

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Masalah

Penuaan organ tubuh dimulai sejak seseorang dilahirkan, tidak terkecuali juga terjadi pada kulit. Sebagai organ tubuh yang paling besar, kulit menunjukkan tanda-tanda penuaan yang jelas dan terlihat ketika seseorang bertambah tua. Oleh karena itu, bagi banyak orang, terutama wanita, sebagian besar pengeluaran sehari-hari dihabiskan untuk kosmetik dan obat-obatan demi upaya mencegah penuaan kulit. Kebutuhan kosmetik yang besar ini terus mendorong penelitian mengenai penuaan kulit dan perawatannya (Zhang & Duan, 2018).

Meskipun tidak semua organ menunjukkan temuan struktural yang nyata akibat penuaan, kulit menunjukkan kerusakan seiring berjalannya waktu. Penuaan kulit didefinisikan secara sederhana sebagai perubahan pada kulit yang terjadi akibat penuaan. Penuaan intrinsik merupakan perubahan fisiologis kulit yang tidak dapat dihindari dan terjadi seiring berjalannya waktu. Hal ini merupakan konsekuensi dari faktor genetik yang dipengaruhi oleh etnis, variasi anatomi, perubahan hormonal dan variasi antar individu. Penuaan kulit ekstrinsik adalah perubahan struktural dan fungsional kulit yang dapat dicegah yang terjadi akibat paparan faktor lingkungan seperti radiasi ultraviolet, rokok, paparan angin, dan paparan bahan kimia berbahaya lainnya (Kang et al., 2019; Russell-Goldman & Murphy, 2020; Wong & Chew, 2021).

Meskipun kulit memiliki sistem antioksidan yang kuat untuk melawan stres oksidatif, paparan kronis terhadap radiasi ultraviolet (UVR) dengan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berlebihan dapat mengganggu pertahanan antioksidan endogen pada kulit, yang pada akhirnya mengakibatkan kerusakan dan penuaan dini dalam proses yang dikenal sebagai *photoaging*. Terdapat beberapa perawatan yang diusulkan untuk mencegah penuaan kulit, salah satunya adalah menggunakan antioksidan. Antioksidan berperan sebagai reduktor yang dapat meredakan penuaan kulit dengan menetralkan ROS yang sudah terbentuk. ROS mengaktifkan jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan selanjutnya meningkatkan produksi *matrix metalloproteinases* (MMP) yang mendegradasi kolagen. Meskipun beragam antioksidan telah direkomendasikan, baik melalui suplementasi oral atau aplikasi topikal untuk perlindungan kulit, melatonin memberikan potensi manfaat berbeda untuk mengatasi stres oksidatif pada kulit (Bocheva et al., 2022; Day et al., 2018; Zhang & Duan, 2018).

Melatonin (MT) dalam bahasa sehari-hari disebut sebagai *hormone of darkness* atau hormon kegelapan karena diproduksi sebagai respons terhadap kegelapan. Melatonin dapat ditemukan di banyak jaringan selain kelenjar pineal dan mukosa usus, termasuk kulit, otak, retina, lensa, koklea, trakea, hati, ginjal, tiroid, pankreas, timus, limpa, dan jaringan reproduksi. Melatonin di kulit merupakan zat antioksidan kuat yang melindungi fungsi mitokondria dan sel. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa MT adalah molekul yang mampu menangkap radikal bebas dan dapat melindungi kulit dari kerusakan akibat sinar UV. MT juga mampu menunjukkan efek anti-inflamasi. Beberapa penelitian mendukung konsep bahwa MT kulit dapat memiliki fungsi anti-penuaan dan geroprotektor. Pada kulit yang menua, terjadi penurunan produksi melatonin lokal secara progresif. Melatonin merupakan molekul yang dapat menembus *barrier* lipid kulit, mengurangi stres oksidatif, memodifikasi fungsi mitokondria, mengurangi peradangan, dan mempengaruhi ekspresi gen tertentu. Akibatnya, melatonin memiliki efek anti-penuaan yang sangat baik pada kulit, yang ekspresi nyatanya adalah berkurangnya pembentukan kerutan (Puviani et al., 2020; Rusanova et al., 2019; Zhang & Duan, 2018).

Selain perannya dalam regulasi tidur, melatonin telah dipandang sebagai pelindung seluler terhadap stres oksidatif. MT telah disarankan sebagai salah satu antioksidan yang paling efektif karena kemampuannya untuk menangkal hingga 10 ROS dan *reactive nitrogen species* (RNS) dengan metabolitnya, dibandingkan dengan sebagian besar antioksidan yang umumnya hanya mampu menangkal beberapa ROS. (Minich et al., 2022; Sancak et al., 2021) MT diketahui dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dengan mengaktifkan jalur Sirtuin 1 (SIRT1)/Nrf2. SIRT1 adalah sebuah enzim yang terletak pada

nukleus sel yang berfungsi untuk mendeasetilasi faktor-faktor transkripsi yang berkontribusi terhadap regulasi seluler yang berperan dalam proses penuaan. SIRT1 bekerja dengan mengurangi peradangan dengan menurunkan regulasi TLR4 yang memediasi efek pro-oksidan melalui jalur pensinyalan NF- κ B. MT melalui penghambatan TLR-4 dan *toll receptor-associated activator of interferon* (TRIF) dapat menekan pelepasan beberapa sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8. Peningkatan regulasi SIRT1 yang disebabkan oleh MT mendorong peningkatan regulasi Nrf2, yang ketika bergabung dengan gen *antioxidant response element* (ARE) dalam nukleus, yang kemudian akan meningkatkan ekspresi enzim antioksidan dan mengurangi stres oksidatif yang disebabkan oleh ROS (Ma et al., 2021).

NF- κ B adalah faktor transkripsi kunci yang diaktifkan pada banyak penyakit yang berhubungan dengan peradangan dan penuaan. SIRT1 terkait dengan regulasi negatif sinyal NF- κ B, yang selanjutnya akan menghambat penuaan dini yang disebabkan oleh peradangan. MT juga dapat menginduksi penghentian siklus sel dengan menginduksi peningkatan regulasi p21 yang dimediasi p53 dan kemudian menghambat proliferasi sel MCF-7. SIRT1 mengatur penuaan dini dengan mengatur ekspresi dan asetilasi protein p53 dan p21. p53 dan p21 adalah protein efektor utama dalam penuaan dini. p21—target hilir p53—menghambat cyclin-dependent kinases (CDKs), yang menyebabkan terhentinya siklus sel selama penuaan seluler dan pada akhirnya dapat mencegah terjadinya penuaan pada kulit (Ma et al., 2021).

Pemberian melatonin secara oral menunjukkan efek lintas pertama yang menonjol dengan tingkat sistemik yang sangat rendah. Pemberian topikal dapat mengatasi masalah ini. Penggunaan melatonin secara topikal dianggap bermakna karena dapat menembus stratum korneum karena struktur kimia lipofiliknya yang berbeda. Seperti yang dinyatakan oleh Fischer et al, untuk penerapan dalam dermatologi klinis, melatonin eksogen harus digunakan secara topikal dibandingkan secara oral karena melatonin yang diberikan secara oral muncul dalam kadar yang rendah di dalam darah akibat degradasi *first-pass* yang menonjol di hati, sehingga membatasi aksesnya ke kulit (Milani & Sparavigna, 2018; Tuft et al., 2023). Oleh karena itu, diketahui bahwa melatonin topikal memiliki peluang sebagai terapi *anti-aging* sehingga penulis ingin meneliti mengenai efektifitas melatonin topikal terhadap perbaikan klinis, indeks kerutan dan perbaikan hidrasi kulit sebagai terapi *anti-aging*.

