

GAMBARAN KLINIS DAN HISTOPATOLOGI KULIT TIKUS *SPRAGUE-DAWLEY* PADA KELOMPOK TIKUS MUDA, TUA, DAN TIKUS MODEL TUA INDUKSI D-GALAKTOSA

Erвина Rosmarwati¹, Endra Yustin Ellistasari^{2*}, Arie Kusumawardani²

¹Program Studi Dermatologi dan Venereologi, Program Pendidikan Dokter Spesialis Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

²Departemen Dermatologi dan Venereologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

***) Correspondence Author**

Endra Yustin Ellistasari

Departemen Dermatologi dan Venereologi,

Universitas Negeri Sebelas Maret, Surakarta 57126, Indonesia

Email: endra_yustin@yahoo.com

Telepon: +628164882913

Abstract

Skin aging is divided into intrinsic and extrinsic. Extrinsic occurs because of external exposure while intrinsic is a physiological condition because DNA damage. Main mechanism is reactive oxygen species (ROS) activated matrix metalloproteinase (MMP). MMP-1 can degrade collagen I and III, causing a reduction in distribution/mechanical strength of fibroblasts. D-gal induces ROS and advanced glycation end products (AGE). This study aims to determine the clinical and histopathological features with variations in age groups. Young Sprague-Dawley rats (16 weeks), intrinsic aging model rats with D-galactose induction (8 weeks induction age), and old rats (18 months) were used in this study. The skin was taken and HE was performed. Clinical manifestation showed young rats had fine, clean yellowish white fur, thick with clear red eyes without hyperpigmentation in ears, while skin of older rats, either with or without D-gal, had dry, rough, shed and brownish yellow hair with cloudiness in eye lens. Histological observations showed in young rats thick epidermis, normal rete ridge, dense collagen and sufficient subcutaneous fat were seen. Both old model mice group showed thinning epidermis, flattening of rete ridge, reduced collagen and reduced fat. Skin aging will experience changes in structural, biochemical, neurosensory perception, permeability, response to injury, and increased incidence of skin diseases. Consistent structural change in aging skin is dermo-epidermal junction flattening due to loss of dermal papillae and reduced interdigitation between layers. Administration of D-galactose showed an increase in NO, MDA and a decrease in SOD, GSH, GSH-Px. It was concluded that induction of aging with D-galactose succeeded in making aging changes in young mice close to old mice clinically and histopathologically.

Keywords: Intrinsic aging, D-galactose, rat skin, clinical, histopathological

Abstrak

Penuaan kulit terbagi menjadi penuaan intrinsik dan ekstrinsik. Penuaan ekstrinsik terjadi akibat paparan luar sedangkan penuaan intrinsik merupakan kondisi fisiologis akibat kerusakan DNA. Mekanisme utama penuaan kulit adalah *reactive oxygen species* (ROS) dengan mengaktivasi matriks metaloproteinase (MMP). MMP-1 mampu mendegradasi kolagen I dan III, menyebabkan pengurangan penyebaran/kekuatan mekanis fibroblas pada kulit. Penggunaan D-gal dapat menginduksi ROS dan *advanced glycation end products* (AGE). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui gambaran klinis dan histopatologi dengan variasi kelompok usia. Tikus muda galur Sprague-Dawley (16 minggu), tikus model penuaan intrinsik dengan induksi D-galaktosa (usia induksi 8 minggu), dan tikus tua (18 bulan) digunakan pada penelitian ini. Kulit dari punggung diambil dan dilakukan HE. Gambaran klinis menunjukkan tikus muda memiliki bulu halus, berwarna putih kekuningan bersih, tebal dengan mata merah jernih tanpa hiperpigmentasi di telinga sedangkan kulit tikus model tua, tanpa atau dengan D-gal, tampak bulu kering, kasar, rontok dan berwarna kuning kecoklatan dengan kekeruhan pada lensa mata. Pengamatan histologis menunjukkan pada tikus muda tampak epidermis tebal, *rete ridge* normal, kolagen padat dan lemak subkutan cukup. Tikus model tua pada kedua kelompok tampak epidermis menipis, pendataran *rete ridge*, kolagen berkurang dan lemak berkurang. Kulit dengan proses penuaan akan mengalami perubahan struktural, biokimia, persepsi neurosensoris, permeabilitas, respon terhadap cedera, dan peningkatan insidensi penyakit kulit. Perubahan struktural yang konsisten pada kulit menua adalah *dermo-epidermal junction flattening* akibat hilangnya papila dermis serta berkurangnya interdigitasi antar lapisan. Pemberian

D-galaktosa menunjukkan peningkatan NO, MDA serta penurunan SOD, GSH, GSH-Px. Disimpulkan bahwa induksi penuaan dengan D-galaktosa berhasil membuat perubahan penuaan pada tikus muda menjadi mendekati tikus tua secara klinis dan histopatologis.

