, dan *Streptococcus (thermophilus, lactis)*. Beberapa studi melaporkan peran probiotik oral dapat mencegah dan mengurangi risiko dermatitis atopi, juga meringankan gejala klinis dermatitis atopi (Sie, M., Ling, S. and Kurniawan, M., 2021). Salah satu strain mikroorganisme yang banyak diteliti efeknya pada kulit adalah *Lactobacillus plantarum*. Pemberian *L. plantarum* berkontribusi dalam memperbaiki kerusakan barier kulit dan mempersingkat periode inflamasi (Salaran, M. et al., 2019).

Namun, sampai saat ini sepengetahuan penulis belum ada penelitian mengenai penggunaan probiotik topikal *L. plantarum* pada DA. Efek probiotik ini diharapkan dapat memberikan perbaikan klinis melalui mekanisme perbaikan fungsi sawar kulit dengan meningkatkan kadar seramid dan produksi sebum pada pasien DA. Oleh karena itu, berdasarkan permasalahan serta peluang pengembangan terapi yang ada pada pasien DA, peneliti ingin meneliti mengenai efektivitas mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* terhadap kadar seramid dan produksi sebum pada dermatitis atopik.

1.2 Teori

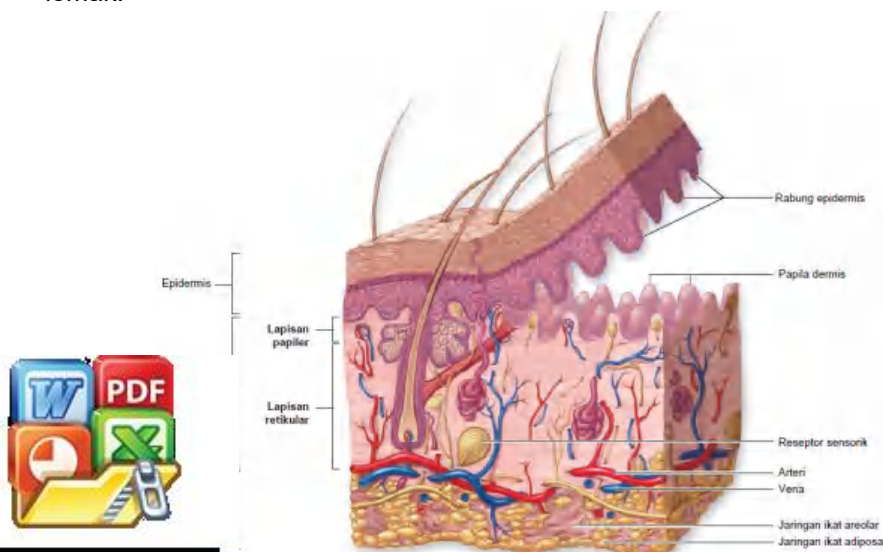
1.2.1. Struktur kulit

Kulit adalah organ yang biasanya membentuk 15% sampai 20% berat badan orang dewasa, memiliki luas permukaan sebesar 1.5-2 m² yang berbatasan dengan dunia luar. Selain dikenal sebagai integumen (*L. integumentum*), lapisan kutaneus, kulit terdiri atas epidermis, yaitu lapisan epitel terluar, dermis, dan hipodermis. Dermis, suatu lapisan jaringan ikat yang berbatasan dengan epidermis dan hipodermis, dan tonjolan dermis yang menonjol ke epidermis yang disebut papila dermalis yang berfungsi untuk mengunci dengan evaginasi epidermis yang disebut papila epidermalis.



epidermal ridges (rigi epidermis) untuk memperkuat adhesi dari dua lapisan. Dibawah dermis terdapat jaringan subkutan atau hipodermis, yaitu jaringan ikat longgar yang dapat mengandung bantalan adiposit. Jaringan subkutan mengikat kulit secara longgar pada jaringan di bawahnya dan sesuai dengan fasia superfisial pada anatomi makro. Adapun kulit memiliki fungsi spesifik yaitu sebagai berikut (Junqueira edisi 14., 2015) :

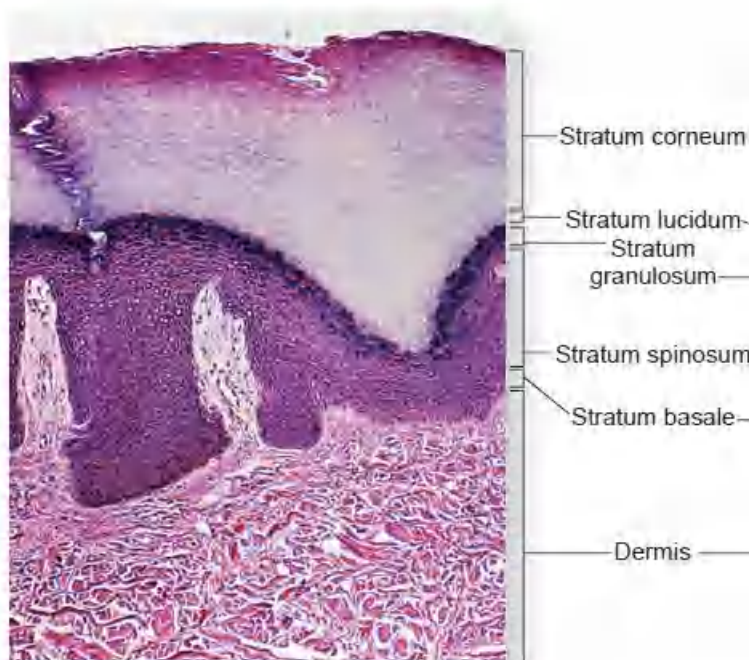
- **Protektif:** Kulit menjadi pelindung fisik terhadap rangsang termal dan mekanis seperti gesekan dan patogen potensial dan materi lain. Mikroorganisme yang menembusi kulit memberi peringatan limfosit dan sel penyaji-antigen di kulit (APCs) dan respon imun meningkat. Pigmen melanin gelap di epidermis melindungi sel dari radiasi ultraviolet (UV). Kulit juga merupakan sawar permeable terhadap kehilangan atau ambilan air yang berlebihan, yang memungkinkan kehidupan di bumi. Permeabilitas kulit selektif memungkinkan sejumlah obat lipofilik seperti hormon steroid tertentu dan obat-
- **Obatan** yang diberikan melalui skin patch.
- **Sensorik:** Banyak tipe reseptor sensorik memungkinkan kulit mengenali lingkungan dan berbagai mekanoreseptor kulit membantu mengatur interaksi tubuh dengan objek fisik.
- **Termoregulatorik:** Temperatur tubuh yang konstan normalnya lebih mudah dipertahankan berkat komponen insulator kulit (misalnya, lapisan lemak dan rambut di kepala) dan mekanismenya untuk mempercepat pengeluaran panas (produksi keringat dan mikrovaskular superfisial yang padat).
- **Metabolik:** Sel kulit menyintesis vitamin D3, yang diperlukan pada metabolisme kalsium dan pembentukan tulang secara tepat, melalui kerja sinar UV setempat pada prekursor vitamin ini. Kelebihan elektrolit dapat dihilangkan melalui keringat dan lapisan subkutan menyimpan sejumlah energi dalam bentuk lemak.



Gambar 1. Struktur Anatom Kulit (Junqueira edisi 14., 2015)



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).