Berbagai penelitian klinis telah mengevaluasi potensi melatonin topikal sebagai agen *anti-aging*, dengan konsentrasi 0,1% sebagai formulasi yang paling sering digunakan. Milani dan Sparavigna serta Milani dan Puviani melaporkan bahwa penggunaan melatonin topikal 0,1% secara signifikan menurunkan keparahan dan volume kerutan, memperbaiki hidrasi, serta meningkatkan tonisitas kulit pada subjek usia ≥ 45 tahun (Milani & Puviani, 2018; Milani & Sparavigna, 2018). Selain itu, Puviani et al. yang secara khusus mengevaluasi area periokular melaporkan penurunan indeks kekasaran kulit hingga 31% setelah penggunaan melatonin 0,1% (Puviani et al., 2020). Konsistensi temuan dari berbagai studi ini mendukung pemilihan melatonin topikal 0,1% dalam penelitian ini sebagai konsentrasi yang telah digunakan secara luas dan berpotensi efektif dalam memperbaiki parameter penuaan kulit.

1.2. Teori

1.2.1. Penuaan

Penuaan kulit merujuk pada proses alami di mana kulit mengalami perubahan seiring berjalannya waktu (Wong & Chew, 2021). Terdapat dua jenis dari penuaan kulit, yaitu penuaan kulit intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan intrinsik terkait dengan penuaan terprogram dan *senescence* seluler yang disebabkan oleh stres oksidatif endogen dan kerusakan sel, bersifat tak dapat dihindari pada kulit. Penuaan intrinsik terjadi seiring waktu dan dipengaruhi oleh faktor genetik dan hormonal. Perubahan ini mencakup produksi kolagen yang berkurang, aliran darah yang berkurang, jumlah lipid yang lebih rendah, dan kehilangan *rete ridges* sehingga kulit tampak kering, pucat, terdapat kerutan halus, penurunan elastisitas, dan kapasitas penyembuhan kulit yang menurun. Kulit yang mengalami penuaan intrinsik juga ditandai dengan timbulnya berbagai neoplasma jinak akibat regulasi proliferasi sel yang terganggu. Penuaan ekstrinsik merupakan akibat dari berbagai faktor lingkungan seperti radiasi ultraviolet (UV) dan polusi yang kemudian

menghasilkan ROS dan menyebabkan kerusakan DNA serta disfungsi seluler. Penyebab penuaan ekstrinsik yang paling kuat adalah radiasi ultraviolet. Perubahan struktural dan fungsional kulit yang dimediasi oleh radiasi ultraviolet dikenal sebagai *photoaging*. Faktor eksternal lain yang berkontribusi pada penuaan kulit ekstrinsik termasuk merokok, pola makan, paparan bahan kimia, trauma, dan polutan udara (seperti partikel debu, CO₂, CO, SO₂, NO, dan NO₂) (Sewon Kang, 2019; Shin et al., 2023).

Kedua jenis penuaan kulit ini memiliki beberapa mekanisme molekuler yang tumpang tindih, termasuk produksi ROS (radikal bebas), kerusakan DNA, dan deteriorasi struktural komponen matriks ekstraseluler (ECM). Namun, terdapat beberapa aspek yang berbeda dalam proses penuaan. Penuaan intrinsik menghasilkan penipisan kulit secara keseluruhan, kulit kering dan pucat, kerutan halus, dan kulit kendur dengan elastisitas yang berkurang. Fungsi kelenjar keringat dan sebacea juga berkurang, dengan sekresi sebum yang berkurang disebabkan oleh penurunan ekspresi *peroxisome proliferator-activated receptor gamma* (PPAR- γ), yang pada akhirnya menyebabkan kulit kering, sementara hiperplasia kelenjar sebacea dapat terjadi karena peningkatan ukuran kelenjar. Selain itu, penuaan ekstrinsik bermanifestasi sebagai kerutan yang relatif kasar, kehilangan elastisitas yang parah, dan dispigmentasi. Meskipun terdapat perbedaan ini, perubahan biokimia dan biofisika di dermis umum untuk kedua proses penuaan dan merupakan faktor kontribusi utama terhadap fenotip penuaan seperti kerutan dan kehilangan elastisitas kulit (Shin et al., 2023).

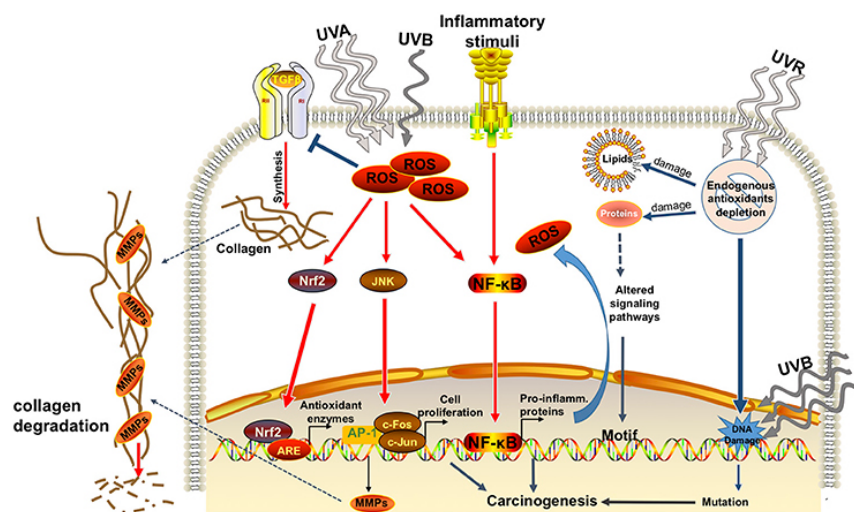
Faktor-faktor kulit intrinsik seperti sistem steroidogenik lokal juga memiliki peran penting dalam perlindungan kulit terhadap efek berbahaya radiasi UV, karena faktor tersebut mampu mensintesis androgen, estradiol, glukokortikoid, dan mineralokortikoid dari prekursor, yang semuanya memainkan peran anti-kanker dengan mengubah menjadi sekosteroid di bawah pengaruh radiasi UV. Melanin, pigmen penyerap UV yang mampu menghilangkan radiasi UV sebagai panas yang tidak berbahaya, mungkin merupakan komponen kulit yang paling penting dalam menjalankan fungsi defensif terhadap kerusakan radiasi UV. Pigmen tersebut diproduksi oleh melanosit dan ditransfer ke keratinosit melalui proses dendritik panjang, berfungsi sebagai penyaring UV yang menghambat pembentukan dimer dan fotoproduk atau sebagai penangkap ROS (radikal bebas). Selain itu, melanin bertanggung jawab atas warna kulit yang telah diusulkan sebagai hasil dari respons adaptif terhadap radiasi UV, karena kegelapan kulit yang diamati pada beberapa komunitas berkaitan dengan tingkat radiasi UV yang mereka terima. Telah diusulkan bahwa perubahan warna ini terjadi untuk mengurangi kebutuhan sintesis vitamin D dalam kulit. Selain itu, tingkat melanin telah terbukti memiliki hubungan berbanding terbalik dengan jumlah kerusakan DNA kulit yang diinduksi oleh radiasi UV; oleh karena itu, tampaknya kapasitas pigmen rendah pada orang Kaukasia putih bertanggung jawab atas kegagalan dalam mekanisme fotoproteksi intrinsik (Mesa-Arango et al., 2017).