Kata Kunci: Penuaan intrinsik, D-Galaktosa, Kulit Tikus, Klinis, Histopatologis

PENDAHULUAN

Penuaan kulit (*skin aging*) berdasarkan etiologinya terbagi menjadi penuaan intrinsik dan penuaan ekstrinsik. Penuaan ekstrinsik merupakan penuaan pada kulit akibat faktor paparan luar seperti sinar matahari (*photoaging*).¹ Penuaan intrinsik sering diartikan sebagai penuaan alami/fisiologis yang diakibatkan oleh kerusakan DNA yang dipengaruhi oleh gangguan hormon akibat bertambahnya usia, faktor genetik, dan radikal bebas.^{2,3} Mekanisme epigenetik dan pasca translasi diyakini sebagai jalur penuaan yang paling penting.⁴ Penuaan intrinsik merupakan perubahan yang terdapat pada sel induk beserta turunannya, mencakup ekspresi dari mikro RNA (miRNA), panjang telomer, regulator siklus sel, sekretom seluler, ekspresi protein apoptosis, reseptor transmembran, dan ekspresi gen.²

Mekanisme utama *skin aging* terpusat pada *reactive oxygen species* (ROS). ROS mampu mengaktivasi faktor transkripsi matriks metaloproteinase (MMP), khususnya MMP-1. Proses aktivasi MMP dan pelepasan elastase dari granulosit neutrofil menginduksi degradasi serat kolagen dan elastin, yang mengakibatkan kerusakan signifikan matriks ekstraseluler (MES) dan meningkatkan kerentanan kulit. Kerusakan dapat terjadi di semua kompartemen sel dan elemen ekstraseluler seperti protein matriks atau serat kolagen dan dapat menyebabkan perubahan struktural dan hilangnya fungsi enzim atau membran, atau kerusakan DNA. Reaksi dengan *reactive molecule species* (RMS) dapat mengubah molekul biologis menjadi radikal dan memicu reaksi berantai yang mengarah ke serangkaian perubahan pada kulit. *Reactive molecule species* juga memicu proses metabolik dan katabolik dalam konteks homeostasis seluler, pertumbuhan dan perkembangan, perbaikan, pertahanan imun, dan apoptosis. Fragmen kolagen menghambat neosintesis kolagen dalam fibrosit. Degenerasi jaringan yang ada dan penurunan potensi keratinosit untuk beregenerasi dan berdiferensiasi berkontribusi pada proses penuaan kulit.⁵ Salah satu protein matriks ekstraseluler (MES) dermal, yaitu kolagen memainkan peran penting dalam fase proliferasi dan remodeling serta memberikan dasar pembentukan matriks.⁶ Kolagen tipe I merupakan bagian utama dari matriks ekstraseluler fibrilar (kolagen serat) dan paling banyak terdapat dalam jaringan kulit sehingga berperan dalam memberikan integritas struktural dan ketahanan mekanis. Pada kulit muda terutama terdiri dari fibril kolagen tipe I menyusun sebanyak 85% sampai 90% dari total kolagen dalam kulit.^{4,7} Selama penuaan, kolagen tipe I mengalami

perubahan organisasi dan struktural, sintesis protein MES berkurang, dan lebih banyak metaloproteinase yang mendegradasi matriks sehingga terjadi fragmentasi fibril kolagen yang menyebabkan hilangnya kekuatan mekanik secara keseluruhan.⁷ MMP-1 merupakan satu-satunya metaloproteinase yang dapat memecah kolagen fibrilar utuh. MMP-1 mengenali substrat melalui domain seperti hemopeksin dan mampu mendegradasi kolagen fibrilar tipe I dan III. Pengurangan penyebaran/kekuatan mekanis fibroblas pada kulit yang menua menginduksi ekspresi MMP-1 melalui pengaturan c-JUN/AP-1, COX2-PGE dan stres oksidatif. Peningkatan kekuatan mekanik dermis kulit tua dapat merangsang sintesis kolagen dan menghambat peningkatan sebagian MMP.⁸

Penelitian mengenai penuaan telah banyak diteliti di berbagai negara, termasuk Indonesia. Studi sel fibroblas *in vivo* dari kulit manusia yang terpapar sinar ultraviolet B (UVB) telah dilakukan oleh Ellistasari *et al.*, (2022).⁹ Model tikus *photoaging* juga telah dipelajari sebelumnya oleh Fiqri *et al.*, (2021) yang pada penurunan deposisi kolagen tipe 1 pada kelompok yang diinduksi penuaan dengan paparan sinar UVB.¹⁰

Model tikus penuaan intrinsik yang diinduksi menggunakan injeksi D-galaktosa (D-gal) dapat digunakan meskipun masih jarang di Indonesia. D-gal banyak digunakan dalam studi farmakodinamik pada terapi anti-aging karena penelitian dengan menggunakan D-gal menunjukkan peningkatan *reactive oxygen species* (ROS) dan *advanced glycation end products* (AGE), yang memiliki berbagai karakteristik penuaan seperti rentang hidup yang lebih pendek, gangguan memori, dan imunitas yang menurun. Jenis tikus yang umumnya digunakan dalam model percepatan penuaan intrinsik adalah tikus jenis Wistar (*Rattus norvegicus*) dan Sprague-Dawley (*Rattus norvegicus* L).¹¹ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa injeksi larutan D-gal dalam dosis besar dan jangka panjang dapat menghasilkan ROS yang berlebihan, mengurangi aktivitas enzim antioksidan di berbagai organ, membentuk lebih banyak anion superoksida dan berbagai produk oksidasi, dan menyebabkan kerusakan sel, mengakibatkan penurunan fungsional seluruh sistem organ dalam tubuh.¹² Pemberian D-gal kronis dilaporkan menyebabkan gangguan memori serta penurunan keterampilan kognitif dan motorik yang mirip dengan gejala penuaan dan, oleh karena itu, telah dianggap sebagai model penuaan intrinsik pada hewan pengerat seperti tikus.¹³

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan gambaran klinis dan histopatologis tikus muda, tikus model penuaan intrinsik dan tikus tua, sehingga dapat membuktikan bahwa induksi D-gal pada tikus dapat menyerupai tikus tua secara klinis dan histopatologis. Keterbaruan yang dibawa pada penelitian ini adalah penggunaan D-galaktosa untuk model penuaan untuk dibandingkan dengan tikus tua alamiah dan tikus muda, baik secara histopatologis dan klinis.