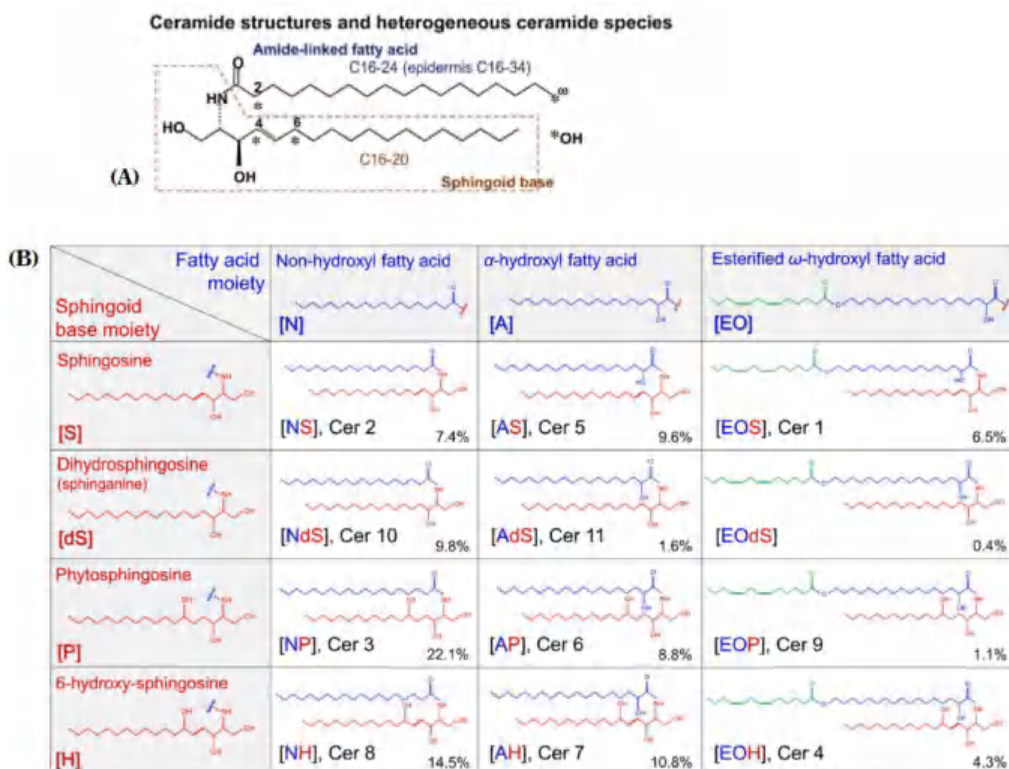
Gambar 2. Lapisan epidermis di kulit tebal dan perkiraan ukuran bentuk keratinosit pada tiap lapisan (Junqueira edisi 14., 2015)

1.2.2 Seramid

Barier permeabilitas epidermis terlokalisasi dalam matriks ekstraseluler yang terdiri dari lamellae yang diperkaya dalam seramid, asam lemak bebas/ *free fatty acid* (FFA) dan kolesterol. Komponen lipid utama adalah seramid, terhitung sekitar 50% dari total massa lipid stratum korneum (SC). Seramid terdiri dari dasar sfinoid/*sphingoid base* (SB) dan asam lemak/*fatty acid* (FA). Ada empat kelompok SB yaitu *sphingosine* (S), *dihydrosphingosine* (dS), *phytosphingosine* (P), and *6-hydroxy sphinaosine* (H) dan untuk kompenen FA terdiri atas 4 kelompok yaitu *acid* (N), *α-hydroxy fatty acid* (A), and *esterified ω-hydroxy fatty* membentuk 12 kelas seramid utama (Toncic R.J. *et al.*, 2020). rmasuk kedalam kelas sphingolipid yang merupakan struktur semua sphingolipids, seperti glycosphingolipids dan ds. Sementara menjadi konstituen kecil membran seluler, mponen lipid utama (bersama dengan kolesterol, asam lemak



bebas, dan komponen minor lainnya) dari ruang antar sel stratum korneum yang membentuk penghalang permeabilitas epidermis. seramid juga berfungsi sebagai modulator lipid untuk mengatur fungsi seluler, termasuk penangkapan siklus sel, diferensiasi, dan apoptosis, dan telah ditunjukkan bahwa perubahan metabolisme seramid juga menyebabkan penyakit tertentu (Uchida, Y. and Park, K. (2021). Sintesis seramid terjadi melalui empat jalur utama di epidermis: (1) de novo pathway, (2) sphingomyelinase pathway, (3) salvage pathway, and (4) exogenous ceramide recycling pathway (Bhattacharya N. *et al.*, 2020)



Gambar 3. Struktur dan Tata Nama Seramid. (a) Seramida terdiri dari sphingoid base (SB) dan asam lemak (FA). (b) Kelas seramid yang berbeda ditunjuk dengan kombinasi singkatan (Tonic R.J. *et al.*, 2020)

1.2.3 Sebum

Sebum adalah zat berminyak dan lilin yang disekresikan oleh kelenjar sebaceous kulit, dan mewakili salah satu dari dua sekresi kulit utama (yang lainnya leskipun sebum disekresikan ke seluruh tubuh (kecuali telapak < kaki), produksi sebum paling menonjol di dahi, hidung, dan it "zona-t" wajah) , di mana kepadatan kelenjar sebaceous gi. Namun, tempat lain seperti pipi dan tubuh bagian atas juga adatan kelenjar sebaceous yang tinggi (dan karena itu ah sebum yang cukup besar), dan secara umum, kepadatan s menurun ke arah ekstremitas tubuh. Fungsi spesifik sebum



belum sepenuhnya dijelaskan, tetapi komposisi sebum menunjukkan bahwa sebum berperan dalam pembentukan barier kulit, proses peradangan kulit, dan pertahanan anti-mikroba. Perubahan dalam jumlah relatif komponen sebum ini dikaitkan dengan berbagai penyakit kulit seperti jerawat, rosacea papulopustular, dermatitis atopik dan dermatitis seboroik, meskipun mekanisme spesifik yang menjelaskan peran sebum pada penyakit ini belum dapat dijelaskan. (Agrawal K, 2018)

1.2.4 Dermatitis atopik

a. Definisi dan epidemiologi

Dermatitis atopik (eksim atopik, DA) adalah penyakit kulit inflamasi terutama dimulai pada masa kanak-kanak dengan perjalanan alami yang bervariasi. Gatal adalah gejala khas penyakit ini, sering pada kasus yang parah pasien tak henti-hentinya menggaruk, dan menyebabkan gangguan tidur dan kulit yang terkelupas dan rentan terhadap infeksi (Kang S, 2019). Sebagian besar DA didapatkan pada pasien dengan diatesis atopik. Diatesis atopik yaitu riwayat pribadi atau keluarga yang meliputi asma bronkial, konjungtivitis, dan rinitis. (Indraprasta, et al., 2016)

Sejak tahun 1960-an, telah terjadi peningkatan prevalensi DA lebih dari tiga kali lipat. DA merupakan masalah kesehatan masyarakat utama di seluruh dunia, dengan prevalensi pada anak-anak sebesar 10% hingga 20% di Amerika Serikat, Eropa Utara dan Barat, Afrika perkotaan, Jepang, Australia, dan negara-negara industri lainnya.³ Rasio perempuan dan laki-laki secara keseluruhan sebesar 1,3 banding 1,0 (Kang S, 2019)

b. Etiologi

Dermatitis atopik memiliki etiologi yang kompleks yaitu faktor genetik dan lingkungan yang menyebabkan kelainan pada epidermis dan sistem kekebalan tubuh. Jika salah satu orang tua mengalami atopik, ada lebih dari 50% kemungkinan keturunannya akan mengalami gejala atopik. Jika kedua orang tua terkena, sekitar 80% keturunan akan terpengaruh. Makanan, bahan kimia dan aeroalergen seperti serbuk sari, jamur, tungau dan bulu binatang juga berperan dalam patogenesis dan eksaserbasi dermatitis atopik pada 10% hingga 30% pasien. Pasien dengan DA rentan terhadap berbagai infeksi seperti *S.aureus* dan infeksi virus herpes simpleks yang dapat memperburuk keadaan pasien dermatitis atopik. Selain itu studi terbaru menunjukkan bahwa mungkin ada hubungan antara merokok dan onset AD pada dewasa Cheng et al., 2021).



is

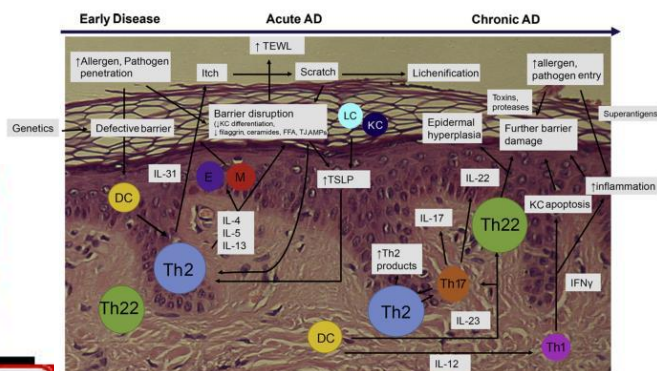
sis DA belum diketahui secara pasti, namun secara umum adalah interaksi kompleks gangguan fungsi sawar kulit, kelainan genetik, dan faktor-faktor lain termasuk keadaan lingkungan (Kang S, 2019).