Saat ini, teori klasik mengenai mekanisme penuaan kulit antara lain teori radikal bebas dan stres oksidatif, teori inflamasi penuaan, teori *photoaging* kulit, dan teori kimia glikosil nonenzimatis. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab utama menurunnya fungsi tubuh dan penuaan kulit. *Reactive oxygen species* (ROS) adalah jenis molekul tidak stabil yang mengandung oksigen dan mudah bereaksi dengan molekul lain di dalam sel. Stres oksidatif mengacu pada ketidakseimbangan antara oksidasi intraseluler dan aktivitas antioksidan, dimana sel cenderung teroksidasi dan menghasilkan ROS dalam jumlah besar. Selama metabolisme sel, mitokondria menghasilkan ROS melalui metabolisme oksidatif. Ketika ROS dalam sel terlalu banyak, mitokondria akan rusak, produksi ATP mitokondria akan berkurang, potensi membran mitokondria akan berkurang, dan akan terjadi reaksi berantai yang mempercepat penuaan. ROS yang berlebihan juga dapat merusak struktur DNA sehingga menimbulkan gejala penuaan seperti kerusakan fungsi sel dan gangguan replikasi sel (He et al., 2023).

Inflamasi adalah salah satu penyebab utama penuaan sel. Penuaan akibat inflamasi ditandai dengan peningkatan kadar faktor proinflamasi dalam tubuh. Perubahan ini akan menyebabkan penuaan sel-sel tubuh, termasuk kulit, dan menyebabkan banyak penyakit yang berhubungan dengan penuaan. Pada tingkat kulit, fibroblas tua dan keratinosit mengeluarkan sejumlah besar *senescence associated secretory phenotypes* (SASP), termasuk sitokin proinflamasi TNF- α , IL-1, IL-6, IFN- γ , MMP dan lain-lain. Sitokin pro-inflamasi ini menginduksi penuaan sel kulit dengan meningkatkan produksi ROS dan

mengaktifkan jalur pensinyalan ATM (*ataxia telangiectasia mutated*)/p53/p21. Pada saat yang sama, ketika sel-sel kulit mengalami peradangan, hal ini akan menyebabkan peningkatan pelepasan MMP, yang akan menyebabkan degradasi kolagen, sehingga mengakibatkan relaksasi dan kerutan pada kulit (He et al., 2023).

Faktor eksternal seperti sinar UV pada sinar matahari berperan sangat penting dalam proses penuaan kulit. Panjang gelombang spesifik UV menentukan sifat sinyal yang ditransduksinya, mempengaruhi axis neuroendokrin lokal, dan dapat menyebabkan penuaan kulit. Menurut teori mekanisme *photoaging*, sinar ultraviolet dapat menyebabkan produksi ROS dan sekresi MMP. Faktor internal seperti glikosilasi nonenzimatik (dikenal sebagai reaksi Maillard) juga berperan sangat penting dalam penuaan sel kulit. Menurut teori ini, kerusakan ikatan silang protein yang disebabkan oleh glikosilasi adalah mekanisme utama penuaan. Glikosilasi ini merupakan reaksi nonenzimatik antara gula pereduksi bebas dan gugus amino bebas dari protein, DNA dan lipid, menghasilkan *advanced glycation end products* (AGEs). Akumulasi AGEs akan mempengaruhi homeostasis seluler dan perubahan struktur protein, yang menyebabkan penggelapan kulit dan penuaan. Akumulasi AGEs juga menyebabkan produksi ROS dan peradangan, sehingga mempercepat penuaan kulit, dan pembentukan AGEs tidak dapat diubah. (He et al., 2023)



Gambar 1 Efek Sinar UV terhadap Penuaan Kulit (Dunaway et al., 2018)

Salah satu komponen penting dalam perlindungan epidermis adalah melatonin, suatu hormon yang disintesis oleh kelenjar pineal yang mampu melindungi keratinosit epidermis dari stres oksidatif dengan menekan pembentukan ROS dan meningkatkan penurunan kandungan glutathione. Selain itu, kulit memiliki antioksidan enzimatis endogen alami (misalnya superoksida dismutase atau katalase) dan antioksidan non-enzimatik (misalnya koenzim Q10, glutathione atau vitamin E), yang juga memberikan perlindungan terhadap ROS. Kulit manusia juga terlindungi dari kerusakan radiasi UV dengan aktivasi mekanisme perbaikan molekuler kompleks yang memperbaiki cedera DNA guna menjaga integritas genom. Mekanisme terpenting dalam proses ini adalah *nucleotide excision DNA repair* (NER) yang bertanggung jawab atas dimer siklobutana pirimidin dan pengeluaran fotoproduk. Kegagalan fungsi sistem perlindungan ini berhubungan dengan kelainan kulit seperti xeroderma pigmentosum dan *photoaging*. Mekanisme perbaikan lainnya adalah *base excision repair* (BER) yang menghilangkan modifikasi oksidatif pada basa tunggal dalam DNA. Mekanisme perbaikan lainnya melalui NER dan BER adalah melalui aktivasi p53 dengan menginduksi *arrest* pada fase G2/M. Jika terjadi kerusakan serius, apoptosis yang bergantung pada p53 dilakukan untuk membuang DNA yang rusak dan mencegah terjadinya keganasan. Selain itu, telah dibuktikan bahwa peningkatan regulasi IL-12 dapat melawan immunosupresi akibat UVB (Mesa-Arango et al., 2017).

1.2.2. Melatonin

Melatonin adalah indoleamine endogen yang disintesis tidak hanya pada kelenjar pineal, tetapi juga di berbagai organ lain termasuk kulit (Nanzadsuren et al., 2020). Melatonin memainkan peran penting dalam siklus tidur (Bešlić et al., 2023). Terlepas dari tempat produksinya, kadar melatonin biasanya bervariasi tergantung pada usia organisme tempat sintesisnya. Konsentrasi serum melatonin sangat bervariasi menurut usia, dengan konsentrasi tertinggi ditemukan pada anak-anak berusia satu hingga tiga tahun, setelah itu serum melatonin menurun secara bertahap sepanjang hidup karena selama penuaan terjadi hilangnya thioretinacoozonide mitokondria secara drastis. Thioretinacoozonide adalah suatu kompleks yang mengikat gugus fosfat adenosin trifosfat dan oksigen dalam proses fosforilasi oksidatif (Scheuer, 2017). Akibatnya, kadar adenosil metionin (donor metil yang diperoleh dari thioretinacoozonide dan ATP, yang terlibat dalam sintesis melatonin dari N-asetil serotonin) berkurang dan akibatnya produksi melatonin juga berkurang. Perubahan-perubahan ini menyebabkan perubahan fosforilasi oksidatif, serta peningkatan stres oksidatif, masuknya kalsium, peradangan, apoptosis, dan disfungsi mitokondria, yang semuanya merupakan proses fisiopatologis yang biasa diamati pada penuaan. Selain penuaan, produksi melatonin dapat dipengaruhi oleh penyakit, pola makan, faktor lingkungan seperti cahaya terang di malam hari, penggunaan obat-obatan, dan gaya hidup (Martín Giménez et al., 2022; Minich et al., 2022).

