

ARTIKEL PENELITIAN

**PERAN Hsa-miR-4454 PADA PENUAAN KULIT:
STUDI KLINIS DAN BIOINFORMATIK**

*ROLE OF hsa-miR-4454 ROLES IN SKIN AGING:
CLINICAL AND BIOINFORMATICS STUDIES*

Ana Lucia Ekowati¹, William William¹, Daniel Ardian Soeselo², Ferbian Milas Siswanto³

¹ Departemen Biologi Kedokteran, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440

² Departemen Ilmu Bedah, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440

³ Departemen Biokimia dan Kimia, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya, Jl. Pluit Raya No. 2, Jakarta 14440

* **Korespondensi:** ana.lucia@atmajaya.ac.id

ABSTRACT

Introduction: Skin aging is a complex process involving intrinsic and extrinsic factors. Various parameters to evaluate skin characteristics have been proposed. However, accurate biomarkers for skin aging are limited. This study aims to validate the role of microRNAs (miRNAs) in the epigenetic regulation of skin aging as candidate biomarkers and therapeutic targets.

Methods: The miRNA expression profiles of grandfathers and grandchildren from 2 Javanese families were compared to select candidate miRNAs that was differentially expressed in aging skin. Next, the differentially expressed miRNA(s) was analyzed for their function and role at the molecular level using a bioinformatics approach.

Results: The profiling results showed that miR-4454 was consistently upregulated in both families. GeneCards revealed that miR-4454 had relatively high expression in the skin. GWAS data indicated that miR-4454 was involved in the regulation of telomere length. TargetScanHuman, miRTarBase, miRTargetLink followed by gene ontology and molecular pathway enrichment using the EnrichR platform showed that miR-4454 were involved in the regulation of IL-12 production, response to radiation, autophagy, metabolism, FoxO signaling pathway, and cellular senescence. The ataxia telangiectasia mutated (ATM) and mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14) genes were likely play an important role in the regulation of miR-4454-related skin aging due to their involvement in cellular senescence.

Conclusion: In skin aging, high expression of miR-4454 has the potential to be used as a candidate biomarker and basis for developing therapeutic targets. The ATM and MAPK14 genes are two candidate targets for miR-4454.

Key Words: ATM, MAPK14, microRNA, miR-4454, skin aging.

ABSTRAK

Pendahuluan: Penuaan kulit adalah proses kompleks yang melibatkan faktor intrinsik dan ekstrinsik. Berbagai parameter untuk mengevaluasi karakteristik kulit telah diusulkan. Namun, biomarker yang akurat untuk penuaan kulit dan hubungan mekanisme molekuler penuaan kulit masih sangat terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk memvalidasi peran mikroRNA (miRNA) dalam regulasi epigenetik penuaan kulit sebagai kandidat biomarker dan target terapi.

Metode: Profil ekspresi miRNA kakek dan cucu dari 2 famili Jawa dibandingkan untuk memilih kandidat miRNA yang memiliki perbedaan ekspresi pada jaringan kulit. Selanjutnya, miRNA yang mengalami perubahan ekspresi tersebut dianalisis fungsi dan perannya pada tingkat molekuler dengan pendekatan bioinformatika.

Hasil: Hasil *profiling* menunjukkan miR-4454 yang konsisten mengalami peningkatan ekspresi pada kedua famili yaitu sebesar 3,318 pada famili I dan 9,315 pada famili II. Berdasarkan data dari GeneCards, miR-4454 memiliki ekspresi yang cukup tinggi pada kulit dan diekspresikan pada seluruh komponen sel. Analisis data dari GWAS mengindikasikan bahwa miR-4454 terlibat dalam pengaturan panjang telomer. Analisis gen target dengan menggunakan TargetScanHuman, miRTarBase, miRTargetLink dilanjutkan dengan pengayaan ontologi gen dan jalur molekuler dengan platform EnrichR menunjukkan miR-4454 berperan dalam regulasi produksi IL-12, respons terhadap radiasi, autofagi, metabolisme, FoxO signaling pathway, dan cellular

senescence. Gen *ataxia telangiectasia mutated (ATM)* dan *mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14)* diduga berperan penting pada regulasi penuaan kulit akibat miR-4454 karena keterlibatannya pada *cellular senescence*.

Simpulan: Pada penuaan kulit, ekspresi miR-4454 yang tinggi berpotensi digunakan sebagai kandidat biomarker dan dasar pengembangan target terapi. Gen *ATM* dan *MAPK14* merupakan dua kandidat target miR-4454.

Kata Kunci: *ATM*, *MAPK14*, mikroRNA, miR-4454, penuaan kulit.

PENDAHULUAN

Kulit merupakan organ paling luar yang mencerminkan kesehatan dan keindahan yang berkaitan dengan penampilan seseorang. Populasi geriatri umumnya mengalami berbagai perubahan pada kulit yang dapat terlihat dengan jelas. Penuaan kulit sering ditandai dengan ciri-ciri seperti kerutan, hilangnya elastisitas, kelemahan, dan tampak tekstur kasar. Fenotipik sel kulit yang mencakup struktur, fungsi serta komponen matriks ekstraseluler seperti kolagen dan elastin juga mengalami perubahan selama proses penuaan ini.¹ Sebagian dari populasi masyarakat pada beberapa tahun terakhir ini berusaha untuk meminimalkan tanda penuaan kulit menggunakan berbagai macam suplemen, obat, dan produk kosmetik *anti-aging* yang telah berkembang pesat. Banyak orang, terutama perempuan telah mengeluarkan biaya dalam jumlah yang cukup besar untuk membeli kosmetik dan obat-obatan untuk menghambat penuaan kulit.²