1. Faktor genetik

Alergen makanan dapat menjadi pemicu utama DA pada awal kehidupan, setelah itu peran aeroallergens lingkungan menjadi lebih penting dan dapat dikaitkan dengan sensitasi respirasi. Mode pewarisan dan gen yang terlibat tidak jelas. Filaggrin merupakan protein penting yang berikatan dengan keratin yang terkait dengan diferensiasi keratinosit, penting untuk menjaga integritas sawar kulit. Terdapat penurunan produksi filaggrin karena defek genetik yang menyebabkan disfungsi sawar kulit dan hilangnya air transepidermal yang menyebabkan eksim. Hal ini menyebabkan peningkatan penetrasi alergen ke dalam kulit kemudian mengakibatkan sensitisasi alergi, asma, dan hayfever (Kakkar, et al., 2019).

2. Imunologi

Barrier kulit yang rusak memungkinkan penetrasi alergen atau patogen, kemudian mengaktifkan sel dendritik (DC) untuk menginduksi proliferasi Th2. Sel-sel Th2 menghasilkan sitokin yang mengganggu ekspresi protein struktural dan mengganggu produksi lipid, menghasilkan gangguan barrier lebih lanjut dan mengurangi hidrasi kulit pada lesi akut. Sel mast (M) dan eosinofil (E) yang diaktifkan oleh sitokin Th2 melepaskan histamin yang berkontribusi terhadap pruritus dan inflamasi. IL-31 yang merupakan sitokin Th2 berkontribusi terhadap timbulnya pruritus yang melanggengkan gangguan barrier. Keratinosit teraktivasi (KC) menginduksi ekspresi limfopoietin stroma timus (TSLP) sehingga memperkuat respon Th2. Pada penyakit kronis respon Th2 yang intensif berkontribusi terhadap terjadinya hiperplasia lapisan epidermis dan disfungsi barrier yang berlanjut. Aktivasi interferon (IFN)- γ yang memproduksi sel Th1 menghasilkan peningkatan inflamasi, apoptosis KC, dan kerusakan sawar kulit. Pada DA kronis, barrier yang lemah memungkinkan alergen atau penetrasi patogen yang berkelanjutan dan kerusakan kulit secara langsung, serta secara tidak langsung melalui aktivasi imunitas. AMP : antimikroba peptida; FFA : asam lemak bebas; LC : sel Langerhans; TJ : *Tight Junction* (Malik, K, et al., 2017).



ambar 4. Patofisiologi Dermatitis Atopik (Malik, K, et al., 2017)



3. Disfungsi sawar kulit

Epidermis berfungsi sebagai pertahanan utama dan bertindak sebagai biosensor bagi lingkungan eksternal. Kelainan pada sawar kulit mendorong masuknya patogen, alergen, dan lingkungan lainnya yang mudah (toksin, iritan, dan polutan) dan sekarang dianggap sebagai mekanisme utama terjadinya DA. Selain itu agen infeksi yang paling sering terlibat dalam DA adalah staphylococcus aureus, yang terdapat pada 90% penderita DA. Fungsi sawar kulit terganggu pada DA akibat dari berbagai kelainan yang menyebabkan defek sawar termasuk berkurangnya lipid (mis., seramid dan sphingosine). Secara klinis fungsi sawar kulit terganggu pada kulit atopik menyebabkan peningkatan kehilangan air transepidermal dan peningkatan penetrasi iritasi, alergen, dan mikroba (Kakkar, et al., 2019).

4. Alergen

Faktor eksogen, terutama alergen hirup (debu rumah, tungau debu rumah) berperan penting pada terjadinya DA. Alergen hirup lainnya yang sering memengaruhi adalah human dander, animal dander, molds, grasses, trees, ragweed, dan pollen. Beberapa penelitian membuktikan peningkatan kadar IgE spesifik (IgE RAST) terhadap tungau debu rumah (*D. pteronyssinus*) lebih tinggi pada pasien DA dibandingkan dengan kondisi lain (OR>20). Kadar IgE spesifik meningkat terhadap debu rumah, bulu anjing, bulu kucing, bulu kuda, dan jamur. Hasil uji tempel terhadap alergen tungau debu rumah menginduksi perubahan histopatologik berupa pembentukan infiltrat selular yang diperantarai sel T (Th-2) serta ditemukan eosinofil dan basofil. Bukti lain adalah berkurangnya reaksi alergi bila menghindari alergen. Penelitian Ridhawati Muchtar tahun 2000 di Divisi Kulit Anak, Poliklinik Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSCM, pada 20 DA anak kelompok usia 4-7 tahun didapatkan hasil uji tusuk terhadap TDR positif pada 14 (70%) DA anak, dan uji atopik patch test (APT) positif pada 10 (50%) DA anak, IgE spesifik terhadap TDR positif pada 12 (60%) DA anak (Boediardja, 2016).

d. SCORAD (SCORing Atopic Dermatitis)

Singkatan SCORAD diusulkan oleh Arnold Oranje, dan merupakan singkatan dari *SCORing Atopic Dermatitis*. Dalam literatur ilmiah, keparahan klinis telah dievaluasi menggunakan *Scoring Atopic Dermatitis Index* (SCORAD), yang dikembangkan oleh *European Task Force on Atopic FAD* untuk membuat konsensus tentang metode penilaian (nifico, I. et al., 2020).



European Task Force on Atopic Dermatitis membuat suatu indeks erajat dermatitis atopik, dikenal dengan istilah SCORAD (*Score Atopic Dermatitis*). SCORAD dapat menilai derajat keparahan inflamasi dengan menilai (A) luas luka, (B) tanda-tanda inflamasi, dan (C) tingkat aktivitas (Keluhan gatal dan gangguan tidur). Tanda inflamasi yaitu

eritema, indurasi, ekskoriiasi, papul, dan likenifikasi. Eritema adalah kemerahan kulit karena pelebaran pembuluh pembuluh darah. Indurasi adalah pengerasan, misalnya tentang jaringan pembuluh darah. Indurasi adalah pengerasan, misalnya tentang jaringan. (Evina, B., 2015).

1. **Luas luka (A)** diukur dengan menggunakan *the rule of nine* dengan skala penilaian 0-100. **Tanda-tanda inflamasi (B)** pada SCORAD terdiri dari 6 kriteria: eritema, edema/papul, ekskoriiasi, likenifikasi, krusta, dan kulit kering yang masing- masing dinilai dari skala 0-3. **Gejala subjektif (C)** terdiri dari pruritus dan gangguan tidur yang masing-masing dinilai dengan *visual analogue scale* dari skala 0-10 sehingga skor maksimum untuk bagian ini adalah 20. Formula SCORAD yaitu $A/5 + 7B/2 + C$. Pada formula ini A adalah luas luka (0-100), B adalah intensitas (0-18), dan C adalah gejala subjektif (0-20). Skor maksimal SCORAD adalah 10 (Evina, B., 2015).

$$\text{Rumus SCORAD} = A/5 + 7B/2 + C$$

Keterangan :

A : adalah jumlah luas permukaan kulit yang terkena dermatitis atopik di luar kulit kering dengan mengikuti rule of nine dengan jumlah skor tertinggi kategori A adalah 100.

B : adalah jumlah dari 6 kriteria inflamasi yaitu eritema/kemerahan, edema/papul/gelembung yang melepuh, oozing/krusta, ekskoriiasi, likenifikasi/berkerak/bersisik, keringan kulit, semua mempunyai nilai masing-masing berskala 0-3 (0 = tidak ada, 1 = ringan, 2 = sedang, 3 = berat), jumlah skor tertinggi kategori B ini adalah 18.

