

KULIAH 6
LANJ. APLIKASI BIOTEKNOLOGI
DALAM SKIN CARE
& PERFUME

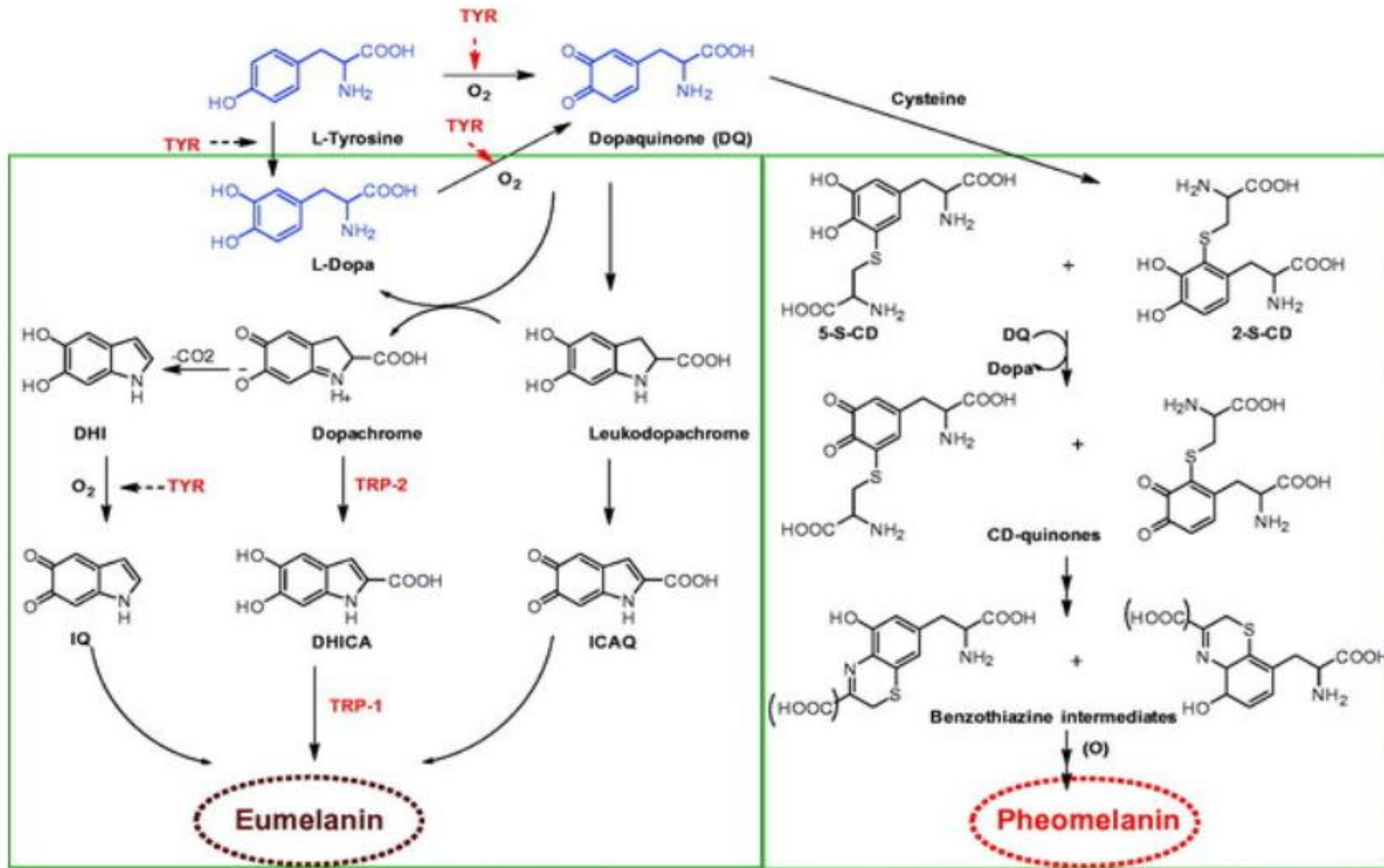
**Biotechnology
in Personal Care**

edited by
Raj Lad

7. Biotechnology in Skin Care (III): Skin Aging.....	163
Introduction	163
Processes of Skin Aging.....	164
What will Biotechnology Deliver in Terms of Target Identification?.....	174
Skin Anti-Aging Technologies	175
Sphingolipids	185
Conclusions	193
References	193
8. Biotechnology in Skin Care (IV): Skin Pigmentation, Lightening, & Darkening	201
Skin Color, Lightening, and Darkening.....	201
Biotechnology-Generated Research Tools for Pigmentation Studies....	204
Skin Color Modulation—More than Tyrosinase Inhibition.....	206
Proteins and Peptides in Pigment-Altering Products: The Challenges...	218
References	221
9. Biotechnology in Skin Care (V): UV & Sun Protection.....	227
Introduction	229
Short-Term UV Effects on Skin	231
Long-Term UV Effects on Skin	234
Photoprotective Mechanisms of Topical Sunscreens.....	238
New Measures of Photoprotection	241
Summary	241
References	

WARNA KULIT - PENCERAH & TANNING

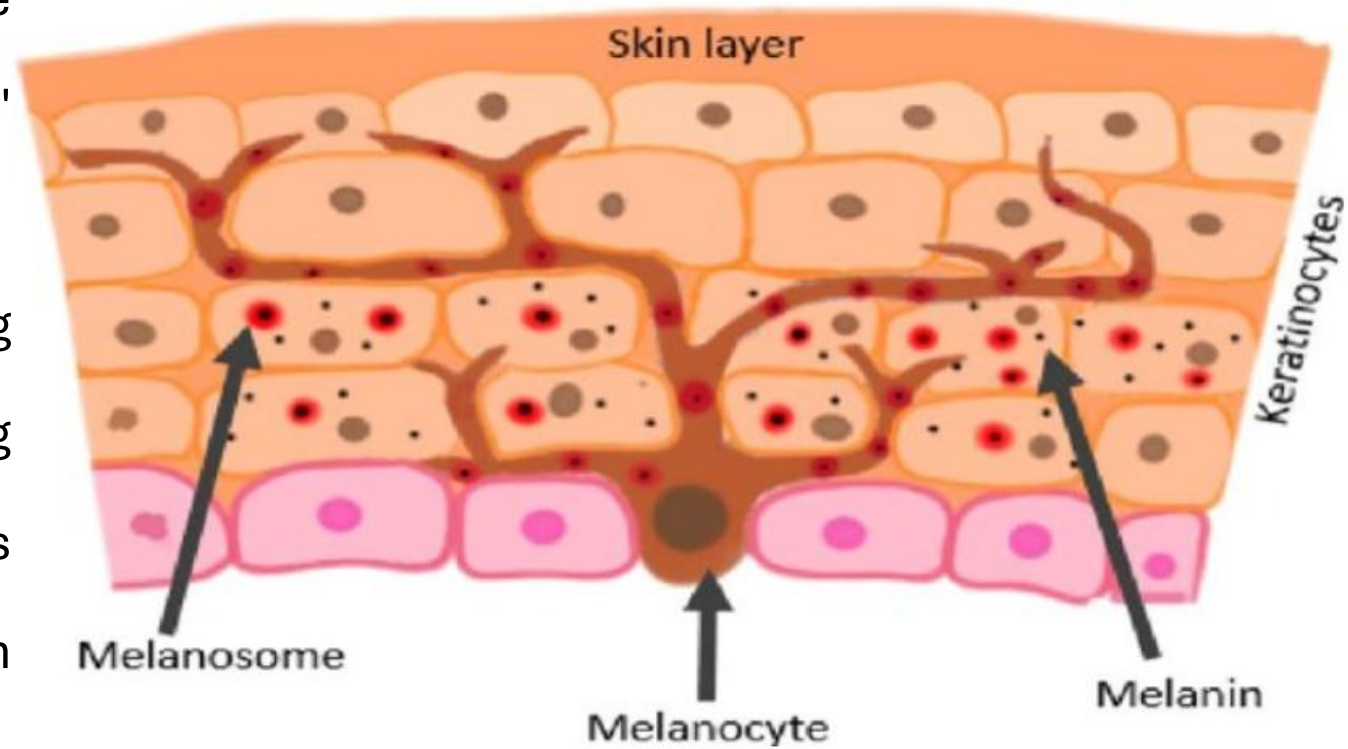
- Pria maupun wanita sering kali ingin mengubah warna kulit untuk alasan medis atau kosmetik.
- Dalam budaya tertentu diinginkan kulit "putih porselen" kadang "tampilan kecokelatan" lebih disukai. Menariknya, kebutuhan untuk menghilangkan hiperpigmentasi dan mengurangi visibilitas bintik-bintik penuaan, atau warna kulit yang tidak merata bersifat **universal**, sehingga diseluruh dunia ada kebutuhan akan **senyawa pengatur pigmen yang aman dan efektif**. Kekhawatiran akan perubahan warna kulit juga sering muncul karena alasan medis. Gangguan pigmentasi dapat **diturunkan** (misal vitiligo, sindrom Waardenburg), **didapat** (misal pityriasis alba pasca-inflamasi, hipomelanosis gutata idiopatik, melasma), **terkait pengobatan** (minosiklin, bleomisin, busulfan, zidovudin), atau **melalui infeksi** (misal tinea versikolor).
- Metode untuk Depigmentasi antara lain inhibitor tirosinase, hidrokuinon, retinoid, dan senyawa sitotoksik melanosit dianggap masih kurang memuaskan, perlu yang lebih efektif, aman, dan kurang mengiritasi.
- Penggelapan kulit dengan paparan UV alami atau alat *tanning* buatan dapat memicu *premature aging* dan meningkatkan insiden kanker kulit. Metode "**tanning tanpa sinar matahari**" dengan **dihidroksiaseton** atau melanin sintetis topical menghasilkan warna kulit yang "tidak alami", hanya sedikit melindungi pengguna dari radiasi UV, dan tidak efektif bila hidrasi kulit tinggi.



Jalur Melanogenesis (menghasilkan eumelanin dan pheomelanin).