Fungsi utama melatonin dalam tubuh yaitu mengontrol ritme sirkadian, namun juga terlibat dalam berbagai fungsi kulit seperti siklus pertumbuhan rambut atau pigmentasi bulu dan memiliki peran penting dalam kontrol melanoma. Banyak penelitian melaporkan sifat anti-oksidatif melatonin sebagai penangkal radikal bebas, karena fakta bahwa melatonin menekan kerusakan sel-sel kulit akibat sinar ultraviolet (UV) dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat pada sel-sel yang terpapar sinar UV. Melatonin dapat menetralkan stres akibat lingkungan atau faktor internal untuk menjaga integritas organisme dan mempertahankan homeostatisnya (Franco et al., 2021).

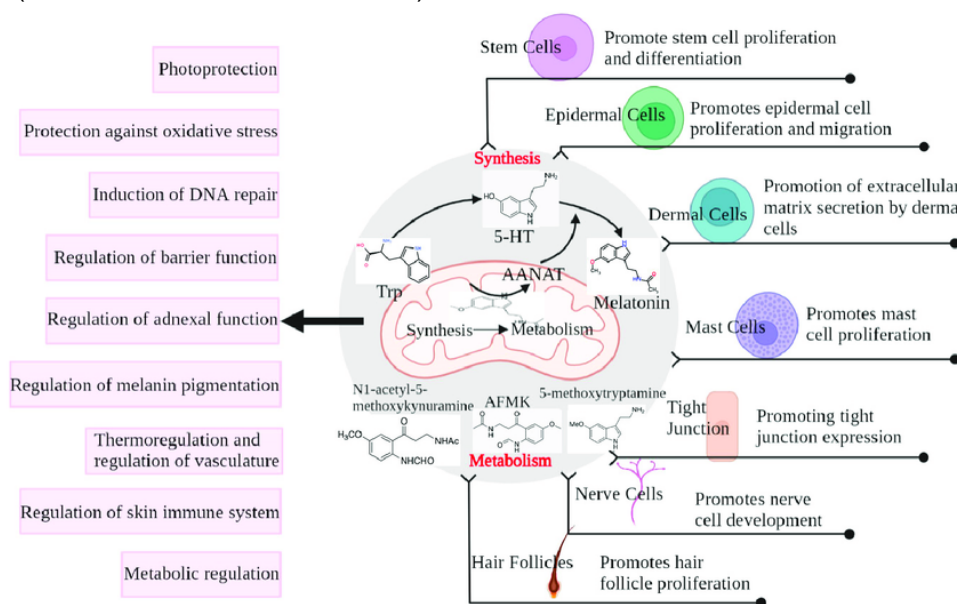
Melatonin juga disintesis dan dimetabolisme di kulit. Sel kulit mengekspresikan enzim penting untuk mengubah triptofan menjadi serotonin dan akhirnya menjadi melatonin, seperti triptofan hidroksilase (TPH1—semua sel kulit; TPH2—melanosit dan fibroblas kulit), AANAT/serotonin N-asetiltransferase (SNAT) dan NAT dan HIOMT/N-asetilserotonin-metiltransferase (NASM). Melatonin dan metabolitnya penting untuk pengaturan banyak fungsi kulit, termasuk fungsi pigmentasi kulit, adneksa, sawar kulit, dan kekebalan tubuh. Melatonin juga melindungi kulit terhadap pengaruh eksternal dan internal, dan memiliki potensi onkostatik pada sel melanoma (Bocheva et al., 2022).

Pada tingkat pineal, melatonin memodulasi proses fisiologis yang berkaitan dengan ritme sirkadian pada hewan. Selain itu, melatonin berperan penting dalam anti inflamasi, antioksidan, proses anti tumor, imunitas bawaan dan imunitas adaptif. Sifat antioksidan melatonin melibatkan beberapa mekanisme. Selain menangkal radikal bebas seperti ROS dan spesies nitrogen reaktif (RNS) langsung dari stimulasi sel kulit atau respirasi oksidatif mitokondria, melatonin dapat bertindak sinergis dengan antioksidan lain, seperti vitamin C atau α -tokoferol. Pada keratinosit epidermal manusia, melatonin dapat membalikkan efek pro-inflamasi yang disebabkan oleh jalur NF- κ B yang teraktivasi secara berlebihan setelah penurunan *heat shock protein 70* (HSP70), dan menghambat produksi faktor pro-inflamasi interleukin (IL)-1 β , IL -6, caspase-1, dan protein pro-apoptosis caspase-3. Melatonin juga memodulasi respon imun bawaan dan adaptif dengan mengatur fungsi sel dalam sistem imun bawaan (seperti monosit, makrofag, eosinofil, basofil, neutrofil, sel NK) serta sitokin yang dikeluarkannya (misalnya IL-3, IL-4, IL-6, IL-12, interferon- γ , *tumor necrosis factor* (TNF)- α , IL-1 β), yang akan meningkatkan kemotaksis neutrofil dan sel mononuklear darah tepi. Sehubungan dengan kekebalan adaptif, melatonin memainkan peran penting dalam aktivasi dan proliferasi, mengatur proses patologis kekebalan tubuh, dan menentukan nasib sel T (Zhang & Yao, 2023).

Melatonin dapat melindungi sawar kulit dengan menghambat apoptosis yang dimediasi UVR. Melatonin menekan aktivasi promotor terkait jalur mitokondria (caspase 9) dengan menstabilkan potensi membran mitokondria, dan menghambat aktivasi efektor (caspase 3 dan caspase 7), sehingga mengurangi

atau mencegah apoptosis keratinosit. Sedangkan untuk mekanisme onkostatik, melatonin memiliki efek penghambatan pada melanoma *in vitro* dan *in vivo*. Fischer et al. menemukan bahwa efek onkostatik melatonin berhubungan dengan konsentrasi dan durasi kultur bersama dengan sel melanoma, namun juga relevan dengan reseptor melatonin spesifik yang diekspresikan pada membran dan inti sel. Sel yang mengekspresikan reseptor nuklir menunjukkan penghambatan pertumbuhan yang lebih kuat, sedangkan sel yang mengekspresikan reseptor MT2 pada membran sel lebih sensitif terhadap efek penghambatan melatonin (Zhang & Yao, 2023).

MT juga diketahui dapat mencegah terjadinya stres oksidatif dengan mengaktifkan jalur Sirtuin 1 (SIRT1)/Nrf2. SIRT1, salah satu dari tujuh homolog mamalia yang termasuk dalam keluarga sirtuin, merupakan pengatur protein dan gen yang terlibat dalam respon antioksidan (FOXO3), respon antiinflamasi (NF- κ B), respon anti-apoptosis (p53 dan FOXO3), respon insulin (IGF-1), dan transkripsi gen (PGC-1). SIRT1 juga telah terbukti menjadi pengatur biogenesis mitokondria, serta agen yang sangat diperlukan dalam plastisitas sinaptik, pembelajaran, dan memori. (Bonda et al., 2011) SIRT1 bekerja dengan mengurangi inflamasi dengan menurunkan regulasi TLR-4 yang memediasi efek pro-oksidan melalui jalur pensinyalan NF- κ B. MT melalui penghambatan TLR-4 dan *toll receptor-associated activator of interferon* (TRIF) dapat menekan pelepasan beberapa sitokin proinflamasi seperti TNF α , IL-1 β , IL-6, dan IL-8. Peningkatan regulasi SIRT1 yang disebabkan oleh MT mendorong peningkatan regulasi Nrf2, yang ketika bergabung dengan gen *antioxidant response element* (ARE) dalam nukleus, yang kemudian akan meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti GSH (glutathion), SOD (*superoxide dismutase*), dan CAT (katalase) yang berfungsi untuk menurunkan kadar ROS dan melindungi sel dari stres oksidatif. Penurunan ROS ini secara tidak langsung mencegah terjadinya kerusakan DNA yang jika tidak dikendalikan dapat mengaktifkan jalur ATM/ATR-p53-p21 yang merupakan suatu mekanisme utama yang menyebabkan penghentian siklus sel dan senesens seluler. Selain itu, melatonin juga menghambat jalur NF- κ B (*nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) yang meregulasi inflamasi kronis dan sekresi SASP (*senescence-associated secretory phenotype*), yaitu sekumpulan faktor inflamasi yang mempercepat penuaan kulit (Ma et al., 2021; Sklar et al., 2012).