C : adalah jumlah dari nilai gatal dan gangguan tidur dengan skala 0 – 10 dengan jumlah skor tertinggi kategori C adalah 20

Berdasarkan dari penilaian SCORAD dermatitis atopik digolongkan menjadi beberapa derajat keparahan :

- a. Dermatitis atopik ringan (skor SCORAD <15): perubahan warna kulit menjadi kemerahan, kulit kering yang ringan, gatal ringan, tidak ada infeksi sekunder.
- b. Dermatitis atopik sedang (skor SCORAD antara 15–40): kulit kemerahan, infeksi kulit ringan atau sedang, gatal, gangguan tidur, dan likenifikasi.
- c. Dermatitis atopik berat (skor SCORAD >40): kemerahan kulit, gatal, asi, gangguan tidur, dan infeksi kulit yang semuanya berat. (Evina, B., 2015).



SCORAD EUROPEAN TASK FORCE ON ATOPIC DERMATITIS		INSTITUTION	
Last Name		PHYSICIAN	
First Name		Topical Steroid used: Potency (brand name) _____ Amount / Month _____ (6) Number of flares / Month _____	
Date of Birth:	DD/MM/YY		
Date of Visit:			

Figures in parenthesis
for children under two years

A: EXTENT : Please indicate the area involved																
B: INTENSITY		C: SUBJECTIVE SYMPTOMS PRURITUS+SLEEP LOSS														
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>CRITERIA</th> <th>INTENSITY</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Erythema</td><td></td></tr> <tr><td>Edema/Papulation</td><td></td></tr> <tr><td>Oozing/crust</td><td></td></tr> <tr><td>Excoriation</td><td></td></tr> <tr><td>Lichenification</td><td></td></tr> <tr><td>Dryness</td><td>☒</td></tr> </tbody> </table>	CRITERIA	INTENSITY	Erythema		Edema/Papulation		Oozing/crust		Excoriation		Lichenification		Dryness	☒	MEANS OF CALCULATION INTENSITY ITEMS (average representative area) 0= absence 1= mild 2= moderate 3= severe * Dryness is evaluated on uninvolved areas	_____ SCORAD $A/5+7B/2+C$ _____
CRITERIA	INTENSITY															
Erythema																
Edema/Papulation																
Oozing/crust																
Excoriation																
Lichenification																
Dryness	☒															
Visual analog scale (average for the last 3 days or nights)	PRURITUS (0to10) _____ SLEEP LOSS (0to10) _____	10														
TREATMENT:																
REMARKS:																

Gambar 5. Indeks SCORAD (Evina, B., 2015)

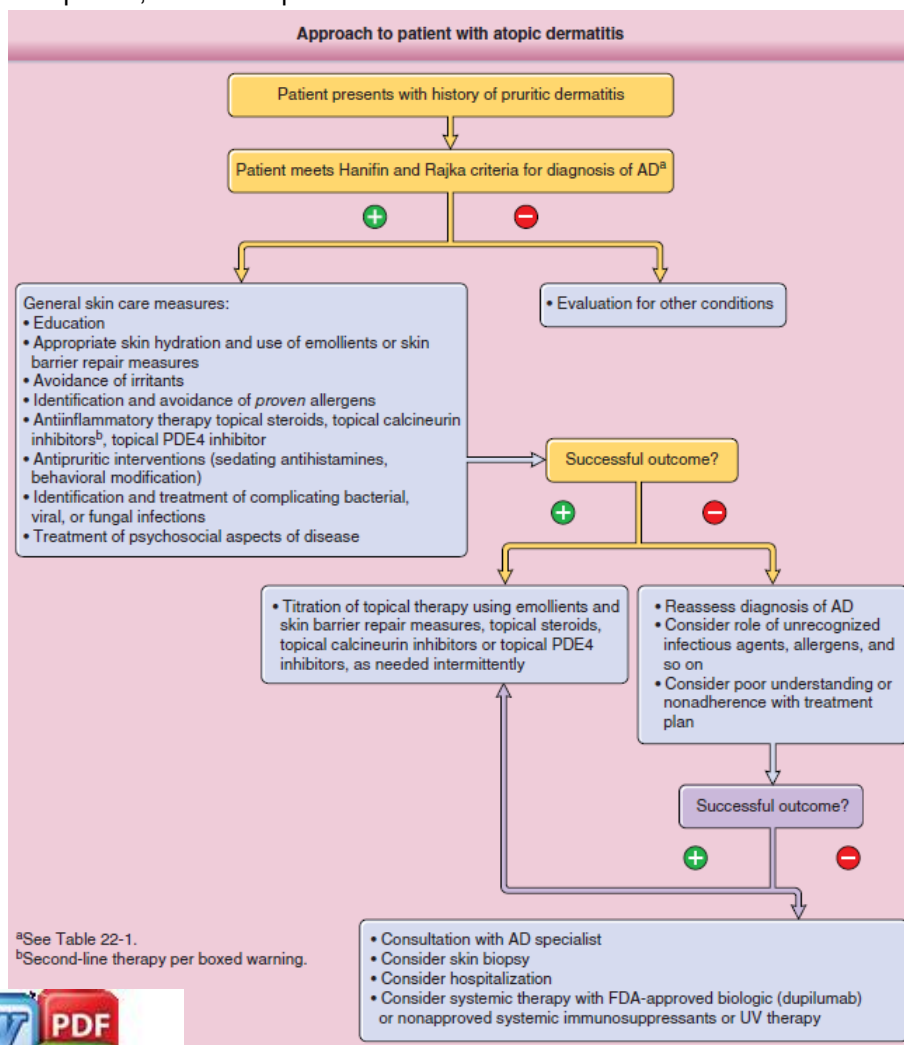
e. Tatalaksana



pasti DA masih belum diketahui dengan pasti, oleh karena itu masih bersifat simtomatik. Sampai saat ini penatalaksanaan untuk mengurangi tanda dan gejala penyakit danurangi kekambuhan. Tatalaksana DA ditekankan padaurangi gatal seperti penggunaan pelembab, obat anti inflamasi topical, inhibitor kalsineurium topical serta menghindari faktor-

faktor pencetus. Tidak ada satupun regimen pengobatan yang ideal untuk semua pasien DA (Lestari W., 2018).

1. Terapi topikal : melakukan hidrasi kulit dengan memberikan pelembab akan berfungsi memperbaiki barrier kulit, mengganti lipid epidermal yang abnormal dan memberikan hidrasi kulit.
2. Terapi anti inflamasi topikal : krim betametason valerat 0,1% dan inhibitor kalsineuriun (salap tacrolimus 0,03% dan krim pimecrolimus 1%)
3. Identifikasi dan eliminasi faktor penyebab seperti stress,bahan allergen spesifik,infeksi dan pruritus



ambar 6. Alur tatalaksana Dermatitis Atopik (Fitzpatrick edisi ke-9)

: Sinar matahari alami sering bermanfaat bagi pasien dengan n, jika sinar matahari terjadi dalam pengaturan panas atau n tinggi, sehingga memicu keringat dan pruritus dan merugikan



pasien. *Broad band UVB*, *broad band UVA*, *narrow band UVB* (311 nm), UVA-1 (340 hingga 400 nm), dan fototerapi UVAB gabungan dapat menjadi tambahan yang berguna dalam pengobatan DA. Investigasi mekanisme fotoimmunologic yang bertanggung jawab untuk efektivitas terapeutik menunjukkan bahwa LCs epidermal dan eosinofil mungkin menjadi target fototerapi UVA, dengan dan tanpa psoralen, tetapi UVB memberikan efek immunosupresif melalui pemblokiran fungsi LC penyajian antigen dan produksi sitokin keratinosit yang berubah. Photochemotherapy dengan psoralen dan sinar UVA dapat diindikasikan pada pasien dengan DA yang parah dan tersebar luas, meskipun penelitian yang membandingkannya dengan mode fototerapi lainnya terbatas. Efek samping jangka pendek dengan fototerapi mungkin termasuk eritema, nyeri kulit, pruritus, dan pigmentasi. Efek samping jangka panjang termasuk penuaan kulit prematur dan keganasan kulit (Fitzpatrick edisi ke-9).

