

**PENGARUH SH-MSCs TERHADAP EKSPRESI GEN
*INTERLEUKIN 6 (IL-6) DAN CD68***

**(Studi Eksperimental *in vivo* Pada Tikus Jantan Galur Wistar
Model Sindroma Metabolik)**

TESIS

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat Magister Ilmu Biomedik



Disusun Oleh:

NURINA

MBK 2118010265

**PROGRAM STUDI MAGISTER BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025**

TESIS
PENGARUH SH-MSCs TERHADAP EKSPRESI GEN
INTERLEUKIN 6 (IL-6) DAN CD68
(Studi Eksperimental *in vivo* Pada Tikus Jantan Galur Wistar
Model Sindroma Metabolik)

Disusun oleh:

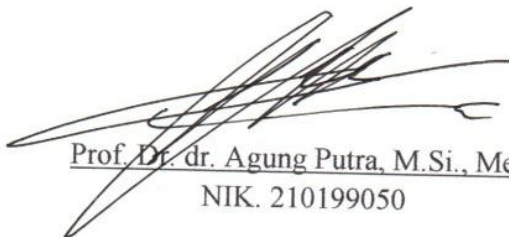
NURINA

MBK 2118010265

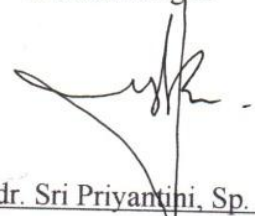
Telah dipertahankan didepan tim Penguji pada tanggal 30 Januari 2025 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I


Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si., Med.
NIK. 210199050

Pembimbing II


Dr. dr. Sri Priyanti, Sp. A.
NIK.210105097

Mengetahui,
Ketua Progam Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B., FInaCS.
NIK. 210113160

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan didalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 30 Januari 2025

Yang menyatakan,



(Nurina)

KATA PENGANTAR



Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH SH-MSCs TERHADAP EKSPRESI GEN *INTERLEUKIN 6 (IL-6)* DAN CD68 (Studi Eksperimental *in vivo* Pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Sindroma Metabolik)** tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor,
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang,
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B., FInaCS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang,
4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE., Subsp.DKE, FINSADV, FAADV, selaku Ketua tim Penguji yang telah bersedia mencurahkan perhatian dan pemikirannya untuk menguji dan memberikan masukan guna perbaikan juga dukungannya begitu tulus serta luar biasa,

5. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si., Med selaku Dosen Pembimbing I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis,
6. Dr. dr. Sri Priyantini, Sp. A selaku Dosen Pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis,
5. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis,
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karenanya, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. *Aamiin yaa rabbal 'alamin.*

Semarang, 30 Januari 2025

Penulis,

(Nurina)

DAFTAR ISI

Halaman

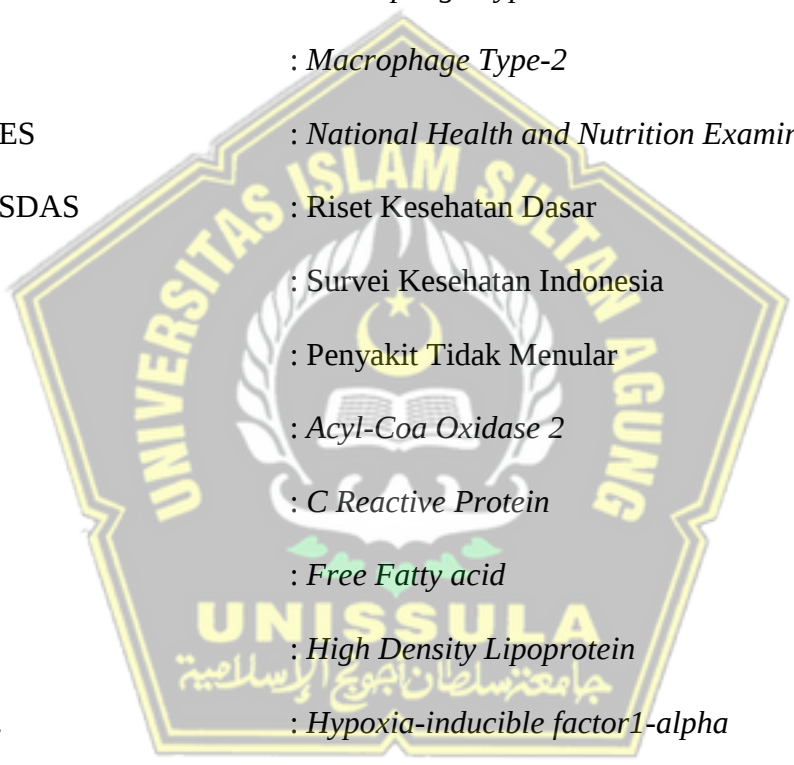
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTISARI.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus	5
1.4. Manfaat penelitian	5
1.4.1. Manfaat Praktis	5
1.4.2. Manfaat Ilmiah.....	5
1.5. Originalitas Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1. Sindroma Metabolik (MetS)	12
2.1.1. Komponen Sindroma Metabolik (MetS)	14
2.1.2. Mekanisme dan Peran ROS (Reactive Oxygen Species) dalam Perkembangan Sindroma Metabolik.....	15