METODE

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada pada bulan Mei hingga Juli 2022. Sampel adalah tikus galur Sprague-Dawley jantan yang diperoleh dari hewan coba laboratorium yang sudah mengalami adaptasi. Sampel dibagi menjadi tikus muda (16 minggu), adalah tikus model tua dengan perlakuan induksi D-gal selama 8 minggu (usia saat diinduksi 8 minggu) dan tikus tua usia 18 bulan. Model tikus penuaan Sprague Dawley (*Rattus Novergicus L.*) yang diinduksi D-gal telah banyak digunakan dalam studi farmakodinamik pada terapi anti-aging karena D-gal menginduksi ROS yang memiliki berbagai karakteristik penuaan alami di berbagai jaringan.^{9,12} D-gal C6H12O6 PUDAK Scientific® digunakan untuk induksi tikus secara injeksi intraperitoneal sebanyak 150 mg/kgBB/hari selama 8 minggu.

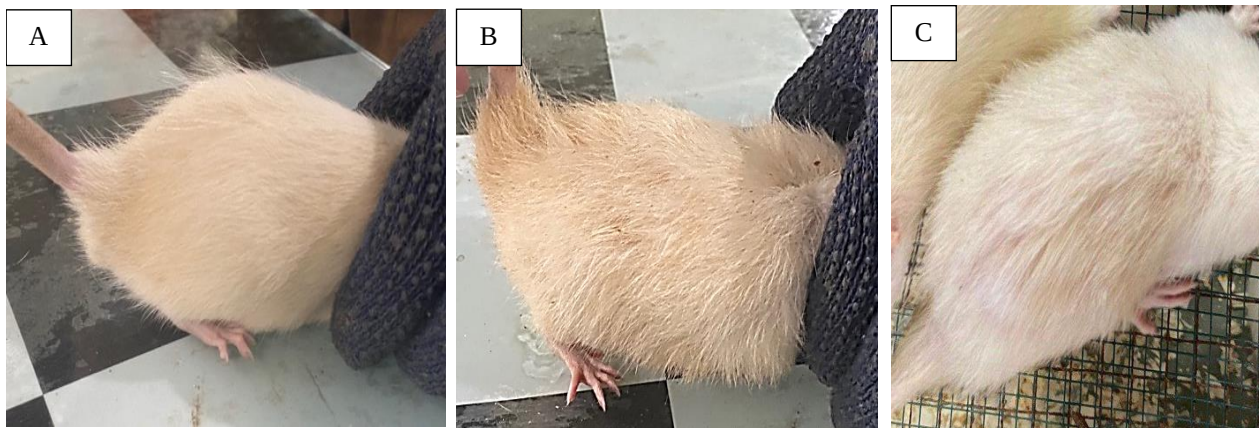
Sampel jaringan kulit diperoleh dari kulit punggung

mikroskop cahaya Olympus CX21 (Tokyo, Japan) yang dihubungkan dengan *OptiLab Advance* dan *OptiLab Viewer 2.2* (Sleman, Yogyakarta). Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 40x dan 100x pada 5 lapang pandang oleh ahli patologi anatomi dengan pembacaan berulang. Pengamatan mikroskopis dengan melihat keadaan epidermis, struktur kolagen, dan keadaan lemak subkutan.

HASIL

Hasil pengamatan menunjukkan perbedaan gambaran klinis tikus galur Sprague-Dawley jantan pada kelompok tikus muda, tikus model tua induksi D-gal dan tikus tua. Pada tikus muda secara klinis tampak gambaran bulu halus, berwarna putih kekuningan bersih dan tebal. Pada kulit tikus model tua induksi D-gal tampak bulu tikus yang kering, kasar, rontok dan berwarna kuning kecoklatan. Gambaran ini mirip dengan gambaran klinis pada tikus tua tanpa induksi D-gal yaitu tampak bulu rontok, berwarna kekuningan serta pigmentasi kecoklatan pada beberapa area (**Gambar 1**).

Pengamatan pada area wajah tikus muda menunjukkan mata tikus tampak berwarna merah jernih tanpa hiperpigmentasi di area telinga. Pada tikus model tua induksi D-gal tampak mata berwarna merah jernih dengan hiperpigmentasi di area telinga. Gambaran ini mirip dengan gambaran pada tikus tua tanpa induksi D-gal yaitu hiperpigmentasi pada area telinga. Perbedaan



Gambar 1. Perbedaan gambaran klinis tikus galur Sprague-Dawley jantan pada kelompok tikus muda (**A**), tikus model tua (**B**) dan tikus tua (**C**). (**A**) Pada tikus muda secara klinis tampak gambaran bulu halus, berwarna putih kekuningan bersih dan tebal. (**B**) Pada kulit tikus model tua tampak bulu tikus yang kering, kasar, rontok dan berwarna kuning kecoklatan. Gambaran ini mirip dengan gambaran klinis pada tikus tua (**C**) yaitu tampak bulu rontok, berwarna kekuningan serta pigmentasi kecoklatan pada beberapa area.

tikus Sprague Dawley ukuran 2x2 cm yang kemudian dilakukan pengecatan dengan Hematoksilin-Eosin (HE). Pengamatan pada tikus secara makroskopis dengan mengamati keadaan bulu serta area wajah termasuk mata dan telinga oleh peneliti. Pengamatan sediaan patologi anatomi dilakukan menggunakan