Gambar 2 Produksi dan Metabolisme Melatonin (Gao et al., 2023)

Terdapat beberapa penelitian yang telah menilai efektivitas melatonin dalam mencegah penuaan kulit. Studi oleh Milani & Puviani pada tahun 2018 melibatkan 15 wanita berusia >45 tahun dengan penuaan

kulit wajah ringan hingga sedang (skor Glogau 2-4). Evaluasi analisis kulit dengan bantuan komputer ANTERA 3D dilakukan untuk menilai kerutan kasar dan halus pada area periorbital serta kandungan melanin dilakukan pada awal dan setelah dua bulan pemberian Melatosphere™ (krim yang mengandung gliserin dan 0,1% melatonin dalam oleosom minyak biji opuntia ficus indica dan minyak *persea gratissima*). Evaluasi ANTERA 3D menunjukkan penurunan yang signifikan pada volume kerutan kasar dan halus di area target masing-masing sebesar -31% dan -18%. Kandungan melanin berkurang secara signifikan sebesar -17% (Milani & Puviani, 2018).

Milani & Sparavigna pada tahun 2018 juga melakukan penelitian prospektif selama 3 bulan yang melibatkan 22 wanita (usia rata-rata 55 tahun) dengan penuaan kulit sedang hingga parah. Produk penelitian yang mengandung melatonin 0.1% diaplikasikan pada pagi hari dan malam hari di sisi kanan atau kiri wajah, lalu dilakukan evaluasi tingkat kerutan *crows' feet* dan lipatan nasolabial, *surface microrelief*, gambaran permukaan kulit, kekencangan kulit dan kekeringan kulit. Penilaian evaluasi klinis dan instrumental dilakukan pada awal dan setelah 1, 2 dan 3 bulan penggunaan produk melatonin. Pada akhir penelitian, ditemukan bahwa *crows' feet* berkurang secara signifikan ($p = 0,05$) sebesar -15% dibandingkan dengan sisi yang tidak diterapi. Pada akhir penelitian, *surface microrelief* (-26,5%), profilometri kulit (-13%), tonisitas kulit (+30%) dan kekeringan kulit (-59,5%) secara signifikan membaik dengan penggunaan produk melatonin (Milani & Sparavigna, 2018).

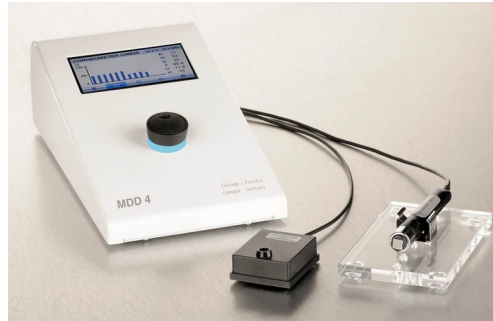
Penelitian oleh Puviani et al. dilakukan selama 2 bulan terhadap 20 wanita berusia rata-rata 52 tahun dengan kerutan ringan hingga sedang di area mata. Subjek kemudian diinstruksikan untuk menggunakan krim kontur mata berbasis melatonin (melatonin 0,1%, *Butyrospermum Parkii* (shea butter), tetrapeptida dan asam hialuronat) dua kali sehari. Evaluasi Antera 3D terhadap volume kerutan halus dan kekasaran kulit pada area *crows' feet* dilakukan pada awal penelitian dan setelah 2 bulan. Pada *baseline*, nilai indeks kekasaran kontur mata rata-rata (SD) adalah 19,5 (3,0) mm. Setelah 2 bulan perawatan MECB, parameter ini berkurang menjadi 13,5 (2,8) mm, perbedaan absolut sebesar 6 mm, yang mewakili pengurangan 31%. Perbedaan ini signifikan secara statistik ($P=0,001$) (Puviani et al., 2020).

1.2.3. Alat Diagnostik

1.2.3.1. Korneometer

Korneometer adalah sebuah alat yang berfungsi untuk mengukur tingkat hidrasi stratum korneum (Prakoeswa et al., 2022). Korneometer dapat mengukur kapasitansi kulit untuk mengukur status fungsi *barrier* kulit dengan mudah (Voegeli et al., 2022).

Prinsip pengukuran korneometer berdasarkan pada kapasitansi melalui pengukuran media dielektrisitas, dimana kapasitansi diketahui sebagai kemampuan untuk menyimpan muatan elektrik. Dielektrisitas kulit diukur berdasarkan pada perubahan hidrasi atau kuantitas air pada kulit. Pengukuran dilakukan dengan cara menempelkan probe pada kulit, dan hasil akan keluar dalam waktu 1 detik dalam satuan arbitrary unit (AU). Nilai hidrasi dimulai dari angka 0 hingga 130. Nilai 30 AU menunjukkan kulit sangat kering, 30-40 AU menunjukkan kulit kering, nilai >40 AU menunjukkan hidrasi kulit normal (Courage+Khazaka electronic GmbH, n.d.).



