

ABSTRAK

Latar belakang: Indonesia mempunyai nilai indeks ultra violet (IUV) yang ekstrim tinggi dari batas maksimum yang diterapkan WHO akibat tingginya pajanan sinar ultra violet (UV). Radiasi menyebabkan kerusakan DNA dan stres oksidatif yang mengakibatkan *photoaging* atau penuaan dini. Lendir *Achatina fulica* mengandung *Acharan sulfat* dan komponen lain yang dapat digunakan untuk mencegah penuaan dini.

Tujuan: Mengkaji mekanisme molekuler lendir *A. fulica* dalam mencegah proses penuaan dini pada kulit akibat pajanan sinar ultra violet B (UVB) dengan melihat perubahan ekspresi berbagai gen yang bertanggung jawab pada penuaan dini seperti p53, miR-23a, SMAD3, HAS2, MMP-1, COL1, dan COL3.

Metode: Lendir *A.fulica* diambil dari 50 ekor *A.fulica* yang dirangsang dengan stres listrik 5-10Volt selama 30-60 detik, kemudian dilakukan kering beku. Fibroblas kulit manusia dibagi menjadi 6 kelompok: Kelompok 1 (kontrol normal) yaitu fibroblas dalam medium lengkap, Kelompok 2 (kontrol negatif) yaitu fibroblas + UVB 100mJ/cm² dalam medium lengkap, kelompok 3 (kontrol positif) terdiri dari fibroblas + UVB 100mJ/cm² + PRP dalam medium lengkap, kelompok 4 (AF 3) adalah fibroblas + UVB 100mJ/cm² + AF 3,9µg/ml dalam medium lengkap, kelompok 5 (AF 15) adalah fibroblas + 100mJ/cm² + AF 15,625µg/ml dalam medium lengkap dan kelompok 6 (AF 62) adalah fibroblas + UVB 100mJ/cm² + AF 62,5µg/ml dalam medium lengkap. Setelah perlakuan, pada setiap kelompok diukur proliferasi fibroblas dengan MTT *assay* dan deposisi kolagen dengan *Sirius red*, ekspresi miR-23a-3p, ekspresi mRNA p53, SMAD3, HAS2, MMP-1, COL1, dan COL3 dengan qPCR. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diuji normalitasnya dengan uji Kolmogorov-Smirnov dilanjutkan dengan uji Anava satu jalur dan uji *post hoc* LSD.

Hasil: Kelompok yang diberi lendir *A.fulica* menunjukkan hasil proliferasi fibroblas, deposisi kolagen, ekspresi mRNA COL 1, COL 3, SMAD3 dan HAS2 yang lebih tinggi secara signifikan ($p<0,05$) masing-masing sebesar 2, 2, 6, 8, 5 dan 5 kali lipat sedangkan ekspresi MMP-1, p53 dan miR-23a lebih rendah secara signifikan ($p<0,05$) masing-masing sebesar 4, 5, dan 5 kali lipat dibandingkan dengan kelompok UVB. Dosis lendir *A.fulica* 62,5µg/ml memberi hasil yang paling baik.

Kesimpulan: Lendir *A.fulica* mencegah proses penuaan dini fibroblas kulit manusia yang dipapar UVB melalui hambatan pada ekspresi mRNA p53, miR-23a, MMP-1, dan meningkatkan ekspresi SMAD3, HAS2, COL1 serta COL3.

Kata kunci: *Achatina fulica*, UVB, fibroblas, miR-23a, SMAD3, HAS2, kolagen

ABSTRACT

Background: Ultra violet index (UVI) in Indonesia is extremely high according to WHO maximum limit. UVB induces skin premature aging by increasing cumulative DNA damage and oxidative stress. *Achatina fulica* mucous is a natural remedies containing *Acharan sulfate* and other agents that can be used as antiaging.

Objective: to investigate molecular mechanism of *A. fulica* mucous in preventing skin premature aging due to UVB exposure by assessing the fibroblast proliferation, collagen deposition, expression of miR-23a-3p, mRNA expression of p53, SMAD3, HAS2, MMP-1, COL1, and COL3.

Methods: The mucous was extracted from 50 *Achatina fulica* snails stimulated with a 5-10Volt electricity shock for 30-60 seconds and subsequently converted into powder by the freeze-drying process. The human dermal fibroblast cell culture was divided into six groups: group 1 were normal fibroblasts without UVB irradiation as normal control, groups 2-5 consisted of 100mJ/cm² UVB induced aged fibroblasts. Group 2 had no treatment as negative control, group 3 was treated by PRP 10% as positive control group and groups 4-6 were treated by various concentrations of *Achatina fulica* mucous (3.9µg/ml; 15.625 µg/ml and 62.5 µg/ml). At the end of the experiment, the proliferation was assessed with MTT assay, collagen deposition was measured by Sirius red assay while expression level of miR-23a, and mRNA expression level of p53, SMAD3, HAS2, MMP-1, COL I, COL III in different fibroblast groups was assessed by quantitative RT-PCR. The data then analyzed by *One way Anova* ($p < 0,05$), post hoc test *LSD Test*.

Results: The AF treated groups showed significantly higher results of fibroblast proliferation, collagen deposition, mRNA expression of COL 1, COL 3, SMAD3 and HAS2 ($p < 0.05$) respectively 2, 2, 6, 8, 5, and 5 folds, meanwhile the expressions of MMP-1, p53 and miR-23a were significantly lower ($p < 0.05$) by 4, 5, and 5 folds, respectively compared to the UVB group. Concerning the concentration of *Achatina fulica* mucous, the 62.5 µg/mL gave the best result.

Conclusion: *Achatina fulica* mucous prevents premature aging of UVB-induced human skin fibroblasts through decreased mRNA expression of p53, miR-23a, MMP-1 and increased mRNA expression of SMAD3, HAS2, COL1 serta COL3.

Key word: *Achatina fulica*, UVB, fibroblast, miR-23a, SMAD3, HAS2, collagen