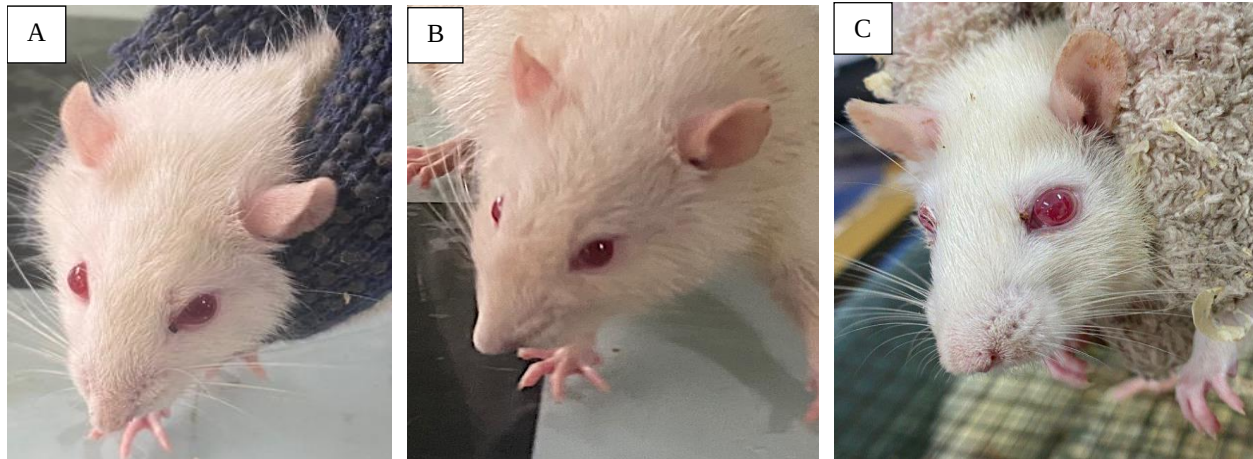
antara tikus model tua induksi D-gal dan tikus tua tanpa induksi D-gal adalah kekeruhan lensa mata, dimana pada tikus tua tanpa induksi D-gal tampak lensa mata keruh dengan bercak putih di dalamnya yang mengindikasikan terjadinya katarak, sedangkan pada

tikus model tua induksi D-gal tidak ditemukan (**Gambar 2**).

Hasil gambaran histopatologi dengan pewarnaan HE dengan perbesaran 40X menunjukkan pada tikus muda tampak epidermis yang tebal, *rete ridge* dalam batas

menurun dan lemak subkutan juga berkurang (**Gambar 3**).

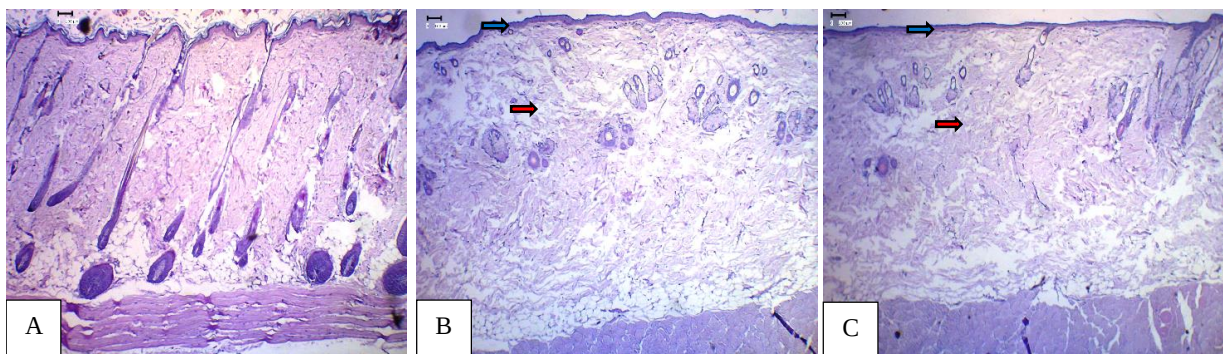
Gambaran histopatologi pewarnaan HE dengan perbesaran 100X pada tikus muda tampak epidermis yang tebal, *rete ridge* dalam batas normal dan struktur



Gambar 2. Perbedaan gambaran klinis area wajah tikus galur Sprague-Dawley jantan pada kelompok tikus muda (**A**), tikus model tua (**B**) dan tikus tua (**C**). (**A**) Pengamatan pada area wajah tikus muda menunjukkan mata tikus tampak berwarna merah jernih tanpa hiperpigmentasi di area telinga. (**B**) Pada tikus model tua tampak mata berwarna merah jernih dengan hiperpigmentasi di area telinga. Gambaran ini mirip dengan gambaran pada tikus tua (**C**) yaitu hiperpigmentasi pada area telinga. Perbedaan antara tikus model tua dan tikus tua adalah kekeruhan lensa mata, dimana pada tikus tua tampak lensa mata keruh dengan bercak putih di dalamnya yang mengindikasikan terjadinya katarak, sedangkan pada tikus model tua tidak ditemukan.

normal, struktur kolagen di dermis padat dan lemak subkutan cukup. Pada tikus model tua induksi D-gal tampak epidermis yang menipis, sebagian terjadi pendataran *rete ridge*, struktur kolagen di dermis berkurang dan lemak subkutan juga berkurang.