Gambar 3 Korneometer

1.2.3.2. *Skin Analyzer*

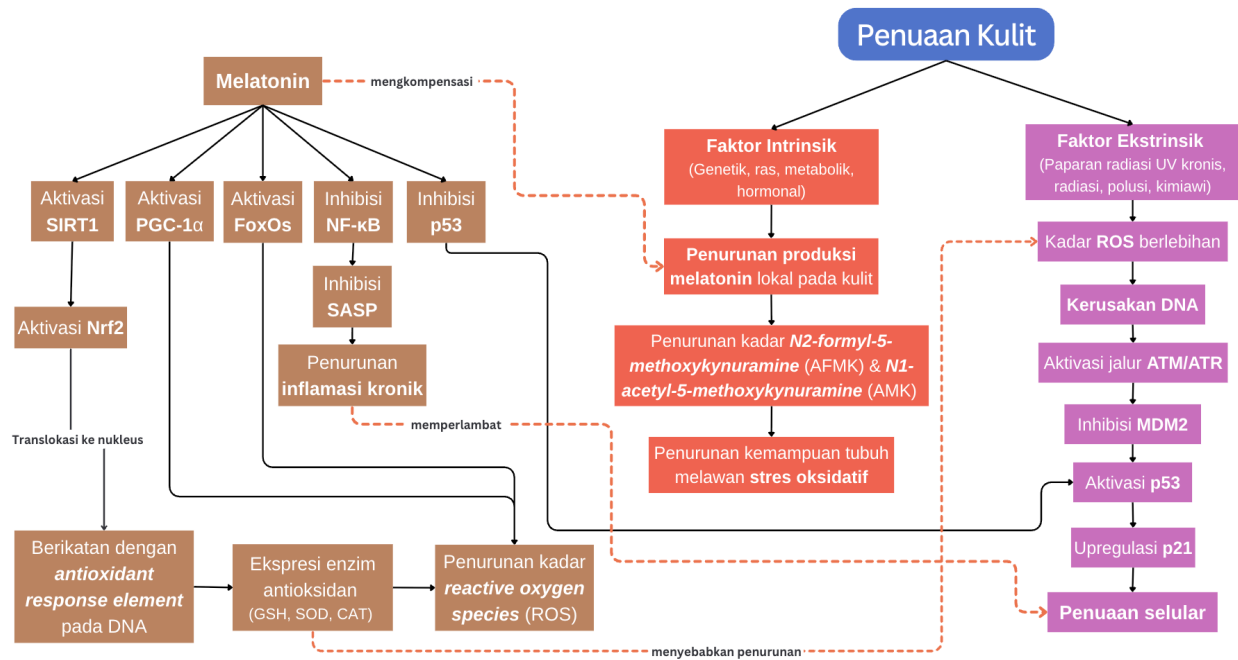
Skin analyzer adalah alat yang digunakan untuk menilai berbagai aspek kulit, seperti tingkat hidrasi, kadar minyak, pigmentasi, dan kondisi kulit secara keseluruhan. Berbagai jenis penganalisis kulit mungkin menggunakan berbagai teknologi, termasuk sistem pencitraan, analisis sinar UV, sensor kelembapan, dan sensor lain untuk mengumpulkan data tentang kulit. Informasi yang dikumpulkan kemudian digunakan untuk menghasilkan laporan komprehensif mengenai kondisi kulit saat ini. *Skin analyzer* dibuat berdasarkan CIELAB *colorspace* tahun 1976 dan klasifikasi jenis kulit yang disajikan oleh Chardon et al. CIELAB mendeskripsikan warna dalam tiga aksis berdasarkan terang/gelap (aksis L^*), merah/hijau (aksis a^*), dan biru/kuning (aksis b^*) yang masing-masing berkorelasi dengan pigmentasi kulit, eritema, dan pigmentasi/*tanning*. Sudut tipologi individu dapat dihitung berdasarkan nilai L^* dan b^* , yang dapat diklasifikasikan menjadi salah satu dari enam tipe kulit Fitzpatrick (Mohamed et al., 2023).

Pengukuran kerutan dapat dilakukan menggunakan perangkat *skin analyzer*, yaitu menggunakan lensa perbesaran 10x dan lampu sensor biru (normal). Kamera kemudian diletakkan pada permukaan kulit yang akan diukur, kemudian tombol *capture* ditekan untuk mengambil gambar. Kemudian, hasil berupa angka dan kondisi kulit secara akan ditampilkan pada layar komputer. Dengan menggunakan *skin analyzer*, jumlah dan kedalaman kerutan dapat dikalkulasi (Aramo, 2012).



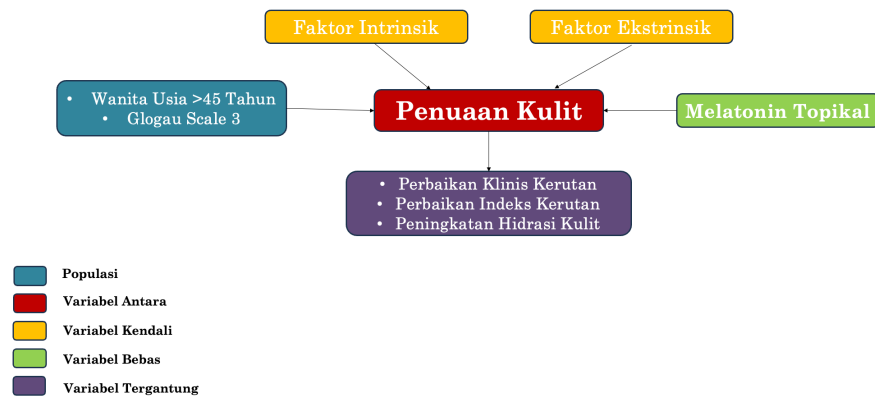
Gambar 4 *Skin Analyzer*

1.2.4. Kerangka Teori



1.2.5. Kerangka Konsep

Gambar 5 Kerangka Teori



Gambar 6 Kerangka Konsep

1.3. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang masalah, maka rumusan masalah pada penelitian adalah sebagai berikut:

1. Apakah melatonin topikal memberikan perbaikan klinis pada kerutan sebagai agen *anti-aging*
2. Apakah melatonin topikal memberikan perbaikan pada indeks kerutan sebagai agen *anti-aging*
3. Apakah melatonin topikal memberikan perbaikan hidrasi kulit sebagai agen *anti-aging*

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas melatonin topikal sebagai agen *anti-aging*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Menilai perbaikan klinis pada kerutan setelah pemberian melatonin topikal.
2. Menilai perbaikan pada indeks kerutan setelah pemberian melatonin topikal.
3. Menilai perbaikan hidrasi kulit setelah pemberian melatonin topikal.

1.5. Hipotesis Penelitian

1. Melatonin topikal memberikan efek perbaikan klinis pada kerutan.
2. Melatonin topikal memperbaiki indeks kerutan.
3. Melatonin topikal meningkatkan hidrasi kulit.

1.6. Manfaat Penelitian

1.6.1. Manfaat teoretik

- Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk menjadi bahan acuan agen *anti-aging*.
- Data efektivitas penggunaan melatonin sebagai agen *anti-aging*.
- Menambah pengetahuan terhadap agen baru yang dapat digunakan sebagai agen *anti-aging*.

1.6.2. Manfaat aplikatif

- Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai agen *anti-aging* pada masyarakat.

1.6.3. Manfaat metodologi

- Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan dasar untuk penelitian selanjutnya.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1. Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan desain *true-experimental, randomized double-blind controlled clinical trial* dengan pendekatan *pre- and post-treatment*.

2.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Poliklinik Dermatologi dan Venereologi Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin (RSUH). Pemeriksaan sampel dilakukan RSUH dengan menggunakan alat korneometer dan *skin analyzer* pada periode Maret 2025-Juli 2025.

2.3. Populasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada perempuan dengan usia 45-60 tahun. Seluruh subjek menandatangani *informed consent* tertulis sebelum penelitian dimulai.

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

Rule of thumb adalah metode untuk menemukan ukuran sampel yang sesuai untuk studi pilot yang hasilnya merupakan pengukuran berkelanjutan. Hasilnya merupakan jumlah total sampel pada seluruh kelompok studi, dimana jumlah sampel pada setiap kelompok sama. Machin et al. menjelaskan bahwa *rule of thumb* dapat dibagi menjadi 2 kategori, yaitu *flat* dan *stepped*. *Flat rule of thumb* umumnya menyarankan sebuah angka yang digunakan sebagai jumlah sampel, dan umumnya angka yang digunakan adalah 30 (PASS Sample Size Software NCSS, n.d.). Julious menyarankan ukuran sampel minimum 12 subjek per kelompok (Whitehead et al., 2016). Oleh karena itu, jumlah total sampel yang kami gunakan pada penelitian ini adalah 40 subjek.

2.6. Kriteria Sampel

Kriteria Inklusi:

- Subjek wanita berusia 45-60 tahun.
- Subjek dengan Glogau Scale 3.
- Subjek bersedia untuk mengikuti penelitian dan menandatangani lembar *informed consent*.