Penuaan kulit melibatkan banyak faktor meliputi faktor biologis dan biokimia, faktor intrinsik dan ekstrinsik yang menyebabkan perubahan struktural sekunder pada kulit, otot di bawahnya, jaringan adiposa, dan struktur tulang.³ Penuaan intrinsik adalah hal fisiologis yang tidak bisa dihindari yaitu suatu proses yang menghasilkan kulit tipis, kering, kerutan halus, dan atrofi dermal bertahap, sedangkan

penuaan ekstrinsik disebabkan oleh faktor lingkungan eksternal seperti polusi udara, merokok, gizi buruk, dan paparan sinar matahari, mengakibatkan kerutan kasar, hilangnya elastisitas, kendur, dan tampilan bertekstur kasar.^{4,5} Selanjutnya penelitian mengenai mekanisme penuaan kulit terus berkembang, misalnya pemendekan telomer, stres oksidatif, *matrix metalloproteinase*, sitokin, kontrol autofagi, mikrobioma, dan mikroRNA (miRNA).⁶

MiRNA adalah *non-coding single stranded* RNA pendek sekitar 22 pasang basa nukleotida yang mengontrol ekspresi gen secara negatif pada pasca transkripsi dengan mengikat bagian 3' *untranslated region (UTR)* mRNA targetnya.⁷ Mekanisme kerja miRNA secara epigenetik yaitu mekanisme intrinsik yang dapat mengubah ekspresi gen yang diwariskan tanpa mengubah sekuen DNA.⁸ Mekanisme epigenetik merupakan jembatan antara ranah genetik dan lingkungan yang dapat memengaruhi pengaturan ekspresi gen dan fenotip individu serta perkembangan individu yang normal termasuk penuaan kulit alami.⁹ Ketika mengontrol ekspresi gen, miRNA berikatan dengan mRNA targetnya. Satu miRNA dapat menarget ratusan mRNA, dan bekerja pada transkrip mRNA targetnya yang menyebabkan hambatan atau degradasi pada proses translasi sesuai dengan tingkat pengikatan dan komplementer antara miRNA dan mRNA targetnya.^{10,11}

Idealnya untuk mengetahui miRNA yang berperan dalam proses penuaan kulit digunakan desain penelitian *cohort longitudinal* dengan melihat profil ekspresi miRNA pada jaringan kulit saat usia muda dibandingkan profil ekspresi miRNA pada usia tua pada responden yang sama. Namun penelitian demikian sulit dilakukan dan kurang efisien. Oleh karena itu pada penelitian ini, untuk mengidentifikasi miRNA yang berperan dalam penuaan kulit menggunakan studi *profiling* miRNA, dengan desain penelitian *cross sectional* yaitu membandingkan profil miRNA kulit pada orang tua dan orang muda serta menganalisis dan mengidentifikasi kandidat miRNA yang diduga berperan dalam penuaan. Penelitian ini merupakan sebagian dari rangkaian penelitian yang bertujuan untuk mengidentifikasi miRNA yang berperan pada penuaan kronologis (alami) manusia dengan membandingkan profil miRNA pada serum, kulit, dan otot. Hasil penelitian pada profil miRNA kulit menunjukkan bahwa salah satu miRNA yang konsisten ekspresinya yaitu *upregulated* pada orang tua adalah miR-4454. Belum banyak penelitian miR-4454, salah satu penelitian yang berhubungan dengan penyakit terkait penuaan yaitu kanker adalah penelitian Feng, *et al.* pada 2023. Hasil tersebut menyatakan bahwa tingkat ekspresi hsa-miR-4454 dan hsa-miR-619-5p dalam eksosom plasma pasien dengan adenokarsinoma paru-paru meningkat secara signifikan.¹² Tujuan penelitian ini adalah studi klinis dan analisis bioinformatika untuk mengetahui peran miR-4454 dalam jalur-jalur persinyalan maupun metabolisme pada penuaan kulit.

METODE

Subjek penelitian adalah laki-laki dengan jarak usia cukup jauh di antara 2 kelompok usia (tua dengan usia 65 tahun atau lebih dan muda 17-25 tahun), tidak merokok, dan sehat (yang dibuktikan dengan pengukuran tekanan darah dan pemeriksaan fisik serta uji klinik yaitu kimia darah, fungsi liver, fungsi ginjal, dan glukosa darah, serta tidak sedang mengonsumsi obat apapun seperti obat hipertensi, DM, jantung, dan lainnya. Selain itu tidak menggunakan obat baik oral maupun topikal yang memengaruhi penuaan kulit. Pengambilan sampel kulit pada daerah terlindung sinar matahari (bagian belakang telinga). Hal-hal tersebut dengan tujuan untuk mengurangi faktor-faktor yang mempengaruhi pada penuaan alami dan kronologis yang akan diteliti. Faktor-faktor tersebut di antaranya berbagai penyakit kronis dan obat-obatnya juga obat topikal kulit, hormonal seperti pada wanita tua yang menopause, dan sinar matahari/sinar ultraviolet (UV).

Seluruh subjek yang bersedia berpartisipasi dalam penelitian menandatangani *informed consent*. Penelitian ini telah disetujui oleh Komite Etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya (No. 12/08/KEP-FKUAJ/2018).

Sampel jaringan kulit (5x5 mm) diambil dari bagian yang terlindung sinar UV dan tidak menimbulkan masalah kesehatan dan estetika yaitu di belakang telinga oleh dokter spesialis Bedah di ruang operasi. Isolasi RNA total dari sampel jaringan kulit menggunakan TRIzol® (Thermo Fisher Scientific, USA) sesuai instruksi. *Pellet* RNA kemudian dilarutkan da-

lam 200-300 μL H_2O bebas Rnase dan kemudian disimpan pada suhu -20°C .