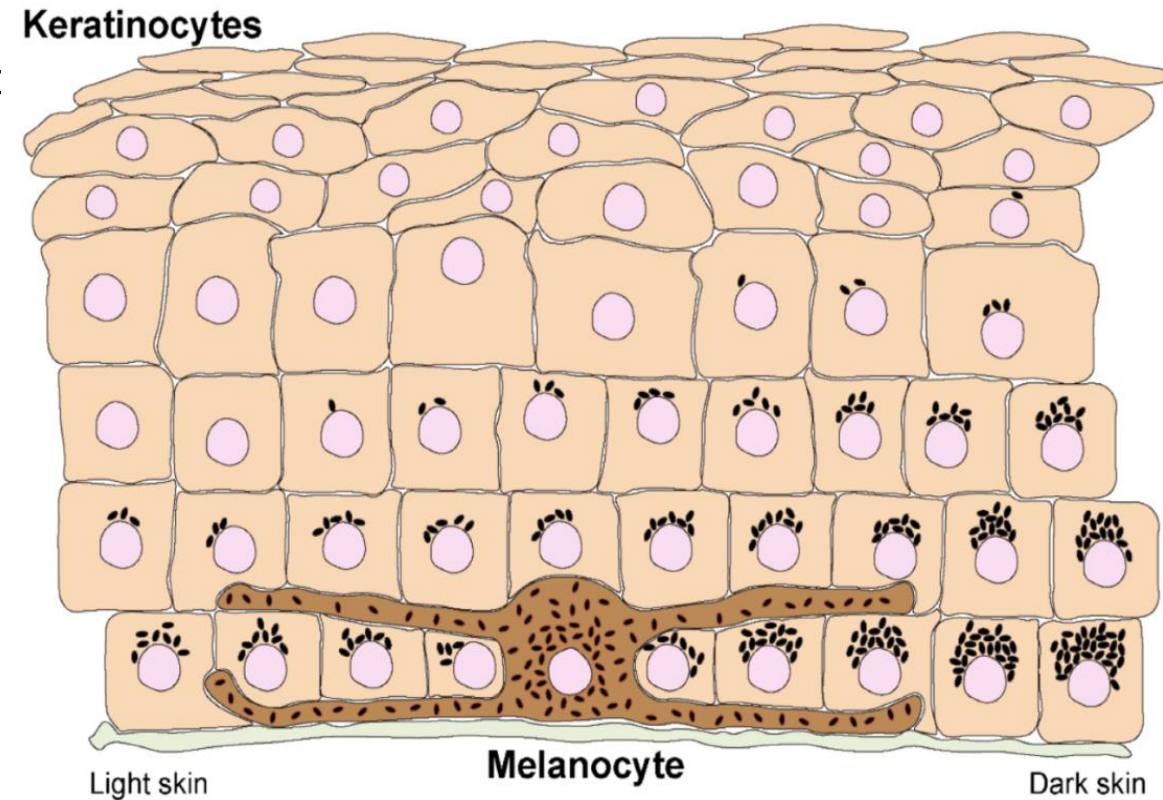
(Tyr: tyrosinase; DQ: dopaquinone; L-Dopa: L-3:4-dihydroxyphenylalanine; DHICA: 5,6-dihydroxyindole-2 carboxylic acid; DHI: 5,6-dihydroxyindole; ICAQ: indole-2-carboxylic acid-5,6-quinone; IQ: indole-5,6-quinone; HBTA: 5-hydroxy-1,4-benzothiazinylalanine).

- **Melanogenesis** adalah proses biokimia kompleks di mana pigmen melanin diproduksi didalam sel khusus yang disebut melanosit yang terletak di lapisan basal. Proses ini terjadi di dalam organel khusus yang dikenal sebagai melanosom.
- Melalui melanosome, melanin ditransfer ke keratinosit, membentuk "tutup" supranuklear pelindung di atas nukleus.
- Distribusi ke atas lapisan basal. Kulit yang lebih gelap menunjukkan distribusi yang lebih luas di seluruh lapisan epidermis bagian atas sedangkan kulit yang lebih terang memusatkannya di bagian dasar.



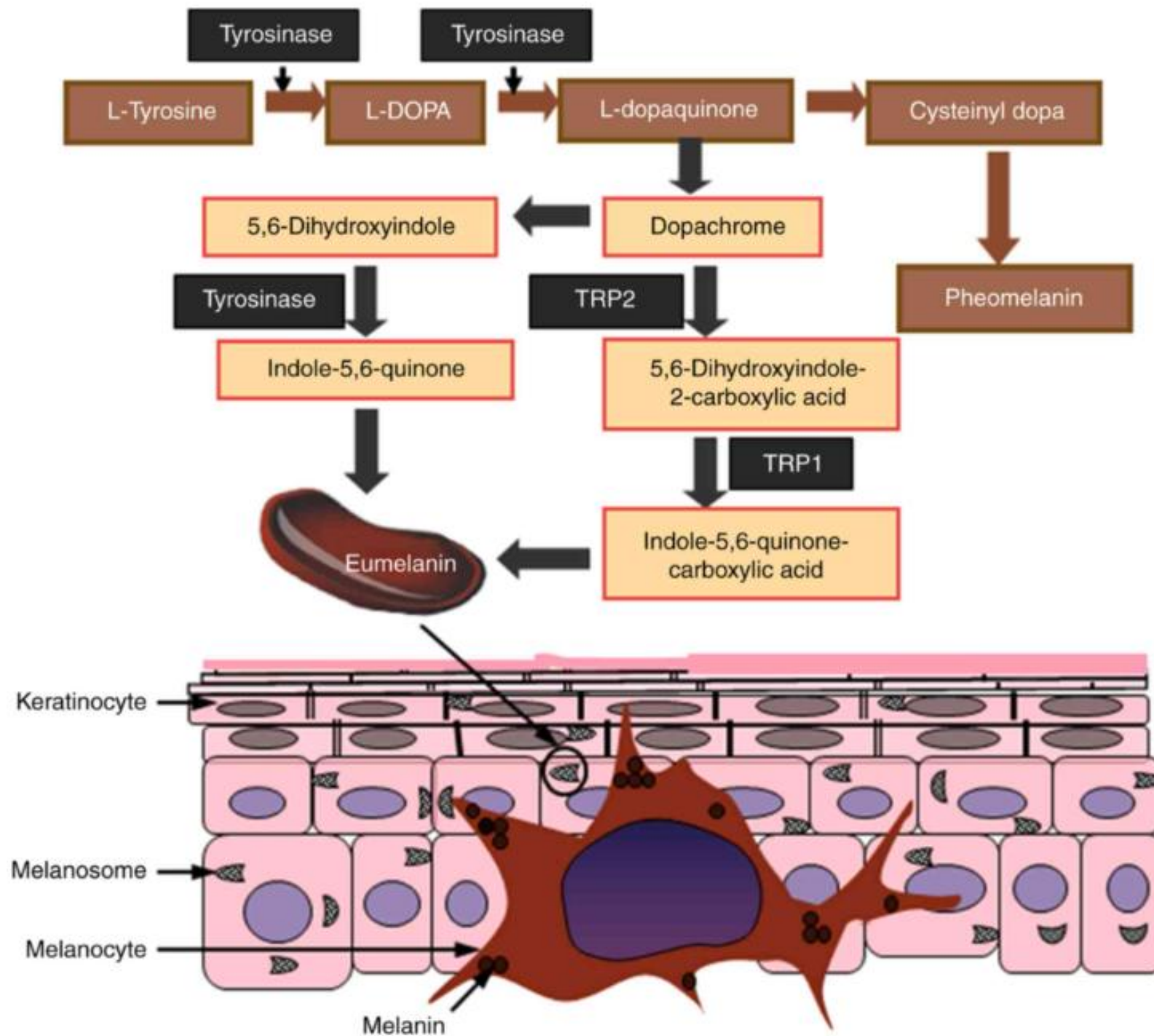
Distribusi Melanin:

- Satu melanosit mendistribusikan melanin ke sekitar 30–40 keratinosit disebut **unit epidermal-melanin**
- Trasfer melanosom ke keratinosit melalui metode:
 - a) Sitofagositosis:** Keratinosit menelan ujung dendrit melanosit.
 - b) Fusi Langsung:** Membran sel melanosit menyatu dengan keratinosit.
 - c) Pelepasan Vesikel:** Melanosom dilepaskan dalam vesikel.
 - d) Eksositosis/Fagositosis:** Melanin dilepaskan ke ruang antarsel dan kemudian ditelan oleh keratinosit.
- Penempatan Intraseluler: Setelah berada di dalam keratinosit, melanosom diangkut menuju inti sel, membentuk penutup pelindung yang melindungi DNA genom dari radiasi ultraviolet (UV)



- Enzim tirosinase (TYR) merupakan faktor kritis, dan pembatas laju yang memulai kedua jalur bercabang tsb
- Oksidasi Awal: Tirosinase mengubah L-tirosin menjadi L-DOPA, dan kemudian mengoksidasi L-DOPA menjadi dopakuinon.
- Dopakuinon adalah zat perantara yang sangat reaktif yang dapat mengikuti dua jalur berbeda:
 - ✓ Jalur Feomelanin: Jika sistein atau glutathione hadir, dopakuinon bereaksi membentuk sisteinildopa, yang akhirnya berpolimerisasi menjadi pigmen feomelanin (merah-kuning)
 - ✓ Jalur Eumelanin: Tanpa adanya kadar tiol yang tinggi, dopakuinon secara spontan berubah menjadi dopakrom.
- Sintesis Eumelanin: Jalur ini selanjutnya diatur oleh enzim spesifik:
 - ✓ TRP-2 (Dopachrome Tautomerase): Mengubah dopakrom menjadi DHICA.
 - ✓ TRP-1 (Tirosinase Related Protein 1): Mengkatalisis oksidasi DHICA menjadi indol-kuinon, yang menghasilkan pigmen Eumelanin akhir.