Tabel 1 Klasifikasi Glogau (Oesch et al., 2022)

	Description	Skin characteristics
Type 1: "no wrinkles"	Early photoaging	Mild pigment changes No "age spots" Minimal wrinkles
Type 2: "wrinkles in motion"	Early to moderate photoaging	Early brown "age spots" Keratosis palpable but not visible Parallel smile lines begin to appear
Type 3: "wrinkles at rest"	Advanced photoaging	Obvious dyschromia Visible brown "age spots" Visible capillaries (telangiectasias) Wrinkles present at rest
Type 4: "only wrinkles"	Severe photoaging	Yellow-gray skin color Precancerous skin changes and/or prior skin malignancies Wrinkles throughout, at rest or moving

Kriteria Eksklusi:

- Subjek menderita penyakit kulit akut atau kronik yang dapat mengganggu parameter evaluasi
- Subjek dengan riwayat hipersensitivitas terhadap komponen apapun dari krim
- Subjek sedang menggunakan terapi topikal dengan bahan *anti-aging* lainnya seperti retinoid, vitamin C, asam hialuronat, peptida, niasinamid, AHA, BHA, dan lain-lain.
- Subjek dengan penyakit sistemik seperti diabetes mellitus, penyakit ginjal kronik
- Subjek menderita gangguan psikologis atau kognitif yang dapat mempengaruhi kepatuhan penggunaan krim penelitian.
- Subjek dengan riwayat tindakan pada wajah dalam 6 bulan terakhir (*botox*, *filler*, *thread lift*, HIFU).
- Subjek merupakan perokok aktif dalam kurun waktu 12 bulan sebelum penelitian.

Kriteria Drop Out:

- Subjek mengalami reaksi alergi atau iritasi berat akibat penggunaan krim penelitian.
- Subjek tidak dapat dihubungi atau gagal menghadiri penelitian selama lebih dari 2 minggu berturut-turut.

2.7. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik

Penelitian ini dilakukan setelah disetujui oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) 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 Penelitian:**

- Kain latar belakang pengambilan foto (berwarna hitam)
- Kamera
- Korneometer
- *Skin Analyzer*

Bahan Penelitian:

Krim yang mengandung melatonin topikal dengan konsentrasi 0.1% dan krim vehikulum.

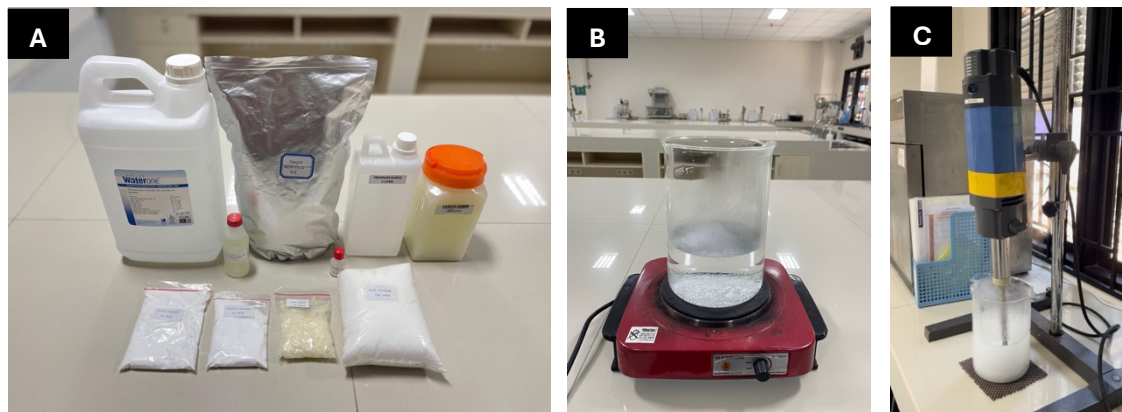
2.9. Prosedur Penelitian

2.9.1. Cara Pembuatan Krim Melatonin

Cara pembuatan krim melatonin dimulai dengan menimbang semua bahan sesuai dengan perhitungan yang telah ditentukan. Langkah pertama adalah melebur fase minyak, yang terdiri dari asam stearat, cera alba, dan vaseline album hingga suhu mencapai 70°C. Pada saat yang bersamaan, fase air, yang terdiri dari aquadest, propilen glikol, triethanolamine (TEA), dipanaskan hingga mencapai suhu 70°C. Setelah kedua fase mencapai suhu yang diinginkan, fase minyak dimasukkan ke dalam fase air dan kemudian dicampur dengan kecepatan 3000 rpm hingga tercampur homogen. Selanjutnya, zat aktif (bubuk melatonin) yang telah digerus halus dimasukkan sedikit demi sedikit ke dalam basis krim sambil terus diaduk hingga seluruh bahan tercampur merata dan homogen.

Tabel 2 Komposisi Krim

No	Nama Bahan	Konsentrasi (%)
1	Melatonin	0.1
2	Asam stearat	15
3	Cera alba	2
4	Vaseline album	8
5	Triethanolamine	1.5
6	Propilen glikol	8
7	Aquadest	100 gr



Gambar 7 Proses pembuatan krim (A) Alat dan bahan pembuatan krim melatonin. (B) Proses pemanasan. (C) Pencampuran fase minyak ke fase air.

2.9.2. Persiapan Penelitian

- Rancangan penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin untuk mendapatkan persetujuan (*Ethical Clearance*).
- Setelah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, penelitian dapat dimulai.
- Seluruh subjek penelitian diberikan penjelasan mengenai penelitian. Apabila subjek bersedia untuk berpartisipasi dalam penelitian, subjek diminta untuk menandatangani lembar *informed consent*

secara tertulis. Pemeriksaan awal dilakukan dengan anamnesis dan pemeriksaan fisik untuk menilai apabila subjek termasuk ke dalam kriteria inklusi atau eksklusi. Kemudian dilakukan pemotretan foto klinis pasien, pemeriksaan dengan *skin analyzer*, dan pemeriksaan dengan korneometer.

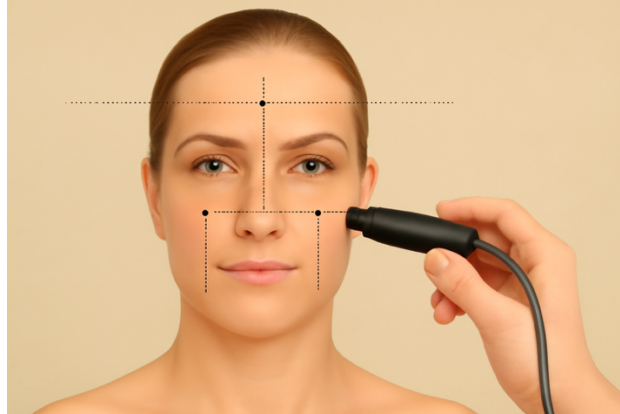
- Selama periode penelitian, subjek diminta untuk tidak menggunakan produk perawatan kulit atau obat topikal lain pada area wajah, dan kepatuhan dimonitor melalui wawancara pada setiap kunjungan kontrol.

2.9.3. Teknik Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *double blind*. Krim penelitian disiapkan dan dikodekan oleh pihak farmasi sebagai Krim 1 dan Krim 2. Selama periode penelitian, baik peneliti maupun subjek tidak mengetahui alokasi kelompok. Identitas krim baru dibuka setelah seluruh periode intervensi dan pengumpulan data selesai. Pada kunjungan pertama (W0), pasien menerima penjelasan mengenai penelitian dan menandatangani *informed consent*. Seleksi pasien dilakukan dengan anamnesis dan pemeriksaan fisik.