Metode yang digunakan untuk analisis profil miRNA kulit adalah *microarray* miRNA (Exiqon, Vedbaek, Denmark). Total RNA dengan kualitas dan konsentrasi sesuai ketentuan (200 atau 400 ng) dari masing-masing sampel dan referensi miRNA yang universal diberi label fluoresen, yaitu miRCURY LNA™ *microRNA Hi-Power Labeling Kit*, Hy3™/Hy5™. Masing-masing sampel tua dan muda diberi label Hy3 dan Hy5 dicampur berpasangan dan dihibridisasi pada miRCURY LNA™ *microRNA Array (7th Gen)* dengan 2 warna desain eksperimen. Berbagai macam *slide* miRCURY LNA™ *microarray* dipindai menggunakan *Agilent Microarray Scanner System* (Agilent Technologies, Inc., USA) dan analisis gambar dilakukan dengan *imagine 8.0 software* (BioDiscovery, Inc, USA). Sinyal terukur dikoreksi dan dinormalisasi berdasarkan data *background* menggunakan *Lowess global (Locally Weighted Scatterplot Smoothing) regression algorithm*. Visualisasi rentang kelompok sampel biologis yang berbeda secara bersama-sama menggunakan *Principal Component Analysis* (PCA). Pengulangan replikasi yang ideal terjadi secara bersamaan pada sampel biologi yang berhubungan kuat (klaster). Plot PCA dilakukan pada rasio \log_2 (Hy3 / Hy5) yang lolos kriteria penyaringan pada variasi di seluruh sampel; nilai $p < 0,001$. Peta *heatmap* yang menampilkan hasil *microarray* dibangun dari hasil pengelompokan dari dua arah secara hierarki antara sampel miRNA dan referensi miRNA yang dibentuk dari setiap baris mewakili referensi miRNA

dan setiap kolom mewakili miRNA dari sampel. Skala warna menggambarkan tingkat ekspresi relatif dari miRNA di semua sampel. Klastering dilakukan pada rasio \log_2 (Hy3/Hy5) termasuk miRNA dengan nilai $p < 0,001$.

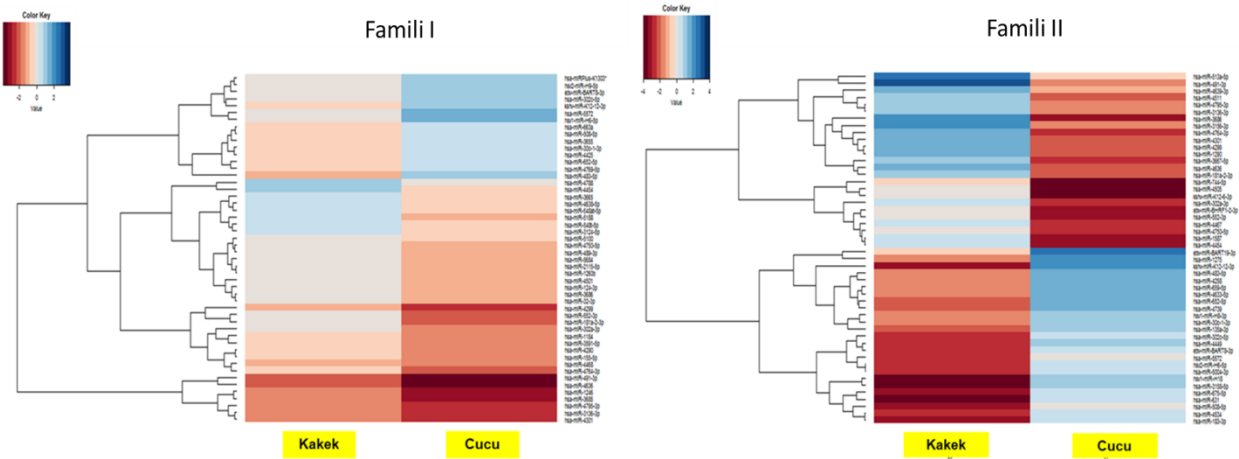
Basis data GeneCards (<https://www.genecards.org/>) menyediakan data genom, proteom, transkriptom, ekspresi, lokalisasi, penyakit, dan fungsi biologis yang ringkas dari semua gen manusia yang telah dibuktikan secara ekperimental maupun dalam bentuk prediksi. GeneCards adalah basis data gen manusia yang komprehensif, yang tidak hanya dapat menyajikan detail gen spesifik tetapi juga semua gen yang terkait dengan satu penyakit.¹³ Informasi mengenai miRNA meliputi ekspresi, lokalisasi, dan jalur molekuler dari target pada penelitian ini dianalisis menggunakan GeneCards. Fungsi miRNA dalam konteks variasi genetik diprediksi dengan data pada *genome-wide association studies* (GWAS) menggunakan *GWAS analyzer* (<http://www.nwrce.org/gwas-analyzer>).¹⁴ Fungsi miRNA dalam konteks penyakit yang telah dilaporkan secara ekperimental kemudian didapatkan dari basis data *Human microRNA Disease Database* (HMDD) v3.2 (<http://www.cuilab.cn/hmdd/>).¹⁵

Prediksi gen target dari miRNA yang telah teridentifikasi menggunakan kombinasi dari basis data online *TargetScanHuman* (https://www.targetscan.org/vert_72/), *miRTarBase* (https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php) dan *miRTargetLink* (<https://ccb-compute.cs.uni-saarland.de/mirtargetlink2/>).¹⁶⁻¹⁸ Validitas hasil

prediksi target gen dari miRNA ini ditingkatkan dengan melakukan identifikasi gen target yang tumpang tindih pada ketiga basis data di atas dengan analisis diagram Venn menggunakan *platform jvenn* (<https://jvenn.toulouse.inrae.fr/app/index.html>).