	Jalur Eumelanin	Jalur Feomelanin
Enzim utama	Tirosinase; TRP-1; TRP-2	Tirosinase
Senyawa kunci tambahan	Tidak ada (konversi secara spontan)	Cystein atau Glutathione
Warna kulit yang dihasilkan	Coklat ke Hitam	Kuning ke merah



Selain dengan inhibitor tyrosinase (STI) pengaturan warna kulit dilakukan dengan:

- 1. Penghambatan Transfer Melanosom** - Proses ini mencegah transfer melanosom yang mengandung melanin dari melanosit ke keratinosit di sekitarnya.
 - **Niasinamida (Vitamin B3):** Menghambat transfer melanosom ke keratinosit tanpa mempengaruhi aktivitas tirosinase secara langsung.
 - **Ekstrak Kedelai/Inhibitor Serine Protease:** Memblokir interaksi antara keratinosit dan melanosit.
- 2. Regulasi MITF dan Transkripsi** - target faktor transkripsi yg mengatur ekspresi tirosinase, TRP-1, & TRP-2.
 - **Retinoid (turunan Vitamin A):** Menghambat transkripsi tirosinase dan mempercepat pergantian keratinosit, membantu menghilangkan pigmentasi.
 - **Resveratrol:** Menghambat aktivitas promotor MITF dan tirosinase.
- 3. Percepatan Pergantian Epidermal (Eksfoliasi)** - Meningkatkan pergantian sel kulit untuk mempercepat pengelupasan keratinosit berpigmen.
 - **AHA (seperti Asam Glikolat, Asam Laktat):** Meningkatkan pergantian sel dan menghilangkan melanin yang menumpuk di epidermis.
 - **Asam salisilat:** Bertindak sebagai agen deskuamasi, melarutkan matriks intraseluler stratum korneum.

4. **Peningkatan Degradasi Tirosinase** - Mempercepat degradasi enzim tirosinase (selain menghambat aktivitas).
 - **Asam Linoleat:** Mempercepat degradasi tirosinase melalui jalur ubiquitin-proteasom.
 - **Gallacetophenone:** Mendorong degradasi tirosinase yang dimediasi proteasom.
5. **Antioksidan dan Agen Redoks** - Menangkap radikal bebas hasil radiasi UV yang mengaktifkan melanosit.
 - **Vitamin C/Asam Askorbat:** Menangkap radikal bebas & mengurangi prekursor melanin teroksidasi.
 - **Bakuchiol:** antioksidan kuat, mengurangi peradangan, dan mengatur transfer melanin.
 - **Asam Traneksamat:** Mengganggu hubungan antara melanosit dan keratinosit, mengurangi pigmentasi yang disebabkan oleh sinar UV
6. **Jalur Metabolisme Alternatif**
 - **Obat-obatan Tiopurin (misalnya, Tioguanin):** Digunakan dalam reposisi obat untuk mengurangi kandungan melanin.
 - **Nelfinavir:** Inhibitor protease HIV yang diidentifikasi sebagai penekan kuat ekspresi MITF melalui jalur MAPK.

Kombinasi metode diatas untuk mendapatkan "spektrum luas", memastikan pengelolaan pigmentasi ditingkat seluler, transkripsional, & fisik, utk mengurangi risiko inhibitor tirosinase murni jangka panjang seperti hidrokuinon.

- Melanin diproduksi oleh sel-sel khusus yang disebut melanosit. Protein yang ada di permukaan Melanosit disebut reseptor **melanokortin 1 (MC1R)**.
- Sistem melanokortin adalah jalur pensinyalan neuro-imun-endokrin utama mengatur metabolisme, pigmentasi, & peradangan, yang dimediasi oleh 5 reseptor yang terhubung dgn protein G (MC1R–MC5R).
- Dalam sistem melanokortin, **ligan** adalah molekul yang mengikat satu atau lebih dari lima reseptor melanokortin (MC1R–MC5R) untuk mengaktifkan (agonis) atau menghambat (antagonis) reseptor tsb.
- Ligand meliputi **agonis endogen** yang berasal dari proopiomelanokortin (POMC) : α -, β -, γ -MSH, dan ACTH; dan **antagonis** seperti protein terkait agouti (AgRP).
- Evaluasi bahan yang menargetkan MC-R terhadap potensi mengubah warna kulit. MSH dan ACTH mengaktifkan Reseptor melanocortin, sedangkan Agouti serta protein terkaitnya menghambat. Pada hewan pengerat diketahui Peptida **MSH dan ACTH menginduksi produksi pigmen**, sedangkan **protein Agouti menghambat produksi pigmen**
- Gen MC1R memberikan instruksi untuk membuat MC1R (reseptor melanokortin 1). Gen lain selain Gen MC1R yang berperan dalam pigmentasi manusia, yang terlibat dalam produksi melanin di rambut, termsk

- ASIP, DTNBP1, GPR143, HPS3, KITLG, MLPH, MYO5A, MYO7A, OCA2, SLC45A2, SLC24A5, TYRP1, TYR, ERCC6, GNAS, HERC2, IRF4, OBSCN, SLC24A4, TPCN2, dan MITF.
- *Melanocyte Stimulating Hormone* (MSH) atau Hormon perangsang melanosit yang diproduksi di kelenjar pituitari mengatur produksi melanin di kulit.

Aspek-aspek kunci interaksi ligan melanokortin meliputi:

- **Agonis** Alami - menstimulasi reseptor, biasanya mengandung urutan asam amino His-Phe-Arg-Trp (HFRW) yang terkonservasi yang diperlukan untuk aktivasi.- α -MSH, β -MSH, dan γ -MSH (Peptida kecil yang terlibat dalam pigmentasi, homeostasis energi, dan peradangan).
- **Peran Fungsional:**
 - MC1R: Afinitas tinggi terhadap -MSH; mengontrol pigmentasi kulit/rambut.
 - MC2R: Merangsang sintesis glukokortikoid adrenal. Diaktifkan eksklusif oleh ACTH (membutuhkan protein aksesori MRAP untuk berfungsi).
 - MC3R & MC4R: Reseptor "saraf" yang terlibat dalam keseimbangan/homeostasis energi dan rasa lapar.
 - MC5R: Terkait dengan fungsi kelenjar eksokrin dan regulasi sebosit.
- **Antagonis:** Protein Agouti dan AgRP bersaing dengan melanokortin, menghambat aktivitas reseptor.

- ACTH (Adrenocorticotropik Hormon): Peptida yang lebih besar, merupakan ligan utama untuk MC2R, sangat penting untuk fungsi adrenal.
- MSH dan ACTH **mengaktifkan** Reseptor melanocortin; Agouti dan protein terkaitnya **menghambat**. Diamati pada hewan pengerat bahwa Peptida **MSH dan ACTH** **menginduksi produksi pigmen**, sedangkan **protein Agouti** **menghambat produksi pigmen**.
- Bahan dengan aktivitas agonis atau antagonis terhadap MC1-R yang digunakan secara topikal efektif memodulasi warna kulit tanpa efek sistemik yang tidak diinginkan.
- Menggunakan sistem bioteknologi yang sederhana telah diproduksi Peptida mirip MSH dengan aktivitas agonis atau antagonis, dan tersedia di pasar
- Afamelanotide (Scenesse): Analog sintetis dari β -MSH digunakan untuk perlindungan kulit.
- Setmelanotide: Agonis MC4R selektif untuk mengobati obesitas genetik tertentu.
- MT-II dan SHU9119 adalah Probe laboratorium yang terkenal untuk mempelajari fungsi reseptor;
- MT-II adalah agonis poten, SHU9119 merupakan antagonis pada MC3R dan MC4R.

Reseptor c-Kit dan Ligand-nya

- **C-Kit** adalah reseptor membran yang memiliki **aktivitas tirosin kinase**, yang diekspresikan dalam melanosit manusia. Reseptor c-kit dan ligand-nya, faktor pertumbuhan **Stem Cell Factor (SCF)** sangat penting untuk diferensiasi dan kelangsungan hidup melanosit, dan diketahui dapat menginduksi produksi pigmen. Percobaan pemblokiran reseptor c-kit dengan injeksi antibodi menghambat pigmentasi yang diinduksi UVB, menunjukkan bahwa **c-kit dapat berfungsi sebagai target untuk agen modulasi pigmen**.
- Mutasi pada c-kit atau ligand-nya mengakibatkan kegagalan melanosit untuk mencapai kulit selama embriogenesis. Pada tikus transgenik yang mengekspresikan isoform MA SCF manusia secara berlebihan (hSCF), diidentifikasi efek antagonis. Tikus yang mengekspresikan transgen hSCF memiliki defisiensi warna bulu dan dahi yang memerah, bintik-bintik putih di daerah serviks, dan bintik putih besar di perut. Dapat dipakai untuk merancang **agonis mirip SCF atau antagonis c-kit** yang akan memodulasi warna kulit. Meskipun tersedia teknologi untuk merancang dan memproduksi gen tsb, namun keseluruhan efek biologis dari senyawa modulasi c-kit belum dipahami sepenuhnya.

Jalur reseptor Endothelin-1 (ET-1) - dapat meningkatkan melanogenesis.

- ET-1 yang diproduksi keratinosit akibat radiasi UV mengaktifkan jalur sinyal MITF dan GPNMB, memicu proliferasi melanosit dan sintesis pigmen, yang berkontribusi pada hiperpigmentasi seperti melasma.
- **Mekanisme Pengaruh Reseptor Endotelin (ETB) pada Melanogenesis:**
 - a) **Aktivasi oleh Sinar UV:** Paparan sinar UV memicu keratinosit untuk melepaskan ET-1.
 - b) **Ikatan Reseptor:** ET-1 berikatan dengan reseptor Endotelin tipe B (ETBR) di permukaan melanosit.
 - c) **Stimulasi Melanogenesis:** Ikatan ini mengaktifkan jalur sinyal yang meningkatkan ekspresi *Microphthalmia-associated transcription factor* (MITF), merupakan regulator utama produksi melanin.
 - d) **Peran dalam Hiperpigmentasi:** Jalur ini krusial dalam patogenesis hiperpigmentasi kulit, termasuk melasma, karena meningkatkan jumlah dan aktivitas melanosit.
- **Implikasi Klinis:**

Pemahaman tentang jalur ini penting dalam pengembangan senyawa pencerah kulit. Inhibitor jalur endotelin, atau bahan yang menghambat ikatan ET-1 dengan reseptornya, berpotensi menjadi terapi efektif untuk mengurangi hiperpigmentasi akibat paparan matahari atau kondisi kulit lainnya

Microphthalmia-associated transcription factor (MITF)

Fungsi dan Karakteristik Utama:

- **Pengatur Utama Melanosit:** MITF mengatur diferensiasi dan kelangsungan hidup sel pigmen.
- **Peran Garis Keturunan Sel:** amat penting untuk perkembangan melanosit, sel mast, osteoklas, & RPE.
- **Onkogen Melanoma:** Sering kali mengalami amplifikasi atau ekspresi berlebihan, yang membantu kelangsungan hidup, proliferasi, dan adaptasi metabolisme tumor.
- **Regulasi Gen:** Mengatur ratusan gen yang terlibat dalam pigmentasi (misalnya, *TYR*, *PMEL*), fungsi lisosom, dan autofagi.
- **Isoform:** ada 5 isoform (A, B, C, H, M) dengan promotor dan pola ekspresi yang berbeda. M pada melanosit.