1.2.5 *Lactobacillus plantarum*

Genus lactobacilli sangat beragam yang mendukung mereka untuk menempati berbagai habitat ekologis, termasuk lingkungan yang kaya karbohidrat daging fermentasi, substrat yang berasal dari tanaman, di dalam tubuh manusia yaitu gastrointestinal dan urogenital. Karena efek menguntungkan yang ditawarkan oleh lactobacilli, mereka telah digunakan sebagai standar emas dalam persiapan probiotik. Akibatnya, banyak strain lactobacilli seperti *Lactobacillus acidophilus*, *L. amylovorus*, *L. brevis*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. fermentum*, *L. lactis*, *L. pentosus*, dan *L. rhamnosus* telah ditandai dengan baik karena kemampuan mereka untuk menghasilkan protein ekstraseluler, exopolysaccharides, dan asam lipoteichoic, yang mempengaruhi kesehatan dan fisiologi inang dengan berinteraksi dengan sel epitel dan meningkatkan sistem kekebalan inang (Suryavanshi *et al.*, 2017).

Dari berbagai spesies *Lactobacillus*, *Lactobacillus plantarum*, organisme yang ditemukan di berbagai lingkungan ekologis, adalah spesies probiotik yang ditandai dengan baik. Analisis genom terbaru dari *Lactobacillus plantarum* menunjukkan bahwa organisme memiliki kemampuan untuk bertahan hidup di lingkungan saluran pencernaan (Suryavanshi *et al.*, 2017).

Peran *Lactobacillus plantarum* sebagai pencegahan diare, penurunan kolesterol, pengurangan gejala IBS. Serta memiliki kemampuan untuk menghasilkan plantaricins, yang merupakan bakteriosin. Bakteriosin ini dapat diaplikasikan dalam aspek medis, kedokteran hewan, dan makanan (Seddik.,



ebiotik dan postbiotik

sis pada DA membuat munculnya konsep modulasi selektif flora obati DA. Flora normal dapat dinormalisasi menggunakan pro, John SA., et al, 2022).

b. Prebiotik

Gibson dan Roberfroid memperkenalkan konsep prebiotik pada tahun 1995. Baru-baru ini, prebiotik telah didefinisikan sebagai "substrat yang secara selektif digunakan oleh mikroorganisme inang yang memberikan manfaat kesehatan." Definisi baru ini memungkinkan dimasukkannya zat dan aplikasi non-karbohidrat di situs tubuh selain saluran pencernaan. Definisi ini juga berlaku untuk prebiotik untuk penggunaan hewan (Gibson et al. 2017). Prebiotik adalah polisakarida nondigestible seperti oligosakarida, fructans (fructooligosaccharides, inulin) dan galactooligosaccharides yang dapat ditemukan dalam banyak produk alami dan bahan makanan dan tercantum dalam Tabel 2. Fermentasi bakteri karbohidrat prebiotik menghasilkan produksi asam lemak rantai pendek (SCFA) seperti asam butirat, asam asetat atau asam propionat. Prebiotik dan SCFA sangat penting untuk kesehatan usus, merangsang sistem kekebalan tubuh, dapat menjadi sumber energi untuk mikrobiota usus, dan memiliki sifat antagonis terhadap bakteri usus yang merugikan. Selain itu, banyak penelitian eksperimental telah membuktikan bahwa prebiotik dapat membantu mengurangi keparahan penyakit tertentu seperti gangguan mental, diabetes, sindrom *irritable bowel syndrome* (IBS), penyakit menular dan mengurangi risiko kanker usus besar (Chudzik, A. et al. 2021).

Tabel 2. Sumber Prebiotik (Chudzik, A. et al. 2021)

Prebiotik	Sumber
Fructooligosaccharides (FOS)	Asparagus, artichoke Yerusalem, sawi putih, tanaman agave biru, gandum, bawang putih, bawang merah
Inulin	Chicory, artichoke Yerusalem, bawang putih, asparagus, bawang merah, yacon
Galactooligosaccharides (GOS)	Susu, miju-miju, ramuan <i>Lycopus lucidus</i>
Xylooligosaccharide (XOS)	Rebung, madu, susu, nasi, tongkol jagung
Mannooligosaccharides (MOS)	Produk inti sawit
Pati resisten	Biji-bijian sereal, biji-bijian, kacang-kacangan, buah-buahan dan sayuran.
Soybean-oligosaccharide (SOS)	Kedelai
Poliose	Susu



komponennya yang memberikan manfaat kesehatan pada inangnya. Untuk memberikan definisi yang jelas, panel ahli telah mendefinisikan ruang lingkup postbiotik sebagai sel mikroba yang sengaja dinonaktifkan, dengan atau tanpa metabolit atau komponen sel, yang berkontribusi terhadap manfaat kesehatan yang ditunjukkan. Mekanisme potensial untuk mediasi efek kesehatan oleh postbiotik mirip dengan probiotik dan termasuk peningkatan fungsi penghalang epitel, modulasi host-mikrobiota, modulasi respon imun, modulasi metabolisme sistemik dan sinyal melalui sistem saraf (Chudzik *et al.*, 2021).

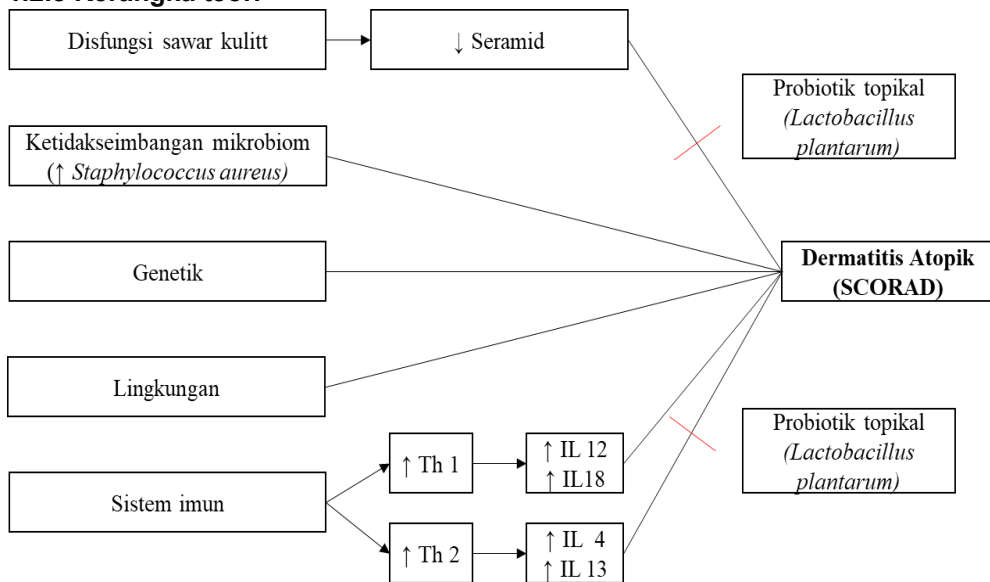
1.2.7 Probiotik topikal

Pada DA, penggunaan probiotik topikal pada beberapa penelitian telah menunjukkan manfaat pada kulit, seperti meningkatkan seramid kulit, mengurangi eritema, skuama dan pruritus, serta menurunkan konsentrasi patogen *S. aureus*. Namun, saat ini *Food and Drugs Administration* (FDA) belum memiliki regulasi terhadap produk probiotik topikal serta belum ada produk topikal tersebut yang disetujui oleh FDA. Terdapat studi eksperimental yang meneliti efek krim yang mengandung asam laktat bakteri *Streptococcus thermophilus* (yang sudah dilakukan proses sonikasi sebelumnya) terhadap pasien DA. Aplikasi krim selama 2 minggu pada lengan bawah menunjukkan peningkatan yang signifikan dan relevan jumlah seramid kulit. Studi prospektif juga meneliti efek krim yang mengandung 5% lysate dari bakteri non patogen *Vitreoscilla filiformis* selama 30 hari pada 75 sukarelawan DA. Kelompok tersebut menunjukkan perbaikan gejala DA (John SA., et al, 2022).