Analisis pengayaan ontologi gen (GO) dan jalur *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) pada penelitian ini menggunakan platform *EnrichR* (<https://maayanlab.cloud/Enrichr/>). *EnrichR* adalah

platform analisis pengayaan online yang menganalisis kumpulan gen untuk berbagai aspek fungsi biologis.¹⁹ Nilai $p < 0,05$ ditetapkan sebagai kriteria batas kemaknaan. Pengayaan fungsional gen target miRNA dianalisis untuk tiga istilah GO, yaitu proses biologis (BP), fungsi molekuler (MF), dan komponen seluler (CC). Sedangkan pengayaan jalur KEGG mengaitkan sekumpulan gen dengan fungsi biologis seperti pemberian sinyal, jalur, dan jaringan interaksi protein.



Gambar 1. *Heatmap* dan dendrogram kluster dari miRNA yang diekspresikan berbeda antara kakek dan cucu pada famili I (kiri) dan famili II (kanan)

HASIL

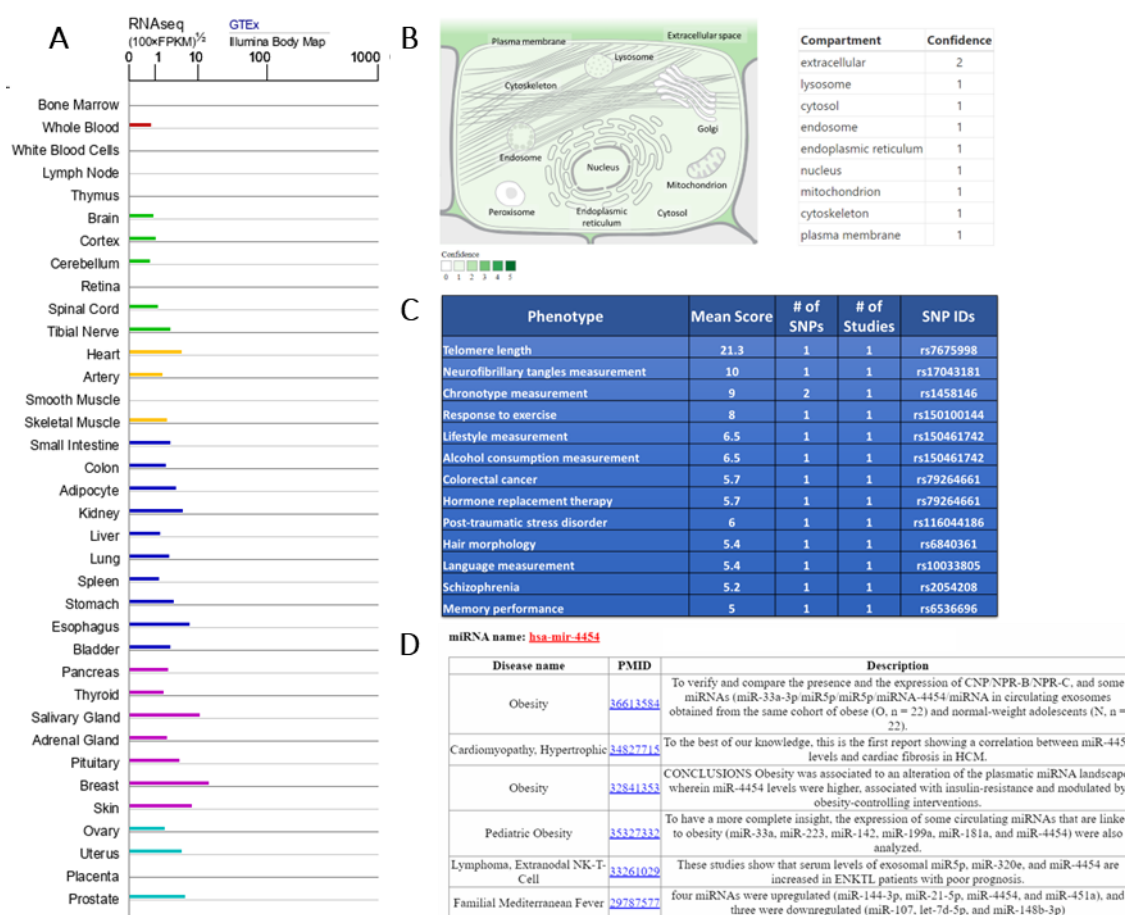
Hasil *profiling* 50 miRNA dengan perubahan ekspresi paling besar pada sampel kulit yang diisolasi dari subjek usia tua dan muda yang berasal dari dua famili suku Jawa dapat dilihat secara keseluruhan pada *heatmap* ekspresi miRNA (Gambar 1). Salah satu mikroRNA yang mengalami peningkatan ekspresi konsisten pada kedua famili adalah miR-4454. Beberapa penelitian terkait mikroRNA menyatakan bahwa perbedaan ekspresi yang dapat digunakan untuk mewakili peneuman biomarker dan target terapi adalah

dengan nilai *fold-change* (FC) $> 1,5$. Nilai FC dari miR-4454 pada famili I, adalah 3,318 dan pada famili II nilai FC miR-4454 adalah 9,315. Peningkatan kadar miR-4454 pada kulit subjek tua mengindikasikan bahwa miRNA ini dapat digunakan sebagai kandidat biomarker dan target terapi penuaan kulit.