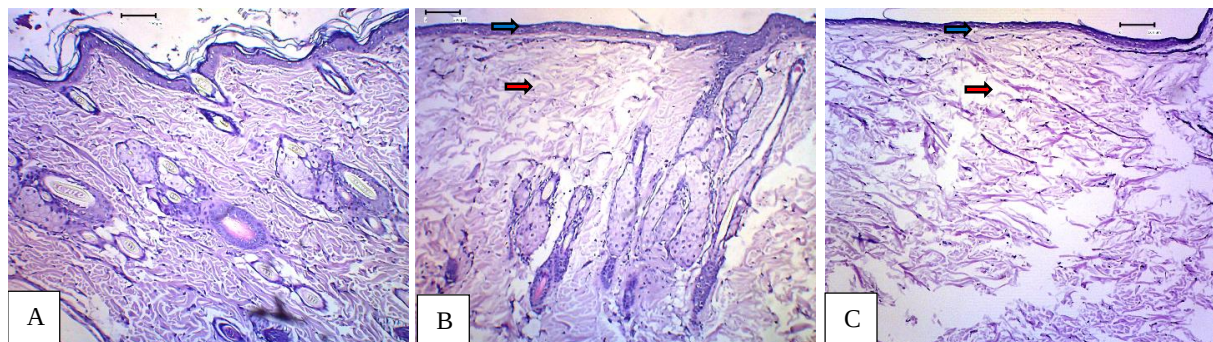
kolagen di dermis padat. Pada tikus model tua tampak epidermis yang menipis, sebagian terjadi pendataran *rete ridge* dan struktur kolagen di dermis berkurang. Gambaran ini mirip dengan gambaran histopatologi pada tikus tua yaitu epidermis tipis, pendataran *rete*



Gambar 3. Perbedaan gambaran histopatologi menggunakan pewarnaan Hematoksilin & Eosin (perbesaran 40X) pada kelompok tikus muda (**A**), tikus model tua (**B**) dan tikus tua (**C**). (**A**) Pada tikus muda tampak epidermis yang tebal, *rete ridge* dalam batas normal, struktur kolagen di dermis padat dan lemak subkutan cukup. (**B**) Pada tikus model tua tampak epidermis yang tipis, sebagian terjadi pendataran *rete ridge* (panah biru), struktur kolagen di dermis berkurang (panah merah) dan lemak subkutan juga berkurang. Gambaran ini mirip dengan gambaran histopatologi pada tikus tua (**C**) yaitu epidermis tipis, pendataran *rete ridge* pada hampir seluruh area (panah biru), struktur kolagen di dermis menurun (panah merah) dan lemak subkutan juga berkurang.

Gambaran ini mirip dengan gambaran klinis pada tikus tua yaitu epidermis tipis, pendataran *rete ridge* pada hampir seluruh area, struktur kolagen di dermis

ridge pada hampir seluruh area dan struktur kolagen di dermis menurun (**Gambar 4**).



Gambar 4. Perbedaan gambaran histopatologi menggunakan pewarnaan Hematoksilin & Eosin (perbesaran 100X) pada kelompok tikus muda (**A**), tikus model tua (**B**) dan tikus tua (**C**). (**A**) Pada tikus muda tampak epidermis yang tebal, *rete ridge* dalam batas normal dan struktur kolagen di dermis padat. (**B**) Pada tikus model tua tampak epidermis yang tipis, sebagian terjadi pendataran *rete ridge* (panah biru) dan struktur kolagen di dermis berkurang (panah merah). Gambaran ini mirip dengan gambaran histopatologi pada tikus tua (**C**) yaitu epidermis tipis, pendataran *rete ridge* pada hampir seluruh area (panah biru) dan struktur kolagen di dermis menurun (panah merah).

PEMBAHASAN

Penelitian dengan menggunakan 3 kelompok kulit variasi usia menunjukkan bahwa pada kelompok tikus muda (16 minggu) memiliki perbedaan klinis dan histopatologis terhadap tikus kelompok tua, baik model induksi D-galaktosa maupun tanpa induksi D-galaktosa. Perbedaan disebabkan karena pada kelompok usia tua mengalami proses penuaan/degenerasi baik secara alamiah maupun akibat induksi. Kulit yang menua secara kronologis menunjukkan beberapa perubahan fungsional baik pada dermis maupun epidermis, seperti disfungsi epidermis, gangguan permeabilitas, penurunan hidrasi stratum korneum, dan peningkatan pH permukaan kulit.¹⁴ Epidermis tikus memiliki keratin pada stratum korneum yang berperan sebagai *water barrier* sehingga mempertahankan kelembaban kulit dan menjaga penetrasi substansi asing dari lingkungan luar. Penelitian menunjukkan tikus usia muda memiliki epidermis yang lebih tebal dibandingkan tikus usia tua, penelitian menunjukkan ketebalan epidermis (μm) tikus usia muda (1 bulan) *versus* tikus usia tua (6 bulan) secara berurutan sesuai lokasi sebesar 16,3+0,8 vs 14,1+1,0 regio dorsum; 15,6+1,5 vs 14,1+1,3 regio aurikula; 88,7+11,8 vs 72,8+8,1 regio *footplate*; dan 14,6+6 vs 12,1+0,9 regio abdomen. Penurunan ketebalan epidermis diikuti dengan peningkatan usia dapat disebabkan karena adanya atrofi epidermal menyebabkan epidermis menjadi lebih tipis dan inti lebih kecil, kehilangan massa epidermis pada usia tua menunjukkan penurunan protein dan RNA epidermis. Penelitian lain juga menunjukkan adanya penurunan hidrasi kulit sebesar 40% pada kelompok tikus tua. Ketebalan epidermis kulit akan berkurang, terutama pada wajah, leher, dada bagian atas, serta permukaan tangan dan lengan bawah. Ketebalan berkurang rata-rata sekitar 6,4% per dekade, terkait dengan penurunan

terkait jumlah sel.¹⁵ Seiring dengan bertambahnya usia kulit, keratinosit berubah bentuk menjadi lebih pendek dan lebih lebar, sedangkan korneosit menjadi lebih besar sebagai akibat dari penurunan pergantian epidermis.^{16,17}