2.1.3. Mekanisme Peradangan dan Produksi Radikal Bebas Melalui Obesitas pada Sindroma Metabolik.....	21
2.2. Interleukin-6 (IL-6).....	25
2.3. CD 68 (Cluster of Differentiation 68).....	29
2.4. Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs).....	30
2.5. Pengaruh SH-MSCs terhadap IL-6 dan CD68.....	33
BAB III KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS	35
3.1. Kerangka Teori	35
3.2. Kerangka Konsep.....	38
3.3. Hipotesis	39
BAB IV METODE PENELITIAN	40
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	40
4.2. Populasi dan Sampel.....	41
4.2.1. Populasi.....	41
4.2.2. Sampel Penelitian	42
4.3. Tempat dan Waktu Penelitian.....	44
4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	45
4.4.1. Variabel Penelitian.....	45
4.4.2. Definisi Operasional	45
4.5. Bahan Penelitian	46
4.6. Alat Penelitian.....	46
4.7. Cara Induksi Sindrom Metabolik pada Tikus	47
4.8. Cara Pengukuran Indeks Lee	47
4.9. Pemberian SH-MSCs	47
4.10. Cara Kerja Penelitian	48
4.10.1. Perolehan Ethical Clearance	48
4.10.2. Cara Kerja Penelitian	48
4.10.3. Cara Pengukuran Trigliserida	49
4.10.4. Cara Pemeriksaan High-Density Lipoprotein (HDL).....	49
4.10.5. Cara Pemeriksaan Low-Density Lipoprotein (LDL).....	50

4.10.6. Cara Pemeriksaan Tikus Galur Wistar Jantan Menggunakan RT-PCR	51
4.10.7. Pembacaan ekspresi gen IL-6 dan CD68 dengan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)	53
4.11. Alur Penelitian	54
4.12. Analisis Data	55
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	56
5.1. Hasil Penelitian	56
5.1.1. Hasil Validasi SH-MSK	56
5.1.2. Hasil Validasi Sindroma Metabolik	59
5.1.3. Ekspresi IL-6 dan CD68	60
5.2. Pembahasan	63
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	70
6.1. Kesimpulan	70
6.2. Saran	70
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	84



DAFTAR SINGKATAN



SH-MSCs	: <i>Secretome Hypoxic-Mesenchymal Stem Cells</i>
MetS	: <i>Metabolic Syndrome</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
CD68	: <i>Cluster of Differentiation 68</i>
M-1	: <i>Macrophage Type-1</i>
M-2	: <i>Macrophage Type-2</i>
NHANES	: <i>National Health and Nutrition Examination Survey</i>
RISKESDAS	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
SKI	: <i>Survei Kesehatan Indonesia</i>
PTM	: <i>Penyakit Tidak Menular</i>
COX2	: <i>Acyl-CoA Oxidase 2</i>
CRP	: <i>C Reactive Protein</i>
FFA	: <i>Free Fatty acid</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia-inducible factor1-alpha</i>
IFN γ	: <i>Interferon gamma</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
Ox-LDL	: <i>Oxidated LowDensity Lipoprotein</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
MAPK	: <i>Mitogen-activated protein kinases</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor Kappa B</i>