Analisis ekspresi, lokalisasi, dan fungsi miR-4454 dengan menggunakan platform *website GeneCards*, *Genome-Wide Association Study* (GWAS), dan *Human MicroRNA Disease Database* (HMDD) dilakukan untuk mendapatkan informasi

biologis mengenai peran miR-4454 pada manusia. Berdasarkan data yang diunduh dari *GeneCards*, miR-4454 memiliki ekspresi yang cukup tinggi pada kulit dibandingkan jaringan lainnya pada tubuh manusia (Gambar 2A). MiR-4454 diekspresikan pada seluruh komponen sel secara merata, yaitu *lisosom, sitosol, endosom, retikulum endoplasma, nukelus, mitokondria, sitoskeleton, dan membran plasma* dengan ekspresi paling

dominan pada lingkungan ekstraseluler (Gambar 2B). Analisis data yang didapatkan dari GWAS mengindikasikan bahwa miR-4454 terlibat dalam pengaturan panjang telomer dan berbagai respons tubuh terhadap stimulus berdasarkan analisis fenotip saat terjadi variasi genetik (Gambar 2C). Analisis HMDD menunjukkan miR-4454 terlibat pada berbagai penyakit seperti obesitas, kardiomiopati, dan limfoma (Gambar 2D).



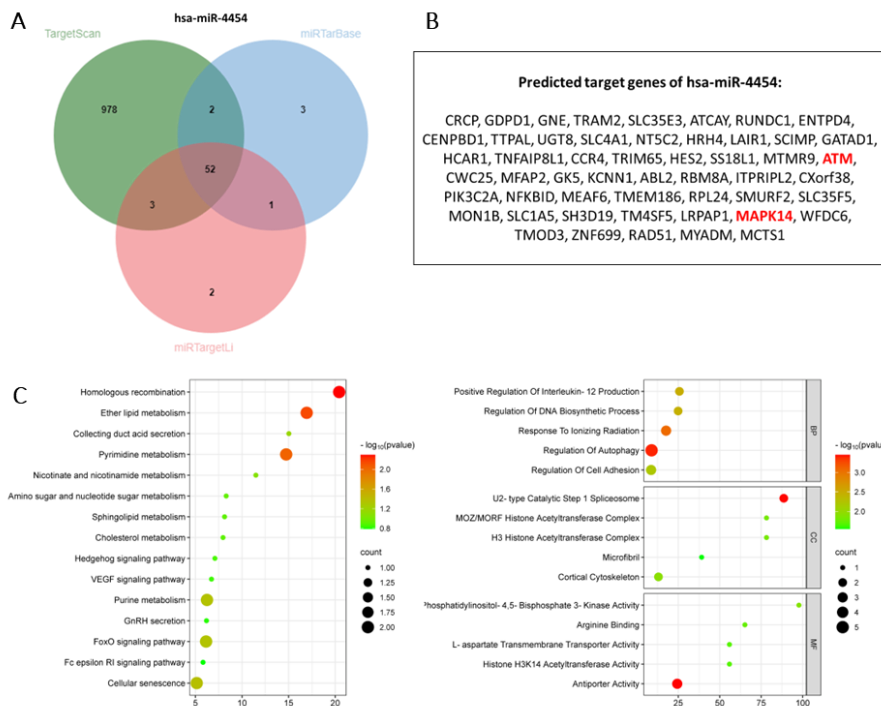
Gambar 2. Ekspresi miR-4454 pada berbagai jaringan tubuh manusia (A), lokalisasi subseluler miR-4454 (B), fungsi miR-4454 berdasarkan GWAS (C), dan fungsi miR-4454 berdasarkan HMDD (D).

Selanjutnya, untuk mendapatkan informasi lebih detail mengenai jalur molekuler yang mengalami perubahan akibat deregulasi miR-4454, dilakukan prediksi gen target dengan menggunakan tiga basis data yaitu dari

platform website TargetScanHuman, miRTarBase, miRTargetLink untuk meningkatkan validitas prediksi gen target miR-4454. Hasil penelusuran menggunakan *TargetScanHuman* mengungkapkan 1.035 kandidat target gen,

dengan menggunakan *miRTarBase* didapatkan 61 target gen, dan *miRTargetLink* menghasilkan 58 kandidat target gen dari miR-4454 (Gambar 3A). Analisis menggunakan diagram *Venn* mengindikasikan terdapat 52 gen yang beririsan dari ketiga basis data yang digunakan (Gambar 3B). Analisis GO dan jalur KEGG dilakukan untuk memahami fungsi dari

52 target gen miR-4454. Hasil analisis GO menunjukkan berbagai perubahan biologis termasuk produksi IL-12, respons terhadap radiasi, dan autofagi; sedangkan analisis KEGG menunjukkan bahwa target dari miR-4454 terlibat dalam regulasi metabolisme (lipid, nukleotida), *FoxO signaling pathway*, dan *cellular senescence* (Gambar 3C).



Gambar 3. Identifikasi target gen miR-4454 menggunakan basis data *TargetScanHuman*, *miRTarBase*, dan *miRTargetLink* (A). Daftar 52 target gen miR-4454 yang beririsan dari tiga basis data yang digunakan (B). Fungsi target gen miR-4454 berdasarkan GO dan jalur KEGG (C).