Pada lapisan kulit permukaan stratum korneum terdapat tere yang merupakan lapisan lemak berupa sebum oleh kelenjar sebacea dan lipid berupa derivat sel epidermis. Ketebalan lipid bervariasi sesuai tahapan kehidupan tikus. Lipid berfungsi dalam mengatur proses penyerapan dan penetrasi kedalam kulit yang larut dalam air serta komponen yang larut dalam lemak. Lipid berperan penting untuk mempertahankan hidrasi stratum pada kulit.¹⁶ Produksi sebum menurun sebesar 60%, meskipun jumlah kelenjar keringat tidak berubah. Terjadi juga penurunan emulsi air dan lemak alami pada kulit. Kandungan lipid pada kulit yang menua berkurang sebanyak 65%. Perubahan komposisi asam amino pada kulit yang menua dapat menurunkan jumlah faktor pelembap alami kulit, sehingga menurunkan kapasitasnya untuk mengikat air.^{15,18} Penelitian menunjukkan bahwa tingkat lipid antar sel dari stratum korneum, terutama seramida, asam lemak, dan kolesterol menjadi *water barrier* utama mengalami penurunan seiring peningkatan usia, dengan perbandingan nilai *mass of lipid* (NG/UG protein dalam ribu) pada kelompok usia muda *versus* tua sebesar 1 vs 0,4 untuk asam lemak, 0,5 vs 0,3 untuk seramida, dan 0,2 vs 0,1 untuk kolesterol. Penurunan komposisi lipid pada stratum korneum disebabkan karena ekstraksi permukaan luar stratum korneum serta dominansi seramide *sphingosine* sehingga menyebabkan penipisan seramide *phytosphingosine* yang menyebabkan kulit menjadi kering.¹⁹

Lapisan dermis kulit terdiri dari papilare dan stratum retikuler yang mengandung kolagen, memberikan resistensi kulit, memberikan kekenyalan dan elastisitas

pada kulit. Pada lapisan ini mengandung banyak pembuluh darah dan saraf, memungkinkan untuk sensitisasi, serta terdapat adneksa kulit dan produk epitel seperti rambut, kelenjar sebacea, kelenjar keringat, dan kuku.¹⁶ Pada lapisan ini terdapat perubahan histologis yang paling konsisten selama proses penuaan, yaitu *dermo-epidermal junction flattening* yang terjadi sebagai akibat dari hilangnya papila dermis serta berkurangnya interdigitasi antar lapisan. Hal ini menyebabkan penurunan kemampuan resistensi terhadap gaya geser dan peningkatan kerentanan terhadap cedera. Permukaan yang lebih kecil di antara dua lapisan ini juga menyebabkan penurunan asupan nutrisi dan oksigen seluler serta peningkatan risiko pemisahan dermis-epidermis, yaitu salah satu mekanisme terbentuknya kerutan. Ketebalan dermis menurun seiring bertambahnya usia yang disertai dengan penurunan vaskularisasi dan seluler, selain itu terjadi pula penurunan jumlah sel mast, fibroblas dan glikosaminoglikan dalam dermis. Pada kulit yang menua, produksi kolagen menurun sedangkan degradasinya meningkat, sehingga terjadi penurunan jumlah kolagen. Hilangnya integritas molekuler dermis menyebabkan kekakuan, penurunan ekstensibilitas dan berkurangnya elastisitas kulit. Volume lemak subkutan pun berkurang seiring bertambahnya usia.¹⁸ Penelitian sebelumnya menunjukkan perbandingan ketebalan dermis (μm) pada kelompok usia muda *versus* usia tua adalah $763,5 \pm 151,0$ vs $558,25 \pm 80,85$ sedangkan perbandingan persentase kolagen (%) pada kelompok usia muda *versus* usia tua adalah $76,16 \pm 17,42$ vs $70,88 \pm 4,21$.²⁰ Penurunan pembuluh darah pada lapisan dermis juga menyebabkan terjadinya pendataran *rete ridge*, penelitian juga menunjukkan gangguan pada dermis menyebabkan pendataran *rete ridge*, pembentukan *rete ridge* dipicu oleh pembuluh darah dan proliferasi pada area dermis.²¹

Penjelasan pada bagian sebelumnya merupakan proses penuaan secara alamiah, sedangkan proses penuaan yang disebabkan oleh induksi D-galaktosa (D-gal) telah ditunjukkan pada berbagai jumlah penelitian. Pada sampel kulit manusia dari berbagai usia, terdapat peningkatan ekspresi galaktosidase sebagai penanda penuaan yang bergantung usia pada fibroblas dermal dan keratinosit epidermal yang menunjukkan bahwa kulit yang menua mengandung lebih banyak sel tua. Dermis pada kulit tua yang mendapat fotoproteksi memiliki sel mast, fibroblas, serat kolagen dan serat elastin yang lebih sedikit dibandingkan dermis pada kulit muda. Produksi kolagen tipe I pada kulit manusia yang menua secara intrinsik juga menurun akibat penurunan regulasi sinyal TGF- α /Smad yaitu regulator ekspresi kolagen.^{4,15} Hubungan antara pemberian D-