Pengambilan data yang meliputi:

- Anamnesis mengenai identitas pasien, riwayat hipersensitivitas, riwayat penyakit sistemik, riwayat penggunaan terapi sistemik, riwayat penggunaan terapi *anti-aging* topikal, riwayat menjalani tindakan pada wajah, riwayat gangguan psikologis dan kognitif, riwayat merokok.
- Pemeriksaan fisik untuk penilaian status generalis dan status dermatologis.
- Penentuan indeks kerutan dengan klasifikasi Glogau.
- Pemotretan foto klinis pasien.
- Pengukuran hidrasi kulit dengan korneometer. Penilaian dilakukan pada tiga titik yaitu dahi, pipi kanan dan pipi kiri. Dilakukan penarikan garis imajiner dari kantus lateral menuju komisura oris dengan alae nasi menuju tragus telinga sebagai titik pemeriksaan pipi kanan dan kiri. Dilakukan penarikan garis imajiner dari pada temporal bilateral dengan batas rambut-skalp dan pangkal hidung sebagai titik pemeriksaan pada dahi.
- Pemeriksaan *skin analyzer* untuk menilai indeks kerutan.
- Pasien secara acak dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu grup intervensi dan grup plasebo. Pada pagi hari (pukul 05.00-08.00 WITA) subyek kedua kelompok mencuci wajah menggunakan *facial wash* sebanyak 5 tetes, kemudian dilanjutkan dengan pengaplikasian krim (krim berisi melatonin 0.1% untuk kelompok intervensi, *base cream* untuk kelompok plasebo) sebanyak 1 FTU (*fingertip unit*) atau setara 0.5 gram pada seluruh wajah. Pada penggunaan pagi hari, subjek mengoleskan krim penelitian terlebih dahulu, kemudian setelah 5–10 menit menggunakan tabir surya SPF 50 untuk meminimalkan faktor perancu akibat paparan UV. Pada malam hari (pukul 19.00-22.00) dilakukan prosedur pencucian wajah dan aplikasi krim dengan metode yang sama.
- Kunjungan kedua (W2), ketiga (W4), keempat (W6), kelima (W8), keenam (W10), dan ketujuh (W12) dengan rentang waktu 2 minggu: dilakukan pemotretan foto klinis, pengukuran hidrasi kulit, dan pemeriksaan *skin analyzer*.

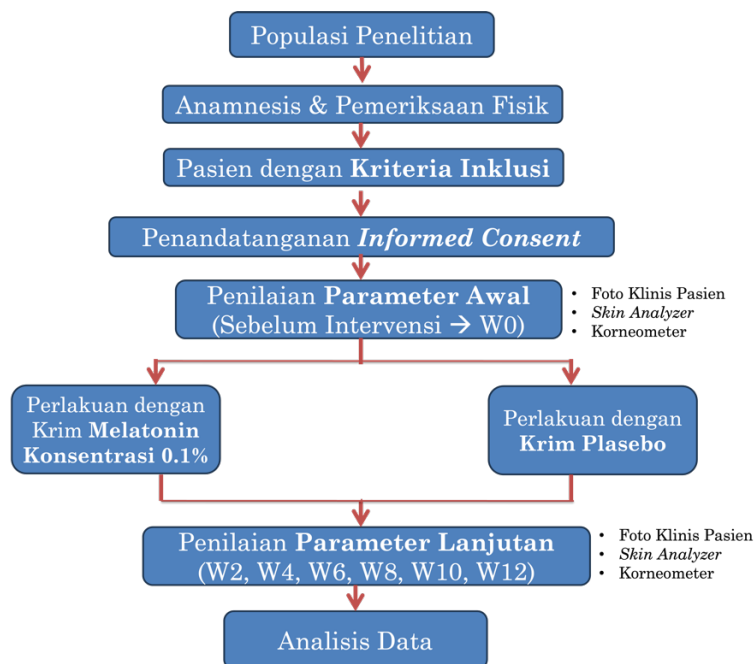


Gambar 8 Lokasi Pengukuran Korneometer

Tahap penyelesaian:

- Analisis data
- Tahap akhir penyusunan penelitian

2.10. Alur Penelitian



Gambar 9 Alur Penelitian

2.11. Identifikasi Variabel

- Variabel bebas: Melatonin topikal
- Variabel kontrol: Subjek penelitian dengan usia 45-60 tahun dengan Glogau Scale 3.
- Variabel tergantung: Perbaikan klinis kerutan, perbaikan indeks kerutan, peningkatan hidrasi kulit

2.12. Definisi Operasional

Tabel 3 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Cara Pengukuran	Hasil	Skala
Melatonin Topikal	Krim mengandung melatonin topikal dengan konsentrasi 0.1% yang dibuat di Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.			
Kerutan	Kerutan merupakan salah satu gejala klinis akibat <i>photoaging</i> . Kerutan dapat diklasifikasikan secara klinis menggunakan Klasifikasi Glogau	Pemeriksaan Fisik	Klasifikasi Glogau Derajat 1: <i>photoaging</i> awal, kerutan minimal, tidak ada <i>age spot</i> Derajat 2: <i>photoaging</i> awal-moderat, terdapat kerutan saat pergerakan wajah, <i>age spot</i> kecoklatan, pori-pori prominan. Derajat 3: <i>photoaging</i> lanjutan, terdapat kerutan pada wajah saat posisi statis, <i>age spot</i> kecoklatan yang prominan, pembuluh darah berukuran kecil Derajat 4: <i>photoaging</i> berat, kerutan difus, kulit kuning-keabuan, keratosis aktinik	Ordinal
Indeks Kerutan	Indeks kerutan merupakan derajat keparahan kerutan yang terjadi akibat faktor intrinsik dan ekstrinsik yang dianalisis menggunakan <i>Skin Analyzer</i> .	<i>Skin Analyzer</i>	Angka	Nominal
Tingkat Hidrasi kulit	Hidrasi kulit merupakan pemeliharaan keseimbangan kelembapan yang terkandung di dalam kulit. Tingkat hidrasi kulit dapat diukur secara objektif dengan mengukur kemampuan kulit dalam menampung air	Korneometer	Angka (AU)	Nominal

Subjek Penelitian	Subjek yang memenuhi kriteria inklusi dan memberikan kesediannya dalam bentuk <i>informed consent</i> secara tertulis.			
-------------------	--	--	--	--

2.13. Pengolahan dan Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan Microsoft Excel dan SPSS versi 26. Analisis yang dilakukan adalah:

1. Uji statistik yang digunakan adalah uji *repeated measures* ANOVA dan uji T independen apabila data terdistribusi normal, ataupun uji Friedman dan Mann Whitney U apabila data tidak terdistribusi normal. Uji statistik dilakukan untuk membandingkan perbedaan rata-rata antara tiap kelompok subjek dengan dibandingkan sebelum perlakuan (W0) dengan setelah perlakuan (W12). Rata-rata nilai α^* serta *standard error* dikalkulasi untuk semua data. Hasil uji signifikan jika nilai p uji $<0,05$.
2. Semua hasil analisis disajikan dalam bentuk tabel dan grafik yang disertai dengan penjelasannya pada bab hasil penelitian.