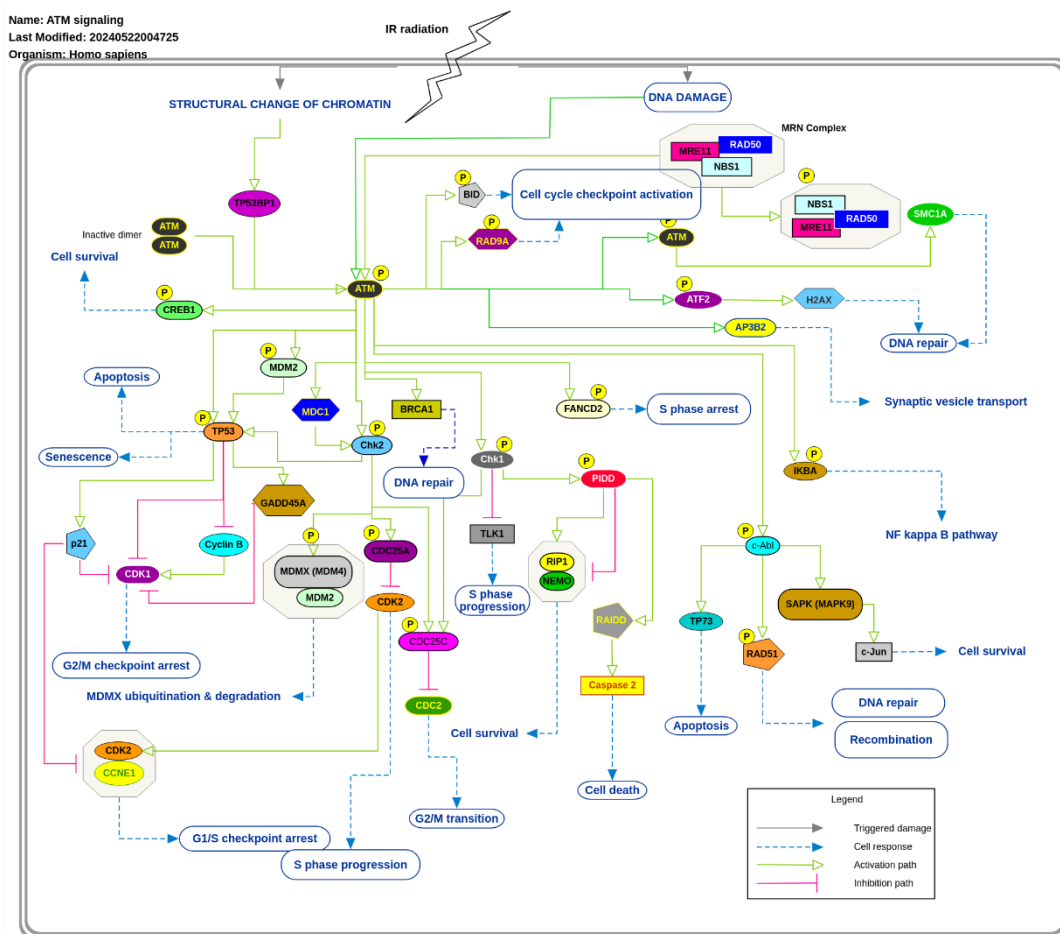
Terkait dengan penuaan kulit, maka jalur yang paling relevan adalah jalur *cellular senescence*. Berdasarkan data KEGG yang diperoleh menggunakan platform *EnrichR*, gen target miR-4454 pada jalur *cellular senescence* ini adalah *ataxia telangiectasia mutated (ATM)* dan *mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14)*. Untuk mendapatkan gambaran lebih rinci mengenai peran gen *ATM* dan *MAPK14* pada tingkat molekuler, jalur yang melibatkan kedua gen ini diunduh

dari *platform GeneCards*. Jalur molekuler terkait gen *ATM*, khususnya yang melibatkan stimulus radiasi inframerah dan keterkaitannya dengan siklus sel, kerusakan, dan perbaikan DNA, *cellular senescence*, dan apoptosis disajikan pada Gambar 4. Jalur molekuler terkait gen *MAPK14*, khususnya yang melibatkan stimulus radiasi ultraviolet dan keterkaitannya dengan respons terhadap radikal bebas dan apoptosis disajikan pada Gambar 5.

DISKUSI

MicroRNA-4454 (miR-4454) adalah salah satu komponen yang teridentifikasi berperan dalam regulasi proses penuaan seluler. MiR-4454 diketahui terlibat dalam regulasi panjang telomer, struktur pelindung di ujung kromosom yang memendek setiap kali sel membelah.²⁰ Ketika telomer memendek, sel memasuki keadaan penuaan atau apoptosis sehingga berkontribusi pada

penuaan organisme. MiR-4454 mungkin dapat memodulasi ekspresi gen yang terlibat dalam pemeliharaan telomer, seperti *telomerase reverse transcriptase (TERT)* dengan menargetkan mRNA TERT. Telomerase adalah enzim yang berperan dalam memperpanjang telomer, dan aktivitasnya menurun seiring bertambahnya usia.



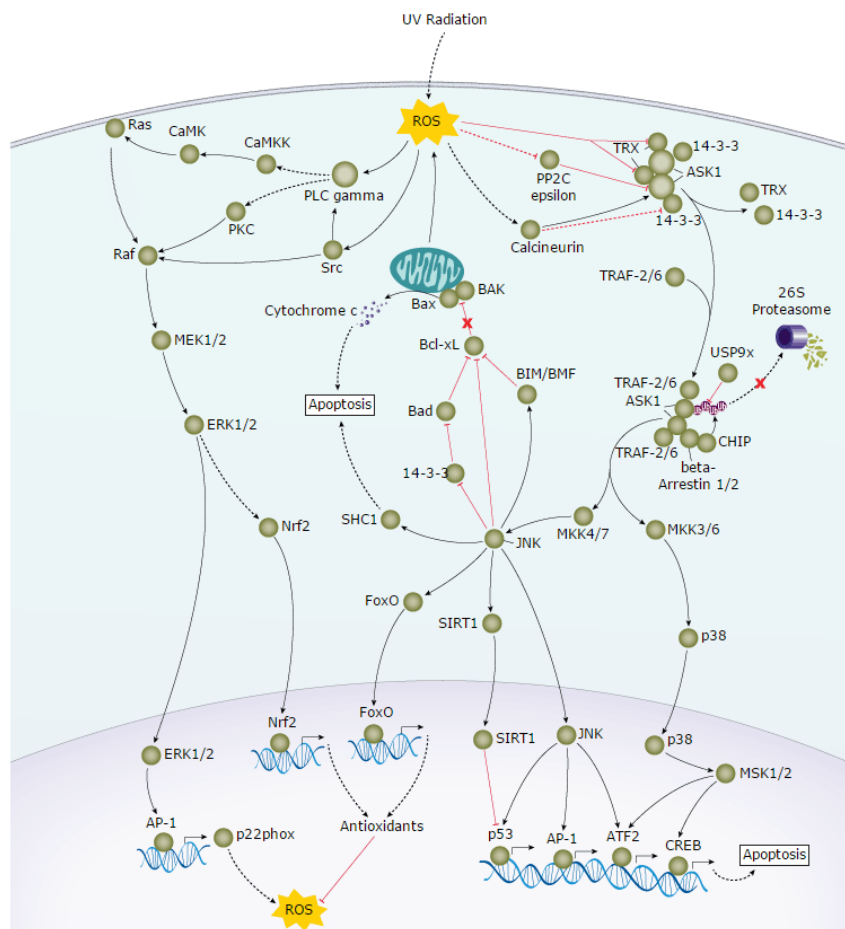
Gambar 4. Jalur molekuler terkait gen ATM (diunduh dari GeneCards®).