Regulasi: aktivitas MITF dikendalikan secara ketat oleh beberapa jalur, termasuk:

- **Wnt/ β -catenin:** Merangsang ekspresi MITF.
- **PAX3/SOX10:** Faktor transkripsi yang meningkatkan regulasi MITF.
- **Jalur MAPK (ERK):** Mengatur ekspresi dan fungsi MITF, memengaruhi proliferasi versus diferensiasi.
- **MikroRNA:** miR-137, miR-148, dan miR-182 scr langsung menargetkan & mengurangi ekspresi MITF

Protein kinase (seperti PKA, PKC, MAPK) berperan dalam melanogenesis dengan mengaktifkan jalur pensinyalan intraseluler yang mengatur ekspresi MITF, yang kemudian memicu enzim tirosinase untuk memproduksi melanin. PKA diaktifkan oleh kenaikan cAMP. MAPK & PKC mengatur respons seluler terhadap sinyal luar, termasuk paparan UV.

Peran Utama Protein Kinase dalam Melanogenesis:

- **Protein Kinase A (PKA):** Jalur ini aktif ketika α -MSH mengikat reseptor MC1R, menyebabkan peningkatan cAMP yang akan mengaktifkan PKA, memicu ekspresi MITF, & mendorong melanogenesis.
- **Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK):** Jalur ini, termasuk ERK, p38, dan JNK, terlibat dalam regulasi ekspresi gen tirosinase, TRP-1, dan TRP-2.
- **Protein Kinase C (PKC):** Berperan dalam jalur pensinyalan yang merangsang produksi melanin, sering kali diaktifkan oleh faktor luar seperti angiotensin II.
- **Ribosomal S6 Kinase 2 (RSK2):** Membentuk jalur sinyal dengan *forkhead box protein O4* (FOXO4) yang penting dalam melanogenesis.

Regulasi Molekuler: Protein kinase memodulasi faktor transkripsi MITF (merupakan pengatur utama sintesis melanin). Penghambatan jalur protein kinase dapat menurunkan produksi melanin berpotensi sbg depigmentasi.

Jalur *Protease-Activated Receptor 2 (PAR-2)* amat berperan dalam melanogenesis terutama memfasilitasi transfer melanosom (pigmen melanin) dari melanosit ke keratinosit.

Aktivasi PAR-2 oleh paparan UV atau peradangan meningkatkan pengambilan melanosom, menyebabkan pigmentasi kulit atau hiperpigmentasi. Menghambat jalur ini merupakan target untuk pencerah kulit.

Pengaruh Utama Jalur PAR-2 dalam Melanogenesis:

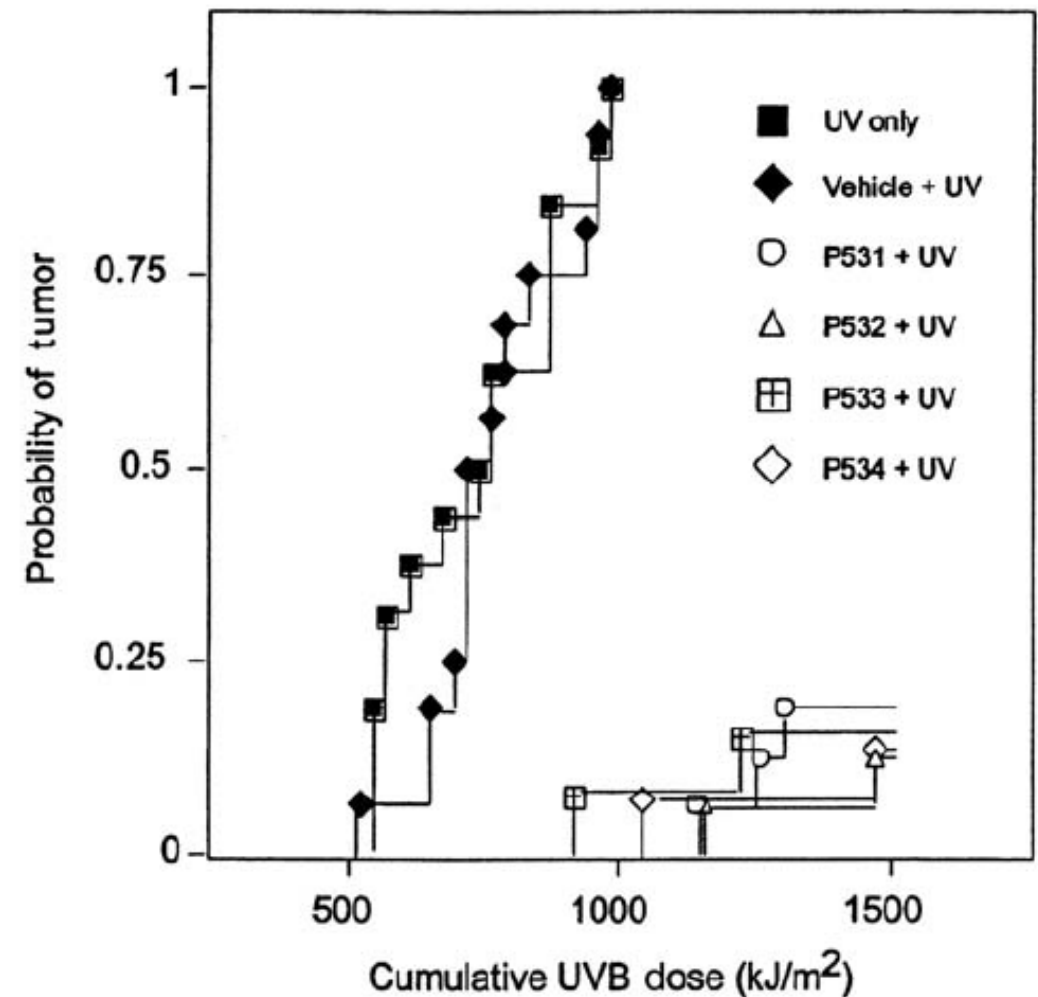
- 1. Transfer Melanosom:** PAR-2 berlokasi di keratinosit dan berinteraksi dengan melanosit untuk mempercepat fagositosis melanosom.
- 2. Aktivasi oleh UV:** Paparan sinar UV memicu pelepasan protease yang mengaktifkan PAR-2, memacu perpindahan pigmen secara berlebihan ke sel kulit.
- 3. Hiperpigmentasi:** Jalur ini diaktifkan pada kasus melasma. Apabila jalur ini dihambat, akan mengurangi munculnya noda hitam.
- 4. Target Bahan Aktif:** Bahan aktif seperti *niacinamide* bekerja dengan menghambat transfer melanosom melalui modulasi jalur PAR-2, bukan menghambat tirosinase secara langsung.

Secara ringkas, PAR-2 bertindak sebagai "jembatan" yang diatur oleh sinyal lingkungan untuk menentukan jumlah pigmentasi yang diterima keratinosit

Penilaian Efektivitas Tabir Surya

- Penggunaan induksi kanker dalam menilai efektivitas senyawa tabir surya pada hewan percobaan merupakan titik akhir jangka panjang yang membutuhkan banyak tenaga kerja dan waktu.
- Induksi tumor tidak dapat dilakukan pada manusia karena pertimbangan etika dan waktu yang dibutuhkan, sehingga perlu dikembangkan titik akhir lainnya yang lebih akurat selain pembentukan eritema untuk memprediksi efektivitas tabir surya dalam mencegah perkembangan kulit.
- Analisis kanker kulit manusia & kanker pada tikus yang diinduksi UV untuk mutasi gen p53 memberikan wawasan baru mekanisme molekuler atas radiasi UV dalam menginduksi kanker kulit.
- Kelompok mutan p53-positif terdeteksi jauh sebelum munculnya kanker kulit pada kulit tikus yang diradiasi UVB, dan mutasi gen p53 dianggap berhubungan langsung dg perkembangan kanker kulit.
- Tikus yang diradiasi secara kronis dengan lampu matahari FS-40, menunjukkan aplikasi tabir surya (baik UV B absorber ataupun UV A & B dengan SPF 15 pada manusia) terbukti menghalangi induksi mutasi gen p53 secara signifikan. Dibandingkan dengan kontrol yang diobati dengan UV p vehicle, tercatat **pengurangan 88%** dalam frekuensi mutasi saat diaplikasikan UVB absorber, dan pengurangan 92% saat UVB & UVA absorber diaplikasikan

- Penelitian ulang dengan solar simulator UV memberikan hasil yang **identic**. Kelompok tikus disinari dengan solar stimulator UV tanpa atau dengan aplikasi tabir surya, menunjukkan bahwa 100% tikus yang menerima dosis kumulatif 1000 kJ/m² UVB saja, atau vehicle UVB, mengalami perkembangan tumor kulit. Perkembangan tumor pada semua tikus yang diaplikasikan tabir surya p1000 kJ/m² UVB = 2%.
- Kedua tabir surya memiliki efektif yang hampir sama dalam mencegah perkembangan tumor kulit. **Kesimpulan:** efek mutagenik dan karsinogenik dari radiasi solarsimulator terutama disebabkan oleh panjang gelombang UVB dan **bukan UVA**.