Blanchet-Réthoré et al (2017) melakukan penelitian untuk mengevaluasi penggunaan lotion yang mengandung 0,3% HT La1 lotion dengan metode swab dan scrub wash yang digabungkan dengan kultur kuantitatif dan *quantitative polymerase chain reaction* (qPCR) pada pasien dengan DA. Hasil menunjukkan setelah 3 minggu (2 kali sehari penggunaan), lotion HT La1 secara signifikan menurunkan kolonisasi *S. aureus* dan menunjukkan perbaikan klinis lokal menurut SCORAD dibandingkan dengan lesi kontralateral yang tidak diberikan perlakuan. Selain itu, terdapat sebuah percobaan yang menggunakan *Roseomonas mucosa* (*R. mucosa*) untuk pengobatan DA pada sepuluh orang dewasa dan lima pasien anak-anak. Penelitian ini menggunakan solusi sukrosa yang berisi *Roseomonas mucosa* yang diaplikasikan secara topikal dua kali seminggu selama 6 minggu, diikuti oleh 4 minggu fase washout. Pengobatan *R. mucosa* dikaitkan dengan penurunan signifikan dalam keparahan penyakit, kebutuhan steroid topikal, dan beban *S. aureus* tanpa adanya efek samping atau komplikasi (John SA., et al.,

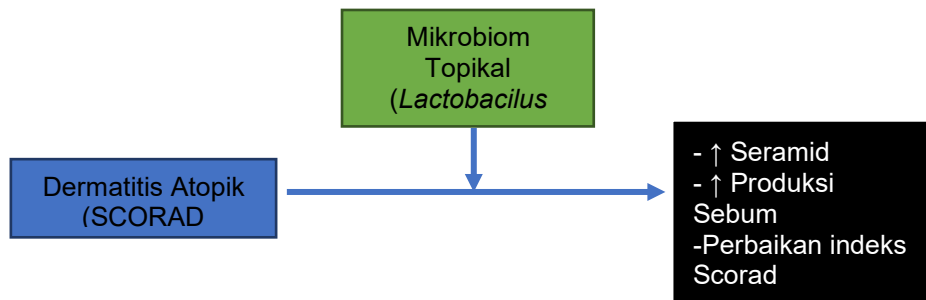


1.2.8 Kerangka teori



Gambar 7. Kerangka Teori

1.2.9 Kerangka konsep



[Blue box] : Variabel Kontrol

[Green box] : Variabel Bebas

[Black box] : Variabel Terikat



Gambar 8. Kerangka Konsep

1.3 Rumusan masalah

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

- a. Apakah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat meningkatkan kadar seramid pada dermatitis atopik ?
- b. Apakah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat meningkatkan produksi sebum pada dermatitis atopik ?
- c. Apakah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* dapat menurunkan indeks *Scoring Atopic Dermatitis* (SCORAD) pada dermatitis atopik ?

1.4 Tujuan penelitian

1.4.1 Tujuan umum

Menilai efektifitas mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum* pada dermatitis atopik.

1.4.2 Tujuan khusus

1. Untuk mengetahui peningkatan kadar seramid pada dermatitis atopik setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.
2. Untuk mengetahui peningkatan produksi sebum pada dermatitis atopik setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.
3. Untuk mengetahui penurunan indeks *Scoring Atopic Dermatitis* (SCORAD) pada dermatitis atopik setelah pemberian mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.

1.5 Hipotesis penelitian

- a. Mikrobiom topikal *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan peningkatan kadar seramid pada dermatitis atopik.
- b. Mikrobiom topikal *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan peningkatan produksi sebum pada dermatitis atopik.
- c. Mikrobiom topikal *Lactobacillus plantarum* dapat memberikan penurunan indeks *Scoring Atopic Dermatitis* (SCORAD) pada dermatitis atopik.

1.6 Manfaat penelitian

1.6.1 Manfaat teoritik



penelitian ini dapat digunakan untuk menjadi bahan acuan dalam penanganan kasus dermatitis atopik.

efektifitas penggunaan probiotik topikal terhadap dermatitis atopik.

menambah pengetahuan terhadap agen baru yang dapat digunakan dalam penanganan dermatitis atopik.

1.6.2 Manfaat metodologi

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber rujukan bagi peneliti selanjutnya yang ingin meneliti tentang efektifitas mikrobiom pada dermatitis atopik

1.6.3 Manfaat aplikatif

- a. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk meningkatkan pelayanan masyarakat dalam penanganan kasus dermatitis atopik.
- b. Pasien mendapatkan tambahan obat yang diaplikasikan untuk dermatitis atopik



BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Design penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian experimental dengan desain uji coba dengan kontrol yang diacak atau *randomised controlled trial* (RCT). Pengukuran variabel dilakukan sebelum dan setelah perlakuan. Penelitian ini juga menggunakan pendekatan *double blind*.

2.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo, RSP Universitas Hasanuddin dan RS Jejaring Makassar dengan diagnosa Dermatitis Atopik pada Desember 2022 hingga jumlah sampel tercukupi. Pengukuran kadar seramid dilakukan di Unit Laboratorium Penelitian Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin dengan metode *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) dan pengukuran produksi sebum di Poli Kulit dan Kelamin Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin dengan menggunakan Sebumeter.

2.3 Populasi penelitian

Penelitian ini akan dilakukan pada individu yang berusia antara 6-18 tahun dengan diagnosa Dermatitis Atopik. Seluruh subjek / wali subjek yang berpartisipasi wajib memberikan *informed consent* tertulis sebelum penelitian dilakukan.

2.4 Sampel penelitian

Sampel penelitian adalah individu yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang terbagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

2.5 Jumlah sampel

Perkiraan jumlah sampel penelitian akan mengacu pada hasil studi preliminari untuk menghitung besar sampel sesungguhnya. Studi preliminari dilakukan untuk menilai standar deviasi yang kemudian akan dirumuskan dalam formula uji hipotesis rerata dua populasi berpasangan (Sastroasmoro dan Ismael, 2011).

Pada besar sampel minimal diperkirakan menggunakan rumus berikut:

$$n_1 = n_2 = \frac{(u+v)^2 \times (\sigma^2_1 + \sigma^2_0)}{(\mu_1 - \mu_0)^2}$$



Penjelasan:

jumlah sampel

simpang baku dari rerata selisih (standar deviasi)

selisih rerata kedua kelompok yang bermakna

nilai standar deviasi alfa (1.96) untuk $\alpha = 0.05$

nilai standar deviasi beta (0.842) untuk power 80%

rumus perhitungan sebagai berikut:

$$n_1 = n_2 = \frac{(u+v)^2 \times (\sigma^2_1 + \sigma^2_0)}{(\mu_1 - \mu_0)^2}$$

$$n_1 = n_2 = \frac{(0.842+0.05)^2 \times (5.02^2 + 2.55^2)^2}{2.2^2}$$

$$n_1 = n_2 = \frac{(0.892)^2 \times (82.64 + 46.24)^2}{2.2^2}$$

$$n_1 = n_2 = \frac{(0.892)^2 \times (128.88)}{4.84}$$

$$n_1 = n_2 = 21.187$$

Berdasarkan nilai parameter diatas, maka besar sampel minimal yang dibutuhkan untuk masing-masing kelompok adalah minimal 22 sampel.

2.6 Kriteria sampel

2.6.1 Kriteria inklusi

- Penderita riwayat dermatitis atopik dengan dasar Kriteria William untuk mendiagnosa pasien dermatitis atopik.
- Penderita dermatitis atopik berusia 6-18 tahun.
- Penderita dermatitis atopik yang dalam keadaan tenang (tidak ada keluhan gatal) dengan riwayat pengobatan minimal sejak 2 bulan terakhir baik sistemik maupun topikal.
- Penderita bersedia untuk mengikuti pemeriksaan dan pengobatan sesuai dengan ketentuan penelitian dan mengikuti jadwal waktu kontrol sesuai dengan rencana penelitian.
- Bersedia ikut serta dengan penelitian ini sampai selesai dengan menandatangani formulir *informed consent*.
- Penderita bersedia mengikuti penelitian sesuai dengan petunjuk / persyaratan yang telah ditentukan dan tidak akan menuntut bila timbul efek samping yang tidak diinginkan.