Nrf2	: <i>Nuclear Factor-Erythroid-2 Related Factor 2</i>
PDGF	: <i>Supergene IL-1b-Platelet-Derived Growth Factor</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
IL-1b	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
SOD2	: <i>Superoksida Dismutase 2</i>
ER	: <i>Retikulum Endoplasma</i>
NADPH	: <i>Nikotinamida Adenina Dinukleotida Fosfat</i>
H ₂ O ₂	: <i>Hidrogen Peroksida</i>
AGEs	: <i>Advanced Glycation End Products</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
TCA	: <i>Tricarboxylic Cycle</i>



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	7
Tabel 4.1. Definisi Operasional.....	45
Tabel 5.1. Hasil Validasi Tikus Sindroma Metabolik.....	59
Tabel 5.2. Hasil Analisis Statistik Data Ekspresi CD68 dan IL6.....	61
Tabel 5.3. Hasil Analisis LSD Data Ekspresi CD68 dan IL6	61



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Sumber Spesies Oksigen Reaktif.....	17
Gambar 2.2. Mekanisme Sindrom Metabolik.	20
Gambar 2.3. Mekanisme Stres Oksidatif Terkait Dengan Adiposit.....	24
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	38
Gambar 3.2. Kerangka Konsep	38
Gambar 4.1. Rancangan Penelitian	40
Gambar 4.2. Alur Penelitian.....	54
Gambar 5.1. Morfologi MSCs. (A) morfologi MSCs berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31.	57
Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B) Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x).....	58
Gambar 5.3. Gambar grafik Analisis korelasi dan regresi data CD68 dan IL-6.....	62

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Ethical Clearance.....	84
Lampiran 2. Standart Report.....	85
Lampiran 3. Foto Kegiatan Penelitian	93
Lampiran 4. Hasil Olah Data SPSS	95



ABSTRACT

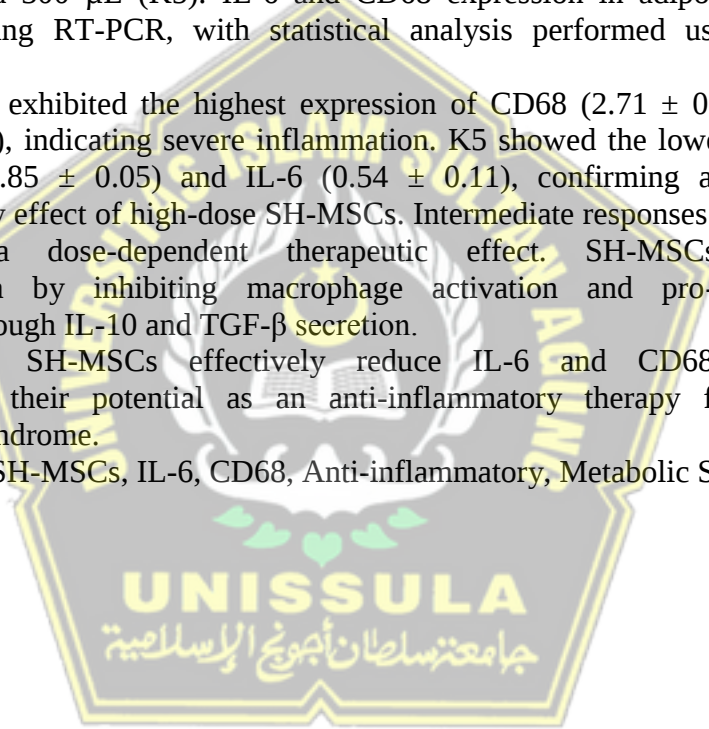
Background: Metabolic Syndrome (MetS) is characterized by obesity, insulin resistance, and chronic inflammation, marked by elevated IL-6 and CD68 levels. Hypoxia-induced Secretome from Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs), which contains growth factors and anti-inflammatory molecules, holds potential as a therapy to reduce inflammation and metabolic dysregulation in MetS.

Methods: SH-MSCs secretome was cultured under hypoxic conditions and fractionated using tangential flow filtration (10–100 kDa). Thirty Wistar rats fed a high-fat, high-glucose diet for four weeks were divided into five groups: healthy control (K1), untreated MetS control (K2), positive control receiving Fenofibrate (K3), and treatment groups receiving SH-MSCs secretome intravenously at 150 μ L (K4) and 300 μ L (K5). IL-6 and CD68 expression in adipose tissue was analyzed using RT-PCR, with statistical analysis performed using ANOVA ($p < 0.05$).