galaktosa (D-gal) dengan penuaan kulit ditunjukkan pada studi-studi sebelumnya. Studi *in vivo* oleh Ji *et al.*, (2017) yang melaporkan peningkatan level Malondialdehyde (MDA) secara bersamaan dengan penurunan aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) dan aktivitas Glutathione Peroksidase (GSH-Px) pada kelompok usia tua dibandingkan dengan kelompok kontrol muda.²³ Penelitian lain oleh Yanar *et al.*, (2019) menguji validitas model tikus Sprague-Dawley dengan penuaan D-gal pada otot rangka soleus dan gastrocnemius membuktikan bahwa penuaan yang diinduksi D-gal menghasilkan stres oksidatif terkait perubahan redoks yang sebanding dengan perubahan yang terjadi pada penuaan alami.²⁴ Penelitian dengan hasil yang serupa juga diperoleh oleh Bintang *et al.*, (2019) yang melaporkan bahwa injeksi intraperitoneal D-gal setiap hari selama 6 minggu pada mencit (*Mus musculus*) jantan menunjukkan peningkatan stres oksidatif dengan pananda MDA. Pada penelitian Bintang *et al.*, dijelaskan bahwa asupan D-gal akan menginduksi stres oksidatif melalui jalur subseluler terutama di mitokondria otak, konsentrasi D-gal yang meningkat akan dioksidasi oleh galaktosa oksidase guna membentuk hidrogen peroksida (H_2O_2) yang mengakibatkan penurunan SOD serta H_2O_2 akan bereaksi dengan besi tereduksi membentuk ion hidroksida ($\text{OH}^\cdot$).²⁵ D-gal mampu mengakibatkan mutasi DNA mitokondria yang bermanifestasi pada penurunan enzim perbaikan DNA dan gangguan mitokondria yang menyebabkan penuaan. Selebihnya, D-gal juga mampu menurunkan konsentrasi glutathion dan katalase sehingga menyebabkan penurunan sintesis ATP, perubahan potensial membran, kerusakan struktur mitokondria, dan diakhiri dengan terjadinya apoptosis.¹⁹ Penelitian lain oleh Zhao *et al.*, (2019) melaporkan pemberian D-gal 120 mg/kgBB pada tikus menunjukkan tercapainya penuaan oksidatif yang ditandai dengan hubungan signifikan antar para marker stres oksidatif, termasuk MDA dan SOD, sehingga induksi D-gal pada tikus dapat menyebabkan penampakan klinis dan histopatologis yang menyerupai usia tua.²⁶

Perubahan histopatologis dalam proses penuaan serta perbandingannya pada kelompok usia muda vs tua baik dengan/tanpa induksi D-gal bermanifestasi pada penampakan klinis tikus, yang mana pada tikus muda memiliki bulu halus, berwarna putih kekuningan bersih dan tebal, warna mata merah jernih tanpa hiperpigmentasi di area telinga. Penelitian menunjukkan pada kulit muda memiliki epidermis dan dermis yang baik dan tebal sehingga folikel rambut mampu memproduksi rambut dengan baik, sedangkan pada kelompok kulit tua memiliki epidermis dan dermis yang sempit sehingga folikel rambut terhambat memproduksi

rambut baru, rambut menjadi tipis, dan menjadi pudar. Hiperpigmentasi pada beberapa area dikulit kelompok tua disebabkan karena terjadi penurunan jumlah melanosit yang aktif dan cepat sekitar 8-20% per dekade sehingga terjadi distribusi tidak rata pada kulit usia tua menyebabkan hiperpigmentasi. Kesan katarak pada mata tikus tua disebabkan karena terjadinya pengerasan lensa sebagai lapisan kortikal baru yang terus berproliferasi dari waktu ke waktu.¹²

SIMPULAN

Pada ketiga kelompok tikus, yaitu kelompok tikus muda, tikus model tua induksi D-gal, dan tikus tua alami menunjukkan bahwa terdapat perbedaan secara klinis maupun histopatologis pada tikus muda dan tikus tua, baik pada induksi D-gal maupun tanpa induksi D-gal. Pada kelompok tikus tua dan tikus model tua induksi D-gal menunjukkan penampakan klinis dan histopatologis yang mirip. Demikian menunjukkan bahwa induksi penuaan dengan D-galaktosa mampu membuat perubahan penuaan pada tikus muda menjadi mendekati tikus tua secara klinis dan histopatologis.