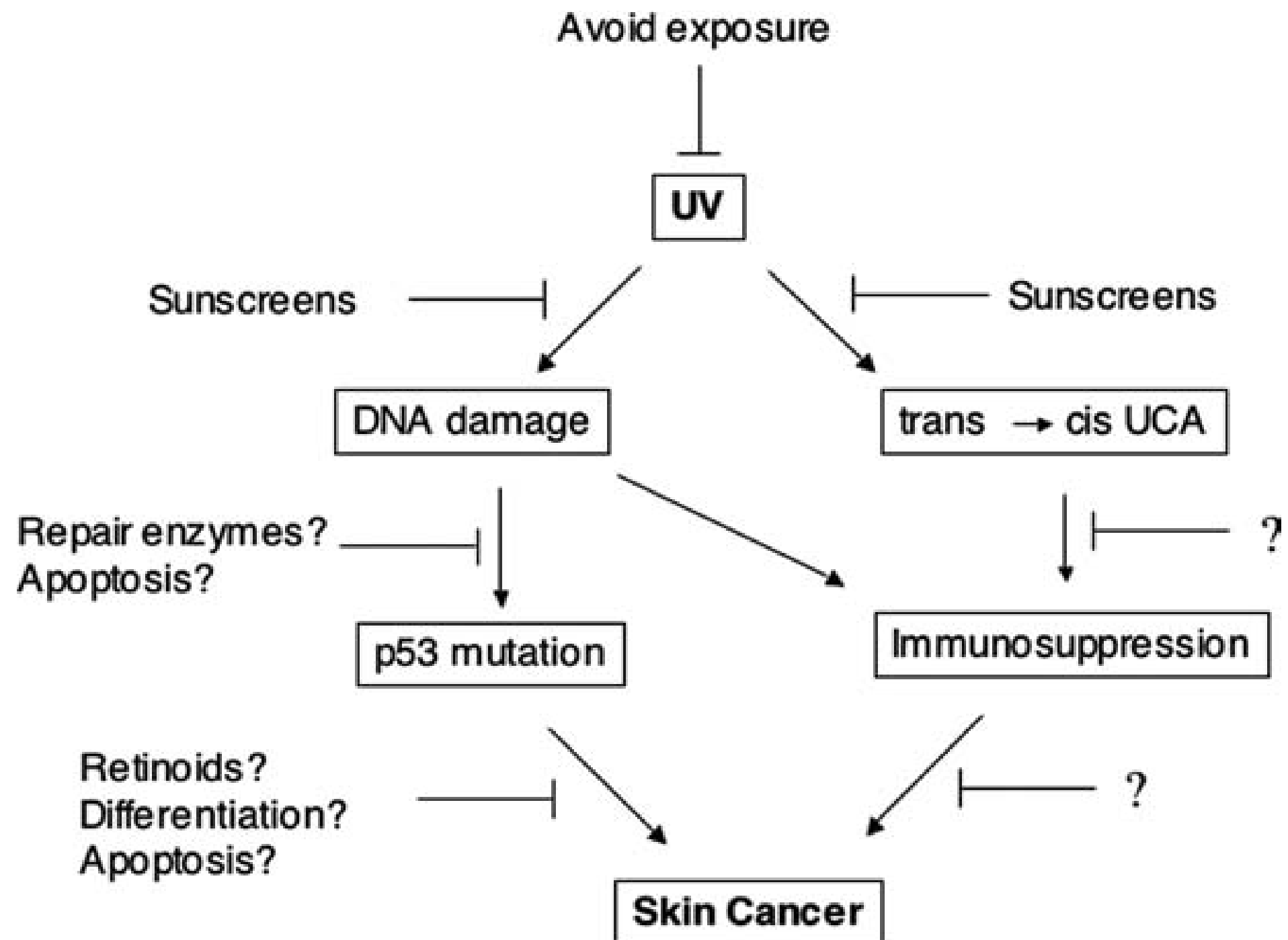
Gb 4. Aplikasi tabir surya dalam mencegah induksi kanker kulit akibat sinar UV pada model tikus. Sediaan yang hanya mengandung UVB absorber (P531 & P532) atau UVB dan UVA absorber (P533 & P534) diaplikasikan ke kulit punggung tikus 30 menit sbllm dipaparkan sinar UV. Kedua jenis tabir surya memiliki efektifitas yang sama dlm mencegah pembentukan kanker kulit.

Pengaruh sinar UV terhadap Imunosupresi serta kerusakan DNA;

- Kurva dosis-respons untuk imunosupresi pada tikus yang terpapar UVA & UVB, atau UVA saja, **IDENTIK**.
- Tidak terjadi imuno supresi saat tikus diradiasi dengan UVA I (340-400 nm), sehingga UVA II (320–340 nm) yang ada dalam radiasi solar simulator yang bertanggung jawab terhadap imunosupresi.
- Dilakukan konfirmasi pada dua tabir surya: P532 sebagai UVB absorber dan P533 sebagai UVB & UVA absorber. Kedua tabir surya tersebut memiliki SPF 15 pada manusia.
- Tidak ada perlindungan kekebalan yang diamati saat P532 diaplikasikan pada tikus sebelum paparan UV. Ketika P533 diaplikasikan 30 menit sebelum paparan UV, tidak ada imunosupresi yang diamati.
- Radiasi UVA merupakan panjang gelombang kritis dalam imunosupresi sehingga perlindungan UVA sangat diperlukan. UV A lebih bersifat imunosupresif daripada eritromogenik, SPF tidak akan cukup untuk memprediksi kemampuan tabir surya untuk melindungi imunosupresif yang disebabkan oleh UV. Mengingat berbagai mekanisme fotobiologis terlibat dalam menekan induksi kekebalan (UVB) dan perolehan kekebalan (UVAII), perlindungan kekebalan yang lengkap memerlukan tabir surya yang menyerap radiasi UVB dan UVA.

RINGKASAN

- Radiasi UV memiliki "lebih banyak kerugian daripada manfaat" dan dapat berkembang menjadi kanker kulit.
- IARC (Badan Internasional untuk Penelitian Kanker) merekomendasikan cara efektif mencegah perkembangan kanker kulit dengan melindungi diri dari penyinaran UV matahari yaitu dengan tetap berada di dalam ruangan pada siang hari dan mengenakan pakaian yang memadai. Selain itu, dianjurkan juga penggunaan tabir surya.
- Perkembangan tumor kulit adalah proses multi Langkah, melibatkan induksi mutasi & lolos pengawasan imun.
- Fotoproduk DNA yang diinduksi oleh penyinaran UV dapat diperbaiki, menyebabkan kematian sel, atau mengakibatkan mutasi. Mutasi dapat terjadi pada gen perbaikan tsb atau pada onkogen & gen penekan tumor.
- Gangguan penahanan imunologis terhadap pertumbuhan sel yang ditransformasi dapat dimulai melalui kerusakan DNA, fotoisomerisasi asam urokanat, kerusakan membran sel, atau pelepasan sitokin.
- Penelitian yang berkelanjutan tentang penggunaan tabir surya secara topical memberikan pemahaman lebih baik tentang jalur penekanan genetik dan kekebalan, dan pengembangan tindakan perlindungan yang lebih efisien terhadap kanker kulit serta perbaikan aktual kerusakan akibat sinar matahari yang sudah ada sebelumnya pada kulit.



Biotechnology in Personal Care

Cosmetic Science and Technology Series

Volume 29

edited by
Raj Lad

Current Routes to Prevent and Control Dental Plaque Formation, Caries, and Early Periodontal Disease	328
A Brief History of the Development and Evaluation of Enzyme Systems for Oral Care	331
The Potential of Biotechnology to Deliver Significant Oral Health Benefits in the Future	332
Conclusions	344
References	346
Supplementary Patent References	351

14. Biotechnology in Perfumery 353

Anthony J. Clark, Michel Schalk, and Fredi Brühlmann

Introduction	353
Mechanisms of Olfactory Perception	354
Corporal Body Odor	358
Biotechnological Routes to Perfumery Raw Materials	362
Outlook and Future Prospects	365
References	365

15. Safety and Regulatory Perspectives 371

Helmut Greim

Introduction	371
General Considerations for Hazard Identification and Risk Assessment	371
Information Required for Risk Assessment	372
Potential Toxicity of Ingredients Derived from Recombinant Organisms	376
Studies to Assess the Potential Risk of Biologically Derived Materials	377
Exposure Assessment	381
No-Observed-Effect Levels for Sensitizers?	382
Conclusion	383
References	384

16. Intellectual Property Perspective 387

Louis C. Paul

Introduction	387
Inventorship	389
Anatomy of a Patent	391
Patentability	393
Patent Infringement	402
Six Steps to Patent Peace of Mind	404
Post-Issuance Challenges—U.S. Re-examination and European Opposition	412

APLIKASI BIOTEKNOLOGI PADA PERFUMERY

- Pemahaman tentang indera penciuman banyak dipengaruhi oleh penelitian biologi molekuler. **Biologi molekuler** telah memungkinkan **kloning** dan **identifikasi semua reseptor bau** pada manusia, dan terus digunakan untuk mengungkap mekanisme kemosensasi pada manusia dan makhluk lainnya.
- Bau badan dan bau busuk lainnya adalah **kunci dalam parfum** karena banyak produk wewangian dirancang untuk menetralsirnya. Kemajuan dalam studi **biokimia**, didukung oleh teknologi DNA rekombinan membantu memahami **asal usul dan persepsi bau**.
- Steroid, asam lemak, metabolisme asam amino, dan komposisi keringat apokrin semuanya terlibat dalam pembentukan bau badan, sehingga pemahaman biologi tentang sistem ini lebih jelas, dan dapat digunakan untuk memformulasikan produk kosmetik yang lebih efisien.
- Teknologi DNA rekombinan mendukung terciptanya molekul organik baru dalam parfum. Sebagian besar bahan baku parfum diperoleh dari tumbuhan, dan bioteknologi dapat memberikan hasil terbaik. Banyak penelitian bioteknologi telah membantu industri *flavour* dan parfum mendapatkan bahan baku baru, menggunakan jalur biokatalitik.
- Namun, penting untuk menyadari dampak dan tantangan dimasa depan.