Results: K2 exhibited the highest expression of CD68 (2.71 ± 0.07) and IL-6 (1.71 ± 0.11), indicating severe inflammation. K5 showed the lowest expression of CD68 (0.85 ± 0.05) and IL-6 (0.54 ± 0.11), confirming a strong anti-inflammatory effect of high-dose SH-MSCs. Intermediate responses in K3 and K4 suggested a dose-dependent therapeutic effect. SH-MSCs modulated inflammation by inhibiting macrophage activation and pro-inflammatory signaling through IL-10 and TGF- β secretion.

Conclusion: SH-MSCs effectively reduce IL-6 and CD68 expression, highlighting their potential as an anti-inflammatory therapy for managing metabolic syndrome.

Keywords: SH-MSCs, IL-6, CD68, Anti-inflammatory, Metabolic Syndrome



INTISARI

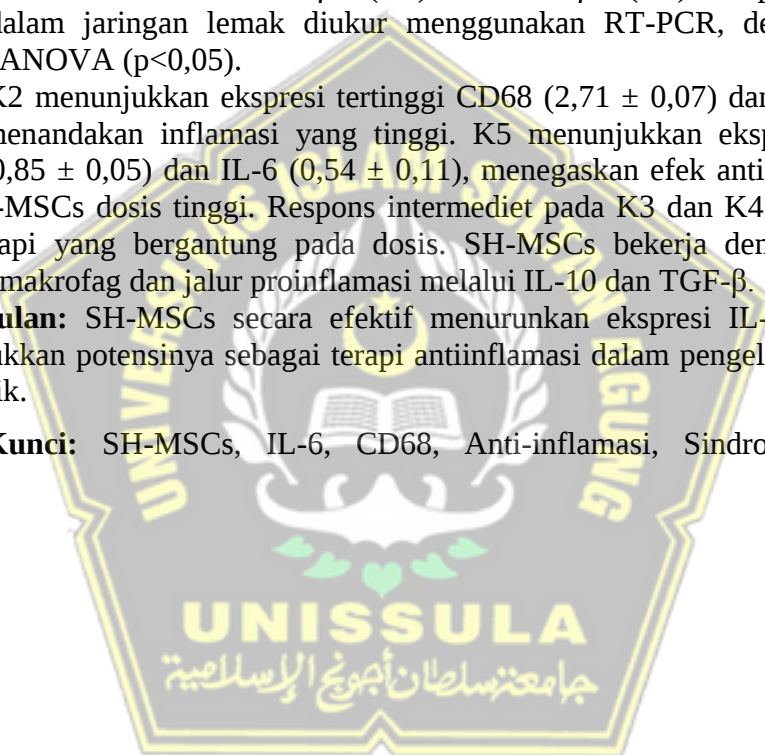
Latar Belakang: Sindrom Metabolik (MetS) melibatkan obesitas, resistensi insulin, dan peradangan kronis yang ditandai dengan peningkatan IL-6 dan CD68. Sekretom Hipoksia dari Sel Punca Mesenkim (SH-MSCs) yang mengandung faktor pertumbuhan dan molekul antiinflamasi berpotensi sebagai terapi untuk mengurangi inflamasi dan disregulasi metabolik pada MetS.

Metode: Sekretom SH-MSCs dikultur dalam kondisi hipoksia dan difraksinasi menggunakan filtrasi aliran tangensial (10–100 kDa). Tikus Wistar (n=30) yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa selama 4 minggu dibagi menjadi lima kelompok: sehat (K1), kontrol negatif (K2), kontrol positif Fenofibrate (K3), dan perlakuan SH-MSCs dosis 150 μ L (K4) serta 300 μ L (K5). Ekspresi IL-6 dan CD68 dalam jaringan lemak diukur menggunakan RT-PCR, dengan analisis statistik ANOVA ($p < 0,05$).

Hasil: K2 menunjukkan ekspresi tertinggi CD68 ($2,71 \pm 0,07$) dan IL-6 ($1,71 \pm 0,11$), menandakan inflamasi yang tinggi. K5 menunjukkan ekspresi terendah CD68 ($0,85 \pm 0,05$) dan IL-6 ($0,54 \pm 0,11$), menegaskan efek antiinflamasi kuat dari SH-MSCs dosis tinggi. Respons intermediet pada K3 dan K4 menunjukkan efek terapi yang bergantung pada dosis. SH-MSCs bekerja dengan menekan aktivasi makrofag dan jalur proinflamasi melalui IL-10 dan TGF- β .