2.6.2 Kriteria eksklusi

- Penderita yang menolak untuk berpartisipasi dalam penelitian'
- Penderita yang memiliki penyakit kulit lainnya.
- Penderita yang sedang menjalani pengobatan lainnya.
- Penderita dengan tanda-tanda infeksi (WBC > 10.000/uL)

2.6.3 Kriteria drop out

Drop out yaitu kriteria yang apabila dijumpai menyebabkan objek tidak dapat melanjutkan sebagai sample dalam penelitian. *Kriteria drop out* pada penelitian ini sebagai berikut:

- Penderita yang menolak melanjutkan berpartisipasi / tidak datang kontrol.
ang memiliki penyakit kulit lainnya selama penelitian
ang mendapatkan terapi lainnya selama penelitian



dan kelayakan etik

penelitian akan diberikan informasi mengenai tujuan, manfaat, samping yang dapat terjadi pada studi ini. Peserta harus lembar persetujuan (*informed consent*) sebagai tanda

persetujuan mengikuti penelitian ini. Persetujuan kelaikan etik diberikan oleh Komisi Etik Penelitian Biomedis pada manusia Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan dilakukan sesuai dengan pedoman:

- Standards and Operational Guidance for Ethics Review of Health-Related Research with Human Participants Geneva: World Health Organization; 2011
- International Ethical Guidelines for Health-related Research Involving Humans, Fourth Edition. Geneva. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS 2016)
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.11 Tahun 2017 tentang Keselamatan Pasien.

2.8 Alat dan bahan

Alat yang digunakan adalah :

1. Lembar informasi penelitian
2. Lembar persetujuan penelitian
3. ATK
4. Tabung Eppendorf 2 ml
5. *D100 – D – Squame Standard Sampling Disc*
6. *Human Ceramide, CER BT Lab Kit*
7. Sebumeter

Bahan yang digunakan adalah:

1. Lotion yang mengandung probiotik *Lactobacillus plantarum* sebanyak 1000 cfu/gr yang dibuat bekerjasama dengan laboratorium biofarmaka, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.
2. Lotion kontrol yang tidak mengandung probiotik *Lactobacillus plantarum* yang dibuat bekerjasama dengan laboratorium biofarmaka, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

2.9 Prosedur penelitian

2.9.1 Persiapan lotion

Pembuatan lotion diawali dengan kultur bakteri *Lactobacillus plantarum*, diikuti dengan proses identifikasi yang lebih rinci. Setelah dikonfirmasi, bakteri LP diperbanyak hingga konsentrasi standar McFarland 0,5, dan verifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa kultur yang diperbanyak benar-benar merupakan bakteri *Lactobacillus plantarum*, hal ini dilakukan di Pusat Laboratorium Kesehatan Masyarakat Besar di Makassar. Selanjutnya, bakteri *Lactobacillus plantarum* diformulasikan menjadi lotion. Lotion yang mengandung probiotik (1000 CFU/g LP) yang tidak mengandung probiotik, dikembangkan di Laboratorium Farmasi, Universitas Hasanuddin.



Tempel penelitian

mendapatkan izin untuk melakukan penelitian dari Departemen Ginekologi dan Venereologi, FKUH.

2. Rancangan penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian FKUH untuk mendapatkan persetujuan etik.

2.9.3 Rekrutmen subjek

Subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diminta kesediaannya untuk mengikuti penelitian. Subjek diberikan penjelasan mengenai tujuan, prosedur, dan risiko efek samping yang dapat terjadi. Subjek atau wali subek menyatakan kesediaannya secara tertulis dengan membaca dan menandatangani lembar *informed consent*.

2.9.4 Teknis pelaksanaan

a. Kunjungan pertama sebagai *Baseline*

Subjek / wali subjek yang bersedia mengikuti penelitian telah menandatangani lembar *informed consent*. Subjek diperiksa secara menyeluruh melalui anamnesis dan pemeriksaan fisik untuk diagnosa dan untuk menilai apakah penderita masuk dalam kriteria inklusi penelitian. Pasien dilakukan penilaian indeks SCORAD dan dilakukan pemeriksaan darah rutin untuk eksklusi jika ditemukan adanya tanda infeksi yaitu dengan $WBC > 10.000/uL$. Kemudian dilakukan pengambilan sampel kulit untuk pemeriksaan seramid dengan cara menggunkan *D-squame disc* (tape stripping) yang ditempelkan pada daerah flexor lengan bawah, dengan jarak 2 cm di bawah fossa cubiti dan pemeriksaan sebum dengan menggunakan sebumeter pada jarak 2 cm di bawah fossa cubiti. Kemudian pada flexor lengan bawah kiri pasien di berikan lotion yang mengandung mikrobiom topikal *Lactobacillus plantarum* dan lotion kontrol yang tidak mengandung mikrobiom topikal *Lactobacillus plantarum* pada lengan bawah kanan subjek. Dioleskan sebanyak 0,3 ml dan dilakukan setiap hari, di pagi dan sore hari

b. Kunjungan Kontrol

Pasien dilakukan pemeriksaan produksi sebum dan pengambilan sampel kerokan kulit kembali pada akhir minggu ke-2 dan pada akhir minggu ke-4 dilakukan penilaian indeks SCORAD pemeriksaan produksi sebum dan pengambilan sampel kerokan kulit.

2.9.5 Pemeriksaan kadar seramid dengan *Human Ceramide ELISA kit*

1.3 Alat dan bahan

- Standard Solution (480ng/ml)
- Standard Diluent
- Streptavidin-HRP
- Stop Solution A
- Stop Solution B
- Buffer Concentrate (25x)
- Purified Human CER Antibody
- 37°C incubator
- Whatman filter paper
- 100 µl pipettes
- Disposable pipette tips
- Wash buffer tubes

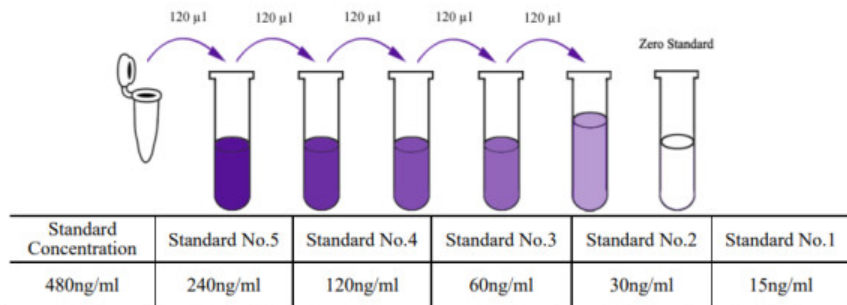


- Deionized / distilled water
- Microplate reader with $450 \pm 10\text{nm}$ wavelength filter

1.4 Cara kerja

a. Persiapan reagen

- Semua reagen harus dibawa ke suhu kamar sebelum digunakan
- Standar disusun kembali $120\mu\text{l}$ standar (480ng/ml) dengan $120\mu\text{l}$ pengencer standar untuk menghasilkan larutan stok standar 240ng/ml . Standar dibiarkan selama 15 menit dengan agitasi lembut sebelum pengenceran dibuat. {oin standar duplikat disiapkan dengan larutan stok standar diencerkan (240ng/ml) secara berurutan 1:2 dengan pengencer standar untuk menghasilkan larutan 120ng/ml , 60ng/ml , 30ng/ml dan 15ng/ml . Pengencer standar berfungsi sebagai standar nol (0ng/ml).



Gambar 9. Persiapan Reagen

- *Wash Buffer Concentrate 25x* diencerkan 20ml ke dalam air deionisasi atau suling untuk menghasilkan 500 ml 1x *Wash Buffer*. Jika kristal terbentuk dalam konsentrat, aduk perlahan sampai kristal benar-benar larut.
- #### 2. Prosedur pemeriksaan
- Semua reagen disiapkan, larutan standar dan sampel. Semua reagen dibawa ke suhu kamar
 - Jumlah strip yang diperlukan ditentukan untuk pengujian. Strip dimasukkan ke dalam bingkai untuk digunakan. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$.
 - Ditambahkan standar $50\mu\text{l}$ ke sumur standar. Catatan: Jangan tambahkan antibodi terbiotinilasi ke sumur standar karena larutan standar mengandung antibodi terbiotinilasi.