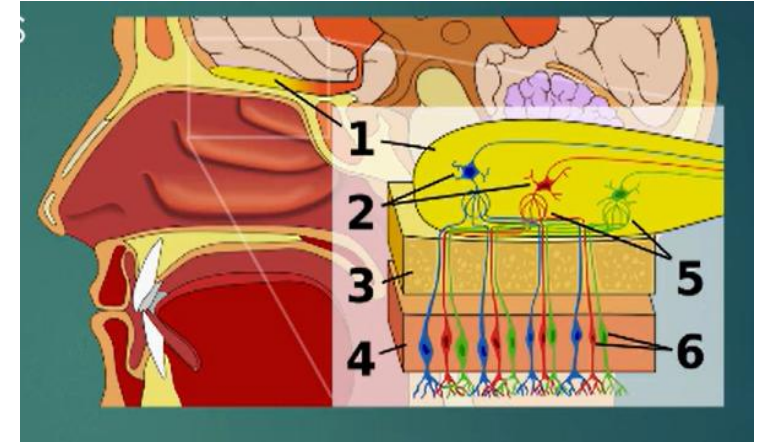
MEKANISME PERSEPSI PENCIUMAN (OLFACTORY)

- Penciuman adalah indera utama yang memungkinkan pendeteksian molekul dengan BM rendah di udara.
- Kekuatan **diskriminatif hidung** sungguh luar biasa, manusia mampu membedakan ribuan bau yang berbeda. Meskipun anatomi indra penciuman telah dipahami dengan baik, masih banyak pertanyaan khususnya di bidang pengenalan molekuler dan cara pemrosesan sinyal sensorik di area otak yang lebih tinggi, diterjemahkan ke dalam persepsi penciuman.
- Biologi molekuler telah berkontribusi dalam memahami tentang deteksi bau pada tingkat molekuler (reseptor), yang menarik anatomi juga memungkinkan pembedahan sinyal spesifik pada jaringan saraf dengan resolusi yang belum pernah terjadi sebelumnya.
- Pemahaman tentang persepsi penciuman, dapat membantu **desain rasional parfum baru** dan kemungkinan besar akan mengarah pada perangkat teknis yang memungkinkan pendeteksian bau yang lebih bermakna. Telah beredar “**hidung buatan**” namun penerapannya masih terbatas.
- Kemampuan diskriminatif **hidung buatan** masih **tertinggal jauh** dibandingkan kinerja hidung manusia, yang juga dapat melakukan **evaluasi hedonis** terhadap bau.

OLFACTORY RECEPTORS (RESEPTOR PENCIUMAN)

[Video Olfactory.mp4](#)

- Reseptor penciuman: pada epitel hidung memberikan indra penciuman, memiliki silia yang mengandung reseptor pada membrannya, dapat mendeteksi bahan kimia tertentu
- Olfaction = *sense of smell* (indra penciuman)
- Hanya dapat mendeteksi bahan kimia yang dapat bergerak melalui udara
 - Bahkan dalam konsentrasi rendah
 - Lemah dibandingkan dengan beberapa hewan
- Setiap reseptor hanya mendeteksi satu jenis bau
 - Dikodekan oleh gen yang berbeda
- Tapi ada banyak reseptor yang berbeda
- Dapat mendeteksi makanan yang ada di mulut juga



PENCIUMAN (*OLFACTORY*) MOLEKULER

- Pada tahun 1991, Linda Buck dan Richard Axel menerbitkan makalah yang menggambarkan kelompok multigen baru dari **gen reseptor bau** yang diekspresikan dalam epitel penciuman tikus. Penelitian tersebut memicu penelitian untuk penciuman dalam tingkat molekuler.
- Reseptor penciuman termasuk dalam reseptor **GPCR** (*G-protein-coupled-seven-trans membrane domain*) merupakan kelompok multigen terbesar dalam organisme multiseluler. Neuron sensorik penciuman vertebrata tertentu, hanya mengekspresikan satu jenis gen reseptor bau.
- Gen reseptor bau tidak memiliki inti dengan sekitar 310 kodon. Hipervariabilitas urutan di antara reseptor bau yang berbeda terutama terjadi di wilayah transmembran ke-3, ke4, dan ke5 yang menampung sebagian dari tempat pengikatan molekul bau. Pengamatan didukung oleh mutagenesis terarah. Pengikatan molekul bau **mengaktifkan protein G**, menyebabkan stimulasi cepat **adenilat siklase**, selanjutnya **siklik adenosin monofosfat** (cAMP) meningkat. Peningkatan kadar cAMP memicu depolarisasi neuron sensorik penciuman melalui aktivasi saluran kation berpintu nukleotida siklik. Ketika ambang batas potensi tercapai, sel menghasilkan potensial aksi, sehingga **bahan kimia** tsb diubah menjadi **sinyal listrik**, yang dikirim ke **olfactory bulb**, kemudian diteruskan ke area yang lebih tinggi di **otak**.

- Setelah Buck dan Axel, banyak kelompok yang berhasil mengidentifikasi **gen reseptor bau** pada vertebrata terutama manusia dan invertebrata. Gen reseptor bau dapat diidentifikasi dengan cepat, dan dilaporkan pada manusia telah diidentifikasi **388 gen penciuman** yang memiliki potensi berfungsi dan **414 pseudogen**
- Jumlah pseudogen yang sangat besar, mungkin mencerminkan berkurangnya ketergantungan kita pada indra penciuman untuk kelangsungan hidup dan reproduksi.
- Karakterisasi dilakukan hanya untuk beberapa reseptor bau saja, seperti ada 17 reseptor bau pada tikus. Hambatan utamanya adalah kesulitan dalam membuat gen reseptor rekombinan diekspresikan secara fungsional dalam sistem heterolog, meskipun sudah dilaporkan lebih dari satu dekade lalu.
- Sistem ekspresi fungsional untuk reseptor bau memerlukan pelipatan yang tepat, penargetan ke membran plasma, dan penggandengan yang efisien dengan sistem pembawa pesan kedua yang menghasilkan sinyal terukur pada pengikatan ligan. Berbagai sistem ekspresi telah dijelaskan, termasuk sistem baculovirus, infeksi sel neuron sensorik penciuman epitel tikus dengan rekayasa adenovirus, atau pembuatan protein fusi dengan protein impor membran untuk ekspresi fungsional dalam ginjal embrio manusia (HEK) 293 sel. Dalam sel HEK 293, penggabungan dicapai dengan protein G promiscuous ($G_{\alpha 15}$).

- **Deteksi kalsium atau cAMP** kemudian dapat digunakan untuk mempelajari **interaksi antara bau dan reseptor**. Interaksi tersebut dipelajari setelah menginfeksi eptithelia hidung tikus secara in vivo dengan adenovirus rekombinan yang menyediakan reseptor I7 dari tikus. Kisaran reseptor I7 yang dapat diakses, dieksplorasi dengan rekaman elektrofisiologis pada paparan epitel hewan yang terinfeksi terhadap berbagai bau.
- Reseptor tersebut diuji terhadap hampir 200 bahan kimia dan ditemukan memiliki preferensi yang kuat terhadap aldehida rantai pendek. Faktanya, reseptor I7 dari tikus memiliki kebutuhan yang kuat untuk karbonil aldehida dengan prasyarat yang ketat di sekitar karbonil. Reseptor I7 tampaknya sulit membedakan variasi struktur pada bagian ekor molekul. Laboratorium Hanns Hatt mengekspresikan dan mengkarakterisasi reseptor bau pertama dari manusia yang mengandalkan ekspresi sementara dalam sel HEK 293. Prediksi kisaran reseptif untuk reseptor bau tertentu telah dicoba dengan pemodelan homologi, menggunakan struktur kristal bakterio rhodopsin dan bovine rhodopsin sebagai templat. Prediksi fungsi struktur sesuai dengan data eksperimen, meskipun bakteriorhodopsin (tanpa GPCR) dan bovine rhodopsin (satu-satunya struktur GPCR yang diketahui) hanya menunjukkan homologi urutan rendah dengan reseptor bau. Prediksi tersebut akan menjadi lebih akurat setelah peta struktural resolusi tinggi untuk reseptor bau tersedia

PENERAPAN PENCIUMAN MOLEKULER

- Meskipun hidung manusia memiliki kekuatan diskriminatif yang luar biasa, namun organ ini memiliki keterbatasan. Dalam kehidupan sehari-hari, beradaptasi terhadap bau mungkin berguna, namun hal ini tidak diinginkan ketika hidung harus digunakan untuk pekerjaan analitis dalam waktu yang lama.
- Hidung kita tidak mudah melakukan pengukuran **kuantitatif dan tidak sensitif terhadap zat yang mudah menguap** tertentu. Banyak upaya telah dilakukan untuk mengembangkan hidung buatan untuk pengendalian dan pemantauan proses, pengendalian bahan mentah, produk antara, dan produk akhir, untuk tujuan penyaringan, dll.
- “Hidung” kimia sering kali didasarkan pada pemantauan fisik permukaan penginderaan selama adsorpsi zat yang mudah menguap. Penginderaan susunan permukaan dengan spesifisitas berbeda dapat dipantau selama paparan terhadap bau melalui satu atau lebih prinsip deteksi (misalnya kapasitansi, perubahan frekuensi sensitif massa dari kantilever berlapis berosilasi, warna, resonansi plasmon permukaan, dll.).

- Respons fisik yang terekam dari sensor-sensor ini kemudian dapat dikorelasikan dengan bau yang dirasakan. Kemajuan di lapangan telah memungkinkan peningkatan stabilitas sinyal dengan mengurangi pengaruh kelembaban dan suhu pada sinyal. Selain itu, dalam beberapa kasus penggunaan kromatografi gas cepat (GC) atau spektrometri massa dapat menjadi alternatif yang berharga.
- Bisakah reseptor bau digunakan sebagai sensor kimia? Penambahan data genom manusia memungkinkan identifikasi cepat repertoar reseptor bau manusia. Namun, gen reseptor bau masih sulit untuk diekspresikan dalam sistem heterolog, sehingga membatasi upaya pengembangan sensor kimia yang kuat berdasarkan reseptor bau. Di satu sisi, reseptor bau dapat menawarkan alternatif menarik terhadap permukaan penginderaan yang ada karena sensitivitasnya (amplifikasi sinyal) dan selektivitasnya yang signifikan.
- Sebagai alternatif, reseptor bau fungsional dapat diimobilisasi pada kantilever mikrofabrikasi untuk mendeteksi respon nanokimia pada pengikatan bau. Memang benar, array mikro protein membran baru-baru ini dibuat untuk GPCR. Di sisi lain, banyaknya reseptor bau berbeda yang merespons bau tertentu, meski dengan afinitas berbeda, menimbulkan tugas yang menantang. Menguraikan “kode reseptor” untuk ruang bau yang luas memerlukan penanganan sebagian besar repertoar reseptor bau, jika tidak keseluruhan.

- Namun, dengan pesatnya peningkatan pengetahuan dalam penggunaan reseptor bau rekombinan dan pemahaman yang lebih dalam mengenai persepsi bau, tugas seperti itu mungkin dapat dilakukan dalam waktu dekat.
- Senomyx di San Diego telah memperoleh lisensi pada sebagian besar reseptor kemosensori manusia dan bukan manusia. Perusahaan rintisan ini ingin memanfaatkan reseptor ini untuk penemuan molekul baru dari perpustakaan kombinatorial bahan kimia. Di bidang bau, penggunaan reseptor bau nampaknya paling menjanjikan untuk aplikasi, yang mungkin hanya memerlukan sejumlah reseptor bau. Bukti pertama dari prinsip-prinsip yang relevan dengan bau kemungkinan besar berasal dari penelitian tentang modulator dan antagonis (misalnya, penghambat bau busuk tertentu), yang sulit diidentifikasi dalam tugas berulang oleh hidung manusia.