Selain memengaruhi panjang telomer, hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa miR-4454 menarget gen *ataxia telangiectasia mutated (ATM)* dan *mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14)* pada jalur *cellular*

senescence. Kedua jalur ini penting karena keterlibatannya dalam menjaga stabilitas genom dan respons terhadap stres seluler.^{21,22} Produk gen ATM adalah serin/treonin kinase yang berperan penting dalam respons

perbaikan DNA dan kontrol siklus sel.²³ Gen *ATM* diaktifkan oleh kerusakan DNA, terutama *double-strand breaks* (DSBs), dan berfungsi sebagai sensor awal dalam menjaga integritas genom.²⁴ Aktivasi *ATM* memicu serangkaian jalur sinyal yang mengarah pada perbaikan DNA, penahanan siklus sel, atau apoptosis jika kerusakan tidak dapat diperbaiki. MiR-

4454 diketahui menurunkan ekspresi *ATM* dengan cara mengikat langsung mRNA *ATM*, sehingga menghambat translasi dan mengurangi tingkat protein *ATM*.^{24,25} Penurunan ekspresi *ATM* dapat mempercepat proses penuaan seluler dengan mengurangi kemampuan sel untuk memperbaiki kerusakan DNA maupun meningkatkan akumulasi mutasi.



Gambar 5. Jalur molekuler terkait gen *MAPK14* (diunduh dari GeneCards®).

Sementara itu, *MAPK14* yang juga dikenal dengan *p38α*, merupakan komponen kunci dalam jalur sinyal p38 MAPK yang terlibat dalam respons stres seluler dan inflamasi.^{26,27} Gen *MAPK14* diaktifkan oleh berbagai stres lingkungan, seperti radiasi ultraviolet, oksidasi, dan stres osmotik.²⁶ Aktivasi p38 MAPK memainkan peran penting

dalam mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam proses peradangan dan apoptosis, serta pengaturan siklus sel.²⁸ MiR-4454 juga dapat menargetkan *MAPK14* kemudian menghambat ekspresinya sehingga memengaruhi aktivitas jalur p38 MAPK.^{29,30} Proses penghambatan ini dapat mengurangi respons sel terhadap stres dan peradangan sehingga

dapat mempercepat penuaan seluler dengan mengganggu mekanisme protektif seluler.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Pertama, meskipun pendekatan bioinformatik memberikan sisi lain mengenai peran potensial miR-4454 dalam penuaan kulit, hasilnya masih memerlukan validasi eksperimental lebih lanjut melalui uji laboratorium dan studi *in vivo* dengan jumlah sampel yang lebih besar. Selain itu, variabilitas antar individu dalam respons biologis terhadap penuaan kulit juga dapat memengaruhi interpretasi data, mengingat faktor-faktor seperti genetik, lingkungan, dan gaya hidup yang tidak sepenuhnya terkontrol.

Perlu dilakukan uji validasi dengan jumlah sampel yang lebih besar untuk membuktikan peningkatan ekspresi miR-4454, dengan memperhatikan variabilitas antar individu melalui kontrol terhadap faktor-faktor risiko penuaan kulit seperti genetik, lingkungan, dan gaya hidup. Uji eksperimental untuk validasi peran *ATM* dan *MAPK14* sebagai kandidat target miR-4454 juga perlu dilakukan.

SIMPULAN

Terjadi peningkatan ekspresi miR-4454 pada penuaan kulit. Analisis menunjukkan Gen *ATM* dan *MAPK14* merupakan dua kandidat target miR-4454. Secara garis besar, miR-4454 berpotensi digunakan sebagai kandidat biomarker dan dasar pengembangan target terapi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Katolik Indonesia Atma