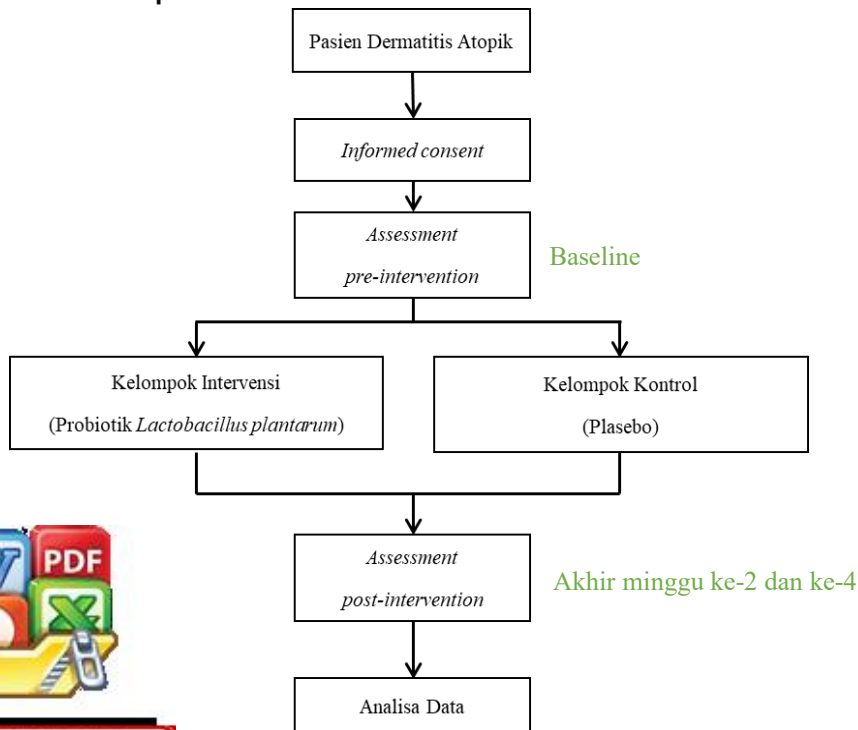


ambahkan $40\mu\text{l}$ sampel ke sumur sampel dan kemudian tambahkan $10\mu\text{l}$ antibodi anti-CER ke sumur sampel, lalu tambahkan $50\mu\text{l}$ streptavidin-HRP ke sumur sampel dan sumur standar (Bukan sumur kontrol kosong). Dicampurkan dengan baik. ditutupi dengan sealer. Diinkubasi selama 60 menit pada suhu 37°C .

- Sealer dilepas dan piring dicuci 5 kali dengan wash buffer. Sumur direndam dengan buffer pencuci 300ul selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian. Untuk pencucian otomatis, diaspirasi atau dituang masing-masing dan dicuci 5 kali dengan wash buffer. Piring di blot ke handuk kertas atau bahan penyerap lainnya.
 - Ditambahkan 50µl larutan substrat A ke setiap sumur dan kemudian ditambahkan 50µl larutan substrat B ke setiap sumur. Plate yang ditutup dengan sealer baru diinkubasi selama 10 menit pada suhu 37°C dalam gelap.
 - Ditambahkan 50µl stop Solution ke masing-masing sumur, warna biru akan segera berubah menjadi kuning.
 - Ditentukan segera kerapatan optik (nilai OD) setiap sumur menggunakan pembaca lempeng mikro yang disetel ke 450 nm dalam waktu 10 menit setelah larutan penghenti ditambahkan.
3. Perhitungan Hasil

Kurva standar dibuat dengan memplot rata-rata OD untuk setiap standar pada sumbu vertikal (Y) terhadap konsentrasi pada sumbu horizontal (X) dan kurva yang paling sesuai digambar melalui titik-titik pada gambar grafik. Perhitungan ini paling baik dilakukan dengan perangkat lunak kurva berbasis komputer dan garis paling pas dapat ditentukan dengan analisis regresi.

2.10 Skema alur penelitian



Gambar 10. Alur Penelitian



2.11 Identifikasi variabel

1. Variabel bebas : Lotion Mikrobiom topikal yang mengandung *Lactobacillus plantarum*.
2. Variabel kontrol : Subjek penelitian dalam kondisi kulit tenang (tidak ada keluhan gatal) dengan riwayat berobat terakhir minimal 2 bulan sebelumnya.
3. Variabel terikat : peningkatan kadar seramid dan produksi sebum, serta penurunan indeks SCORAD pada penderita dermatitis atopik

2.12 Definisi operasional

Bertujuan untuk memudahkan pelaksanaan dan membatasi penelitian, maka dibuat definisi operasional sebagai berikut :

a. Umur

Definisi : Lamanya penderita hidup, sejak dilahirkan sampai sekarang yang dinyatakan dalam satuan tahun. Umur dalam penelitian ini adalah umur berdasarkan pada akta kelahiran/kartu keluarga.

Alat Ukur : Autoanamnesis dan akta kelahiran/kartu keluarga.

Kriteria Objektif : Berupa data numerik kontinyu yang dinyatakan dalam tahun

b. Jenis kelamin

Definisi : Perbedaan bentuk, sifat, dan fungsi biologis pada tubuh manusia.

Alat Ukur : Rekam medis dan akta kelahiran/kartu keluarga.

Kriteria Objektif : Berupa data kategorik nominal yaitu:

1. Laki-laki
2. Perempuan

c. Dermatitis Atopik

Definisi : Pasien yang didiagnosis DA berdasarkan anamnesis dan pemeriksaan fisik, yaitu yang memenuhi gejala mayor dan 3 atau lebih gejala minor dari kriteria DA William.

- Kriteria mayor (gejala pruritus kronis pada kulit)
- Kriteria minor
 - o Riwayat dermatitis pada area fleksural seperti siku, fossa popliteal, regio ankle anterior, dan leher (termasuk ruam pipi pada anak usia <10 tahun).
 - o Riwayat asma, rhinitis alergi, atau riwayat penyakit atopi pada anak <4 tahun pada first degree relatives.
 - o Riwayat kulit kering generalisata.
 - o Terlihat dermatitis fleksural yaitu dermatitis pada pipi/dahi dan tungkai anak <4 tahun.



- Onset ruam terjadi sebelum usia 2 tahun pada pasien yang berusia >4 tahun.

Alat ukur : Anamnesis dan Pemeriksaan fisik
 Kriteria Objektif : Berupa data kategorik nominal yaitu:
 1. Ya
 2. Tidak

d. Kadar seramid

Definisi : Seramid adalah komponen lipid yang berfungsi sebagai penghalang air pada kulit.

Alat ukur : *Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)*
 Kriteria Objektif : Berupa data numerik kontinyu (ng/ml)

e. Produksi sebum

Definisi : Produksi sebum dari kelenjar sebacea pada lesi kulit

Alat ukur : *Sebumeter*
 Kriteria Objektif : Berupa data numerik kontinyu. ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)

f. Indeks SCORAD

Definisi : Alat klinis yang digunakan untuk menilai derajat keparahan dari DA.

Alat ukur : Anamnesis dan pemeriksaan fisik
 Kriteria Objektif : Berupa data kategorik ordinal.

1. Ringan <25
2. Sedang 25-50
3. Berat >50.

2.13 Pengolahan dan analisis data

- a. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan bantuan program SPSS 23.0. Data dianalisis secara deskriptif dengan menghitung jumlah, frekuensi, mean dan standar deviasi serta persentase. Dilakukan uji normalitas Saphiro Wilk dan Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui normalitas sebaran data. Analisis dua kelompok perlakuan dan kontrol terhadap produksi sebum dan kadar seramid dilakukan dengan uji independent T test. Kemudian dilakukan uji korelasi spearman dan pearson untuk mengetahui hubungan antara produksi sebum dan kadar seramid pada pasien DA. Hasil uji signifikan jika nilai nilai p uji <0,05.
- b. Semua hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel dan gambar grafik yang disertai dengan penjelasannya pada bab hasil penelitian.