BAU BADAN

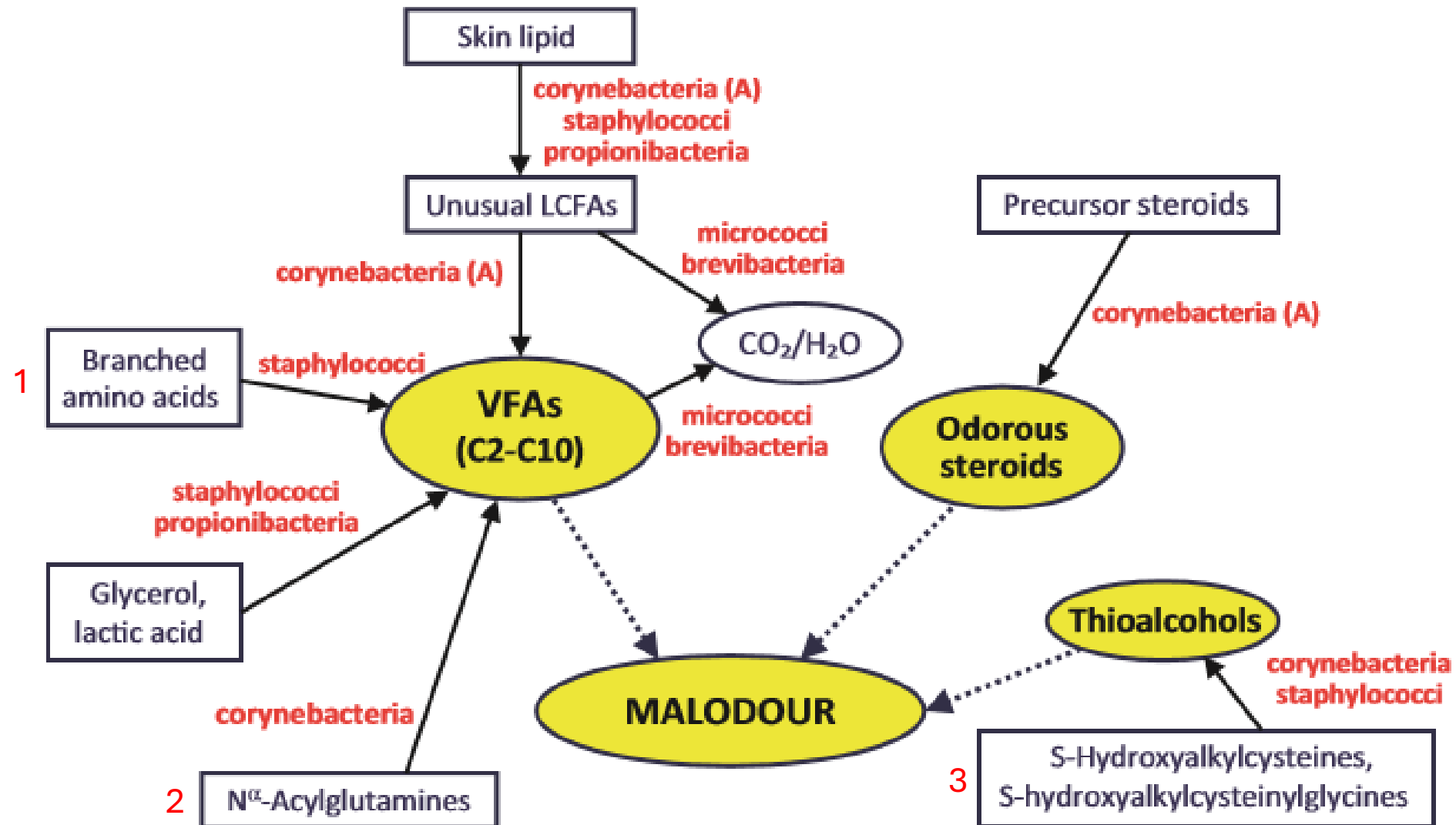
- Bioteknologi dan biologi molekuler telah sangat membantu dalam pemahaman kita tentang kimia bau yang mudah menguap yang terdapat pada tubuh manusia, khususnya di area ketiak.
- Teknologi apa yang sesuai untuk mengatasi bau badan mempunyai dampak yang besar bagi industri wewangian. Kubah aksila memiliki kelenjar keringat apokrin khusus dengan kepadatan tinggi. Sifat lokal dari timbulnya bau badan dapat dikaitkan dengan serangkaian aktivitas metabolisme yang bekerja pada sekresi apokrin ini. Singkatnya, kelenjar ini mengeluarkan campuran yang sangat berprotein, meskipun tidak berbau, sangat berbeda dari keringat normal (ekrin). Kelenjar berkontraksi dan memeras sekresi melalui saluran untuk disimpan di permukaan kulit.
- Kelenjar apokrin mengeluarkan campuran yang mengandung protein yang tidak berbau, dan berbeda dari keringat normal (ekrin). Kelenjar berkontraksi dan mensekresinya ke permukaan kulit.
- Laporan terbaru menunjukkan bahwa penghabisan Cl^- transepitel di saluran keringat diatur oleh gen WNK4, yaitu serin treonin kinase. Ekspresi WNK4 terlokalisasi pada sel kuboid yang melapisi lumen saluran keringat. Penghambatan proses ini dapat menghasilkan produk kosmetik baru yang dapat menghasilkan produk **antiperspiran** yang lebih tahan lama.

KOMPOSISI BAU BADAN?

STEROID

- Kolesterol, androgen, dan steroid lainnya telah diteliti secara ekstensif dan jalur biokimianya telah diketahui. Kunci pemahaman atas fungsi androgen adalah pada studi kloning dan molekuler reseptor androgen.
- Pada pasien dengan kondisi klinis osnidrosis (berkeringat berlebihan) terbukti kadar reseptor androgen meningkat, yang menunjukkan bahwa aktivitas androgen terlibat langsung dalam fungsi kelenjar apokrin.
- Diasumsikan bahwa sterol yang biasa ditemukan dalam keringat berasal dari jalur biokimia yang mirip dengan androgen yang ditemukan pada jaringan lain, seperti testis. Contoh : androst-16-enes dapat dibentuk dari pregnenolon dari testis babi dan manusia. Mekanisme yang sama terjadi di aksila dan menyebabkan endapan 16-androsten dalam sekresi apokrin.
- Pada keringat pria ditemukan 4 jenis steroid yang sangat bau yaitu 5- α -androst-16-ene-3-one, androsta-4,16-diene-3-one dan alkoholnya (5- α -androst-16-ene-3 α -ol dan androsta-4,16-diene-3 α -ol).

- Prekursor steroid belum diketahui dengan jelas, namun beberapa strain *Corynebacterium* memiliki kemampuan untuk mereduksi androst 4/5-ene menjadi 5 α -androstenes dengan bantuan 5 α -reduktase.
- Austin dan Ellis melaporkan strain *Corynebacterium* dapat melakukan interkonversi steroid, yang membuktikan adanya prekursor molekuler steroid bau yang mudah menguap dalam keringat.
- Steroid jenis ini ditemukan pada sekresi apokrin dalam bentuk **glikosida** dan **sulfat**. Enzim yang diperlukan untuk melepaskan steroid bebas dari konjugatnya ada pada bakteri namun juga terdapat pada kulit manusia.
- Laporan mengenai penghambatan aktivitas β -glucuronidase dan aryl-sulphatase telah menunjukkan hubungan korelatif **antara bau yang terbentuk dari keringat apokrin** yang selanjutnya **penghambatan enzim**.
- Beberapa **coryneform aerobik** (bakteri pembentuk bau di ketiak) dapat **mengubah konjugat glikosil dan sulfat menjadi androst-16-one/ols**. Spesies *Staphylococci* juga dapat mengubah bentuk konjugat menjadi bentuk yang berbau.



Skema 1. Terjadinya *axillary malodour*. Jalur utama adalah metabolisme **asam amino alifatik bercabang** menjadi rantai pendek (C2–C5) VFAs oleh *Staphylococci*, hidrolisa Na-acylglutamines menjadi rantai medium (C6–C10) VFAs oleh *Corynebacteria*, dan pembentukan thioalcohols dari L-cysteine dan/atau L-cysteinyglycine conjugates oleh *corynebacteria* dan/atau *staphylococci*.

ASAM LEMAK VOLATIL

- Bakteri coryneform tertentu terlibat dalam degradasi asam lemak dan membentuk asam lemak volatil (VFA) (asam C6-11). Sub-kelompok *Corynebacterium* A tidak mampu mengkatabolisme seluruh asam lemak rantai panjang (LCFA), tetapi membentuk produk degradasi parsial. Dengan adanya aktivitas lipase yang sangat tinggi pada strain *Corynebacterium* grup A, tampaknya dapat diasumsikan bahwa organisme ini terutama bertanggung jawab atas pembentukan komponen VFA yang menyebabkan bau ketiak pada manusia. Akumulasi VFA selanjutnya dalam keringat apokrin akan bergantung pada aktivitas relatif bakteri sub-kelompok A versus bakteri pendegradasi VFA, seperti *Micrococcus luteus* atau *Brevibacterium epidermidis*.

(E)-3-Metil-2-asam Heksenoat

- Preti & rekan kerjanya menemukan **(E)-3-metil-2-asam heksenoat (3M2HA)** merupakan senyawa penyumbang bau yang dominan pada keringat diketiak.
- Pertama kali, senyawa ini diisolasi dari pasien yang menderita skizofrenia, dan selama beberapa waktu senyawa ini digunakan sebagai indikator profil psikologis.