Jaya yang telah membantu dalam hal pendanaan sehingga penelitian ini dapat berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zhang S, Duan E. Fighting against skin aging. *Cell Transplant*. 2018;27(5):729-38.
2. Kazanci A, Kurus M, Atasever A. Analyses of changes on skin by aging. *Ski Res Technol*. 2017;23(1):48-60.
3. Shvedova M, Samdavid Thanapaul RJR, Thompson EL, Niedernhofer LJ, Roh DS. Cellular senescence in aging, tissue repair, and regeneration. *Plast Reconstr Surg*. 2022;150:4S-11S.
4. Krutmann J, Bouloc A, Sore G, Bernard BA, Passeron T. The skin aging exposome. *J Dermatol Sci*. 2017;85(3):152-61.
5. Mora Huertas AC, Schmelzer CEH, Hoehenwarter W, Heyroth F, Heinz A. Molecular-level insights into aging processes of skin elastin. *Biochimie*. 2016;128-129:163-173.
6. Lee H, Hong Y, Kim M. Structural and functional changes and possible molecular mechanisms in aged skin. *Int J Mol Sci*. 2021;22(22):12489.
7. Komatsu S, Kitai H, Suzuki HI. Network regulation of microRNA biogenesis and target interaction. *Cells*. 2023;12(2):306.
8. Tregub PP, Ibrahimli I, Averchuk AS, Salmina AB, Litvitskiy PF, Manasova ZS, et al. The role of microRNAs in epigenetic regulation of signaling pathways in neurological pathologies. *Int J Mol Sci*. 2023 Aug 17;24(16):12899.
9. Ekowati AL, Milas Siswanto F. Epigenetic alterations in aging: A brief review. *J Urban Heal Res*. 2024;2(3):25-41.
10. Ni WJ, Leng XM. Dynamic miRNA-mRNA paradigms: New faces of miRNAs. *Biochem Biophys Reports*. 2015;4:337-341.
11. Mangiavacchi A, Morelli G, Orlando V. Behind the scenes: How RNA orchestrates the epigenetic regulation of gene expression. *Front Cell Dev Biol*. 2023;11.
12. Feng L, Feng Z, Hu J, Gao J, Li A, He X, et al.. Identification of hsa-miR-619-5p and hsa-miR-4454 in plasma-derived exosomes as a potential biomar-

- ker for lung adenocarcinoma. *Front Genet.* 2023 May 11;14:1138230.
13. Safran M, Rosen N, Twik M, BarShir R, Stein TI, Dahary D, et al. The GeneCards suite. In: *Practical guide to life science databases.* Springer Nature. 2022. p. 27-56
 14. Uffelmann E, Huang QQ, Munung NS, de Vries J, Okada Y, Martin AR, et al. Genome-wide association studies. *Nat Rev Methods Prim.* 2021;1(1):59.
 15. Huang Z, Shi J, Gao Y, Cui C, Zhang S, Li J, et al. HMDD v3.0: a database for experimentally supported human microRNA-disease associations. *Nucleic Acids Res.* 2019 Jan 8;47(D1):D1013-D1017
 16. Agarwal V, Bell GW, Nam JW, Bartel DP. Predicting effective microRNA target sites in mammalian mRNAs. *Elife.* 2015 Aug 12;4:e05005.
 17. Huang HY, Lin YC, Cui S, Huang Y, Tang Y, Xu J, et al. miRTarBase update 2022: an informative resource for experimentally validated miRNA-target interactions. *Nucleic Acids Res.* 2022 Jan 7;50(D1):D222-D230.
 18. Kern F, Aparicio-Puerta E, Li Y, Fehlmann T, Kehl T, Wagner V, et al. miRTargetLink 2.0-interactive miRNA target gene and target pathway networks. *Nucleic Acids Res.* 2021 Jul 2;49(W1):W409-W416.
 19. Kuleshov MV, Jones MR, Rouillard AD, Fernandez NF, Duan Q, Wang Z, et al. Enrichr: a comprehensive gene set enrichment analysis web server 2016 update. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jul 8;44(W1):W90-7.
 20. Gerasymchuk M, Cherkasova V, Kovalchuk O, Kovalchuk I. The role of microRNAs in organismal and skin aging. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):1-36.
 21. Liang N, Zhong R, Hou X, Zhao G, Ma S, Cheng G, et al. Ataxia-telangiectasia mutated (ATM) participates in the regulation of ionizing radiation-induced cell death via MAPK14 in lung cancer H1299 cells. *Cell Prolif.* 2015 Oct;48(5):561-72.
 22. Stagni V, Cirotti C, Barilà D. Ataxia-telangiectasia mutated kinase in the control of oxidative stress, mitochondria, and autophagy in cancer: A maestro with a large orchestra. *Front Oncol.* 2018;8(MAR):1-6.
 23. Phan LM, Rezaeian AH. ATM: Main features, signaling pathways, and its diverse roles in DNA damage response, tumor suppression, and cancer development. *Genes (Basel).* 2021;12(6):845.
 24. Shibata A, Jeggo PA. ATM's role in the repair of DNA double-strand breaks. *Genes (Basel).* 2021;12(9):1370.
 25. Briguglio S, Cambria C, Albizzati E, Marcello E, Provenzano G, Frasca A, et al. New views of the DNA repair protein ataxia-telangiectasia mutated in central neurons: Contribution in synaptic dysfunctions of neurodevelopmental and neurodegenerative diseases. *Cells.* 2023 Aug 30;12(17):2181.
 26. Han J, Wu J, Silke J. An overview of mammalian p38 mitogen-activated protein kinases, central regulators of cell stress and receptor signaling. *F1000Research.* 2020;9:1-20.
 27. Madkour MM, Anbar HS, El-Gamal MI. Current status and future prospects of p38 α /MAPK14 kinase and its inhibitors. *Eur J Med Chem.* 2021;213:113216.
 28. Whitaker RH, Cook JG. Stress relief techniques: P38 MAPK determines the balance of cell cycle and apoptosis pathways. *Biomolecules.* 2021 Oct 2;11(10):1444.
 29. Nakamura A, Rampersaud YR, Sharma A, Lewis SJ, Wu B, Datta P, et al. Identification of microRNA-181a-5p and microRNA-4454 as mediators of facet cartilage degeneration. *JCI Insight.* 2016 Aug 4;1(12):e86820.
 30. Nguyen VHL, Yue C, Du KY, Salem M, O'Brien J, Peng C. The role of microRNAs in epithelial ovarian cancer metastasis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(19):1-39.