REFERENSI

- Vierkötter, A. and Krutmann, J., (2012). 'Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations'. *Dermato-endocrinology*, 4(3), pp.227-231.
- Li, X., Wang, Y., Shi, L., Li, B., Li, J., Wei, Z., et al. (2020) 'Magnetic targeting enhances the cutaneous wound healing effects of human mesenchymal stem cell-derived iron oxide exosomes', *Journal of Nanobiotechnology* 2020 18:1. BioMed Central, 18(1), pp. 1–14. doi: 10.1186/S12951-020-00670-X
- Zarei, Farshad; Abbaszadeh, A. (2019) Application of Cell Therapy for Anti-Aging Facial Skin. volume 14,. *Bentham Science Publishers*. doi: 10.2174/1574888X13666181113113415
- Poljšak, B., Dahmane, R. G. and Godić, A. (2012) 'Intrinsic skin aging : The role of oxidative stress', pp. 33–36. doi: 10.2478/v10162-012-0009-0
- Wölfle, U. et al. (2014) 'Reactive molecule species and antioxidative mechanisms in normal skin and skin aging', *Skin Pharmacology and Physiology*. S. Karger AG, 27(6), pp. 316–332. doi: 10.1159/000360092
- S Rani, T. R. (2016) 'The exosome: a naturally secreted nanoparticle and its application to wound healing', *Adv Mater. Wiley-VCH Verlag*, 28(27), pp. 5542–5552. doi: 10.1002/adma.201504009.
- Cole, M. A. et al. (2018) 'Extracellular matrix regulation of fibroblast function: redefining our perspective on skin aging', *Journal of Cell Communication and Signaling* 2018 12:1. Springer, 12(1), pp. 35–43. doi: 10.1007/S12079-018-0459-1
- Zhang, G., Wang, P. and Wang, X. (2017) 'Skin Ageing and Cancer', *The Role of Matrix Metalloproteinase in Human Body Pathologies. IntechOpen*. doi: 10.5772/INTECHOPEN.70266.
- Ellistasari, E.Y., Kariosentono, H., Purwanto B., et al. (2022). 'Exosomes Derived From Secretome Human Umbilical Vein Endothelial Cells (Exo-HUVEC) Ameliorate the Photo Aging of Skin Fibroblasts'. *Clin Cosmet Investig Dermatology*, 15, pp. 1583-1591. doi: 10.2147/CCID.S371330
- Fiqri, A., Widhiati, S., Mawardi, P., et al. (2021). 'A Histopathological Review of Conditioned Medium Exosomes from Wharton's Jelly Derived Mesenchymal Stem Cells Administration to Skin Collagen Deposition of Aged Wistar Rats'. *Ann Romanian Soc Cell Biol*, 25(2), pp. 1377-1383.
- Haider, S., Liaquat, L., Shahzad, S., Sadir, S., Madiha, S., Batool, Z., et al. (2015) 'A high dose of short term exogenous d-galactose administration in young male rats produces symptoms simulating the natural aging process', *Life Sciences. Pergamon*, 124, pp. 110–119. doi: 10.1016/J.LFS.2015.01.016.
- Wang, Z., Yang, T., Liu, S. and Chen, Y. (2020) 'Effects of bone marrow mesenchymal stem cells on ovarian and testicular function in aging Sprague-Dawley rats induced by D-galactose', *Cell Cycle. Bellwether Publishing, Ltd.*, 19(18), pp. 2340–2350. doi: 10.1080/15384101.2020.1806434/SUPPL_FILE/KCCY_A_1806434_SM2684.ZIP.
- Parameshwaran, K., Irwin, M.H., Steliou, K. and Pinkert, C.A. (2010) 'D-galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice', *Rejuvenation Research*, 13(6), pp. 729–735. doi: 10.1089/rej.2010.1020.
- Wang, Z., Man, M. Q., Li, T., Elias, P. M., & Mauro, T. M. (2020). Aging-associated alterations in epidermal function and their clinical significance. *Aging*, 12(6), 5551–5565. <https://doi.org/10.18632/aging.102946>
- Zhang S and Duan E. Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside. *Cell Transplant*. 2018 May;27(5):729-738. doi: 10.1177/0963689717725755. 14
- Niczyporuk, M. (2018). Rat skin as an experimental model in medicine. *Progress in Health Sciences*.
- Sponchiado, G., Mello-Sampayo, C.D., Pereira, M.M., Silva, H.M., Otuki, M.F., Silva - Lima, B., & Rodrigues, L.M. (2012). Rat skin physiology is modified by age A Fisiologia da pele de rato é modificada pela idade.
- Shin, J.W., Kwon, S.H., Choi, J.Y., Na, J.I., Huh, C.H., Choi, H.R., et al. (2019) 'Molecular Mechanisms of Dermal Aging and Antiaging Approaches' *Int J Mol Sci*. 2019 May; 20(9): 2126.

- Published online 2019 Apr 29. doi: 10.3390/ijms20092126.
19. Rawlings, A. V. (2016). The Stratum Corneum and Aging. Textbook of Aging Skin, 67–90. doi:10.1007/978-3-662-47398-6_7
 20. Thomas, J. R. (2005). Effects of Age and Diet on Rat Skin Histology. *The Laryngoscope*, 115(3), 405–411. doi:10.1097/01.mlg.0000157845.
 21. Gomi, T., & Imamura, T. (2019). Age-related changes in the vasculature of the dermis of the upper lip vermillion. *Aging*, 11(11), 3551–3560. <https://doi.org/10.18632/aging.101996>
 22. Farage, M.A., Miller, K.W., Elsner, P., Maibach, H.I. (2013). 'Characteristics of the Aging Skin'. *Adv Wound Care*. 2(1), pp. 5
 23. Ji, M., Su, X., Liu, J., Zhao, Y., Li, Z., Xu, X, et al. (2017) 'Comparison of naturally aging and D-galactose induced aging model in beagle dogs', *Experimental and Therapeutic Medicine*, 14(6), pp. 5881–5888. doi: 10.3892/etm.2017.5327.
 24. Yanar, K., Simsek, B., Atukeren, P., Aydin, S. and Cakatay, U. (2019) 'Is D-Galactose a Useful Agent for Accelerated Aging Model of Gastrocnemius and Soleus Muscle of Sprague-Dawley Rats?', *Rejuvenation Research*, 22(6), pp. 521–528. doi: 10.1089/rej.2019.2185.
 25. Bintang, S.S., Siregar, Y., Ichwan, M. (2019) 'Studi Preliminari Tentang Pengaruh D-Galaktosa Dalam Menginduksi Stres Oksidatif Pada Mencit Jantan Galut Outbred FK USU', *Jurnal Farmasi*, 2(1). doi: 10.35451/jfm.v2i1.191
 26. Zhao, X., Yi, R., Zhao, X., Mu, J., Long, X., Pan, Y., Song, J.L., Park, K.Y. (2019) 'Preventive effect of Lactobacillus plantarum KSFY02 isolated from naturally fermented yogirt from Xinjiang, China, on D-galactose-induced oxidative aging in mice, *J Diary Sci*, 102, pp. 5899-5912. doi: 10.3168/jds.2018-16033.