- Dalam keringat laki-laki, kadar 3M2HA diperkirakan lebih tinggi **700 x** lipat dibandingkan steroid androstenon yang bau dan mudah menguap. Kinetika pelepasan 3M2HA terlalu cepat karena diduga metabolisme katabolik bakteri terkait aksila, misalnya degradasi asam lemak. Asam ini terikat pada protein yang disekresi kelenjar apokrin, dinamakan **Apocrine Secretion Odor-Binding Proteins = ASOBs**.
- Protein ini identik secara imuno-reaktif dengan **apolipoprotein D** (apoD), anggota superfamili protein pembawa lipocalin yang berkarakter baik. Keluarga Protein ini memediasi pengikatan bau pada reseptor di epitel olfactory.
- Pelepasan 3M2HA yang terikat, terutama bergantung pada metabolisme lipofilik *Corynebacterium spp.* Acuna dan rekannya mengkloning gen enzim yang bertanggung jawab atas pembebasan 3M2HA dari *Corynebacterium striatum*, dan diidentifikasi bahwa asam 3-hidroksi-3-metilheksanoat yang berhubungan secara kimia mewakili bentuk terikat protein. Tampaknya asam ligan terikat pada protein pembawa dalam bentuk konjugat dengan residu glutamin. Dengan mensintesis prekursor, para peneliti mengidentifikasi aminoasilase yang bergantung pada Zn^{2+} yang secara

efektif memediasi pembelahan kedua asam dari substrat yang terikat.

- Analisis daerah pengkode gen hasil kloning mengungkapkan empat motif asam amino yang diawetkan, umum terjadi pada sejumlah Zn metaloprotease *dependent*.
- Tampaknya flora bakteri manusia telah berevolusi bersama inangnya dan menghasilkan enzim dengan profil substrat unik yang selaras dengan sekresi inang dan sinyal kemosensori.

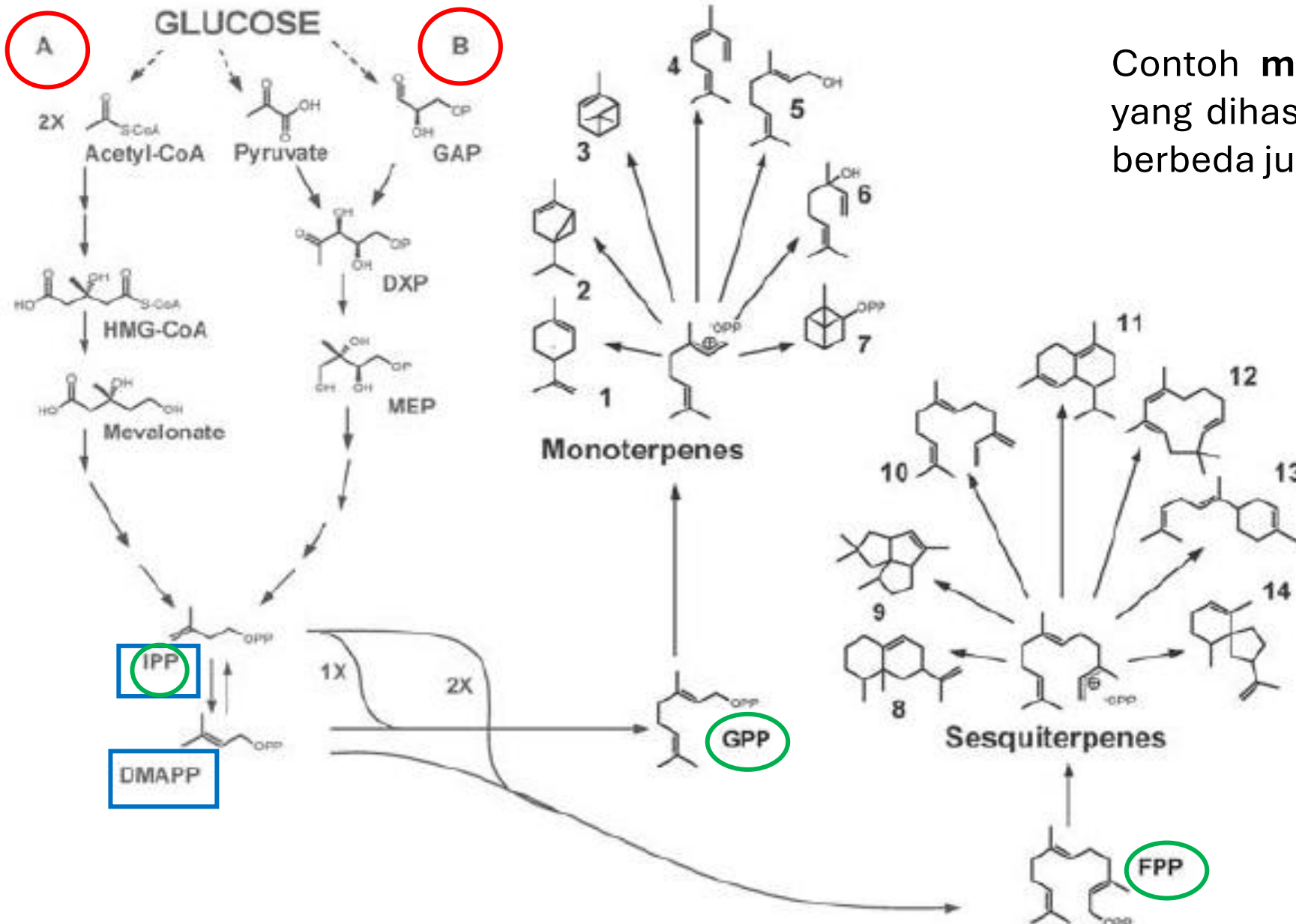
SENYAWA BELERANG YANG MUDAH MENGUAP

- Asam amino yang mengandung belerang disekresikan melalui keringat. **Leusin** dilaporkan dapat berperan sebagai substrat potensial untuk pembentukan **asam isovalerat**. Dianggap **β -lyase** yang bergantung pada fosfat piridoksal, bertanggung jawab atas timbulnya bau busuk aksila dari sekresi apokrin, sehingga dikatakan bahwa **Tiol dan senyawa sulfur volatil (VSC)** lainnya diindikasikan sebagai komponen kunci bau ketiak manusia.

BIOTEKNOLOGIS DALAM MEMPEROLEH BAHAN BAKU PARFUM

- Tumbuhan menghasilkan sejumlah besar metabolit sekunder yang berfungsi untuk pertahanan, reproduksi, dan interaksi dengan organisme lain. Firmenich membangun bisnisnya berdasarkan identifikasi senyawa kimia utama yang terdapat dalam ekstrak dan minyak atsiri tumbuhan, dilanjutkan dengan sintesis kimia dalam bentuk yang lebih murni, dan volume yang lebih tinggi, tentu saja lebih murah.
- Dalam menghasilkan wewangian, peneliti tertarik pada metabolisme sekunder tumbuhan. Misal pembelahan lipid hidroperoksida dapat menghasilkan banyak struktur oksilipin yang saat ini digunakan secara luas dalam pembuatan wewangian. Penelitian mengenai jalur bioteknologi untuk produksi bahan baku wewangian memakan biaya yang tinggi, dan laba atas investasi tsb tergantung kesuksesan komersial yang dipengaruhi jalur rekayasa menuju rangkaian struktur.
- **Isoprenoid atau terpenoid, disebut TERPEN**, mewakili keluarga metabolit sekunder yang paling beragam secara struktural.
- Puluhan ribu senyawa isoprenoid telah dikarakterisasi, dan banyak ditemukan senyawa baru

- **ISOPRENA** : senyawa ini terdiri dari **lima unit karbon**, dan berdasarkan jumlah unit isoprena yang ada dalam strukturnya dapat diklasifikasikan menjadi: **Monoterpen (C10)** dan **Seskuiterpen (C15)** merupakan senyawa yang banyak digunakan karena volatilitasnya dan spektrum karakteristik wanginya yang luas.
- Kemajuan di bidang bioteknologi, khususnya teknologi gen telah mampu meningkatkan hasil dan kualitas minyak yang dihasilkan oleh tanaman yang dimodifikasi. Manipulasi **terpen sintase** terbukti dapat meningkatkan **aroma**.
- Pendekatan serupa telah diterapkan pada mikroorganisme. Rekayasa bakteri dan ragi untuk menghasilkan mono dan seskuiterpen, yaitu dengan meningkatkan fluks karbon ke jalur terpen melalui rekayasa genetika enzim pengatur utama, dan dengan memperkenalkan gen yang mengkode enzim yang mengkatalisis sintesis terpen target. Jadi monoterpen dan seskuiterpen dapat diproduksi oleh bakteri dan ragi, meskipun hanya pada tingkat rendah
- **Singkatan:**
 HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A; GAP, D-gliseraldehida-3-fosfat; DXP, 1-deoksi-D-xilulosa-5-fosfat; MEP, 2-C-Metil-D-eritritol-4-fosfat; IPP, isopentenil pirofosfat; DMAPP, dimetilallyl pirofosfat; GPP, geranil pirofosfat; FPP, farnesil pirofosfat



Contoh **monoterpen** dan **seskuiterpen** yang dihasilkan oleh sintase terpen yang berbeda juga ditunjukkan (1–14).

- 1) Limomene
- 2) thujene,
- 3) α -pinene,
- 4) β -ocimene,
- 5) geraniol,
- 6) linalool,
- 7) bornyl diphosphate,
- 8) valencene,
- 9) Pentalenene,
- 10) farnesene,
- 11) cadinene,
- 12) α -humulene,
- 13) Bisabolene,
- 14) premnaspirodiene

Gambar 2 Jalur biosintetik monoterpen dan seskuiterpen. Jalur mevalonat (A) dan jalur MEP (atau DXP) (B) untuk biosintesis IPP dan DMAPP serta kondensasi preniltransferase dari IPP dan GPP dan FPP

PROSPEK DAN PROSPEK MASA DEPAN

- Di masa mendatang, teknologi DNA rekombinan akan menjadi bagian mendasar dari proses penemuan dan produksi bahan baku wewangian baru yang lebih murah.
- Kemajuan diagnostik untuk mendeteksi sejumlah kecil senyawa yang mudah menguap, memungkinkan pembuatan hidung buatan yang saat ini sudah ada namun kompleksitas proses kognitif dalam menterjemahkan dan menginterpretasi rangsangan di otak masih belum jelas.
- Desain pro-fragrans dengan pelepasan lambat yang fungsional dan inovatif dengan memanipulasi fungsi enzim yang ada di ketiak.
- Mekanisme pelepasan wewangian di masa depan, bergantung pada penelitian terhadap proses biologis yang melibatkan teknologi enzim rekombinan dan potensi menggunakan protein dan sel rekombinan yang diimobilisasi dalam pengujian alergenitas, toksisitas, dan karsinogenitas sebagai pengganti program pengujian pada hewan.