Kesimpulan: SH-MSCs secara efektif menurunkan ekspresi IL-6 dan CD68, menunjukkan potensinya sebagai terapi antiinflamasi dalam pengelolaan sindrom metabolik.

Kata Kunci: SH-MSCs, IL-6, CD68, Anti-inflamasi, Sindrom Metabolik



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Sindrom Metabolik (MetS) sering kali digambarkan sebagai komplikasi dari beberapa gangguan metabolisme yang saling berkaitan dari sistem metabolik, lingkungan dan genetika dengan manifestasi meliputi obesitas sentral, resistensi insulin, disglukemia, dislipidemia aterogenik (hipertrigliseridemia dan atau kadar kolesterol lipoprotein densitas tinggi yang rendah), dan hipertensi.^{1,2} Terjadinya sekumpulan manifestasi tersebut merupakan gambaran kompleksitas proses inflamasi berkepanjangan dalam tingkat rendah yang mengakibatkan peningkatan ekspresi genetik Interleukin 6 (*IL-6*) dan CD68 dalam proses patogenesis Sindroma metabolik yang apabila tidak ditata laksana dengan baik akan secara signifikan meningkatkan keterkaitannya dengan peningkatan risiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan diabetes mellitus.^{3,4}

Penyakit kardiovaskuler merupakan penyebab utama morbiditas dan mortalitas di seluruh dunia, sehingga pentingnya meneliti lebih mendalam tentang MetS untuk mengurangi prevalensi dan beban yang diakibatkan oleh penyakit tersebut terus dilakukan dan berkembang secara eksponensial dalam beberapa dekade terakhir.⁵ Penggunaan terapi Sekretom Sel Punca Mesenchymal (SH-MSCs) telah menjadi fokus penelitian yang menarik dalam pengelolaan sindrom metabolik dan diharapkan dapat menjadi pilihan serta terobosan baru dalam penatalaksanaan Sindroma Metabolik.^{6,7}

Sindroma Metabolik telah mengalami peningkatan prevalensi yang mencolok dalam beberapa dekade terakhir, terutama di negara-negara dengan gaya hidup modern yang didorong oleh pola makan yang tidak sehat dan kurangnya aktivitas fisik.^{8,9} Data dari *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) dari tahun 2011 hingga 2016 menyebutkan angka kejadian Sindroma Metabolik adalah 19,5% pada usia 20-39 tahun dan semakin meningkat menjadi 48,6% pada usia setelahnya (40 tahun) hingga 60 tahun.¹⁰ Kecenderungan peningkatan yang signifikan pada kejadian Sindroma Metabolik terjadi pula di Asia.¹¹ Menurut data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2018 ada 13,6% orang dewasa di atas 18 tahun keatas dengan indeks massa tubuh $\geq 25,0$ s/d $\leq 27,0$ mengalami berat badan lebih (*overweight*) dan sebanyak 21,8% mengalami obesitas dengan indeks massa tubuh $\geq 27,0$.¹² Data Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023 menunjukkan bahwa angka Penyakit Tidak Menular (PTM) mencapai 53,5% dengan keberadaan faktor risiko terjadinya Hipertensi dan Diabetes yang lebih tinggi pada kelompok yang memiliki faktor risiko obesitas sentral atau aktivitas fisik yang kurang.¹³

Faktor peradangan telah diidentifikasi sebagai salah satu komponen kunci dalam patofisiologi sindrom metabolik.¹⁴ Inflamasi kronis yang terjadi baik ditingkat sistemik dan lokal yang terutama pada jaringan adiposa, menyebabkan peningkatan pelepasan sitokin pro-inflamasi dan mediator peradangan lainnya, seperti IL-6 dan CD68.¹⁵ Tingkat peradangan yang berkelanjutan ini dapat menyebabkan peningkatan beban kardiometabolik,

gangguan metabolisme, resistensi insulin serta berkontribusi pada perkembangan komplikasi dari berbagai kondisi tersebut.^{16,17} Berbagai proses patogenesis yang berkontribusi terhadap perkembangan MetS berpuncak pada keadaan pro-inflamasi yang menjelaskan peningkatan berbagai penanda inflamasi seperti IL-6, protein C-reaktif (CRP), dan TNF α yang terlihat pada individu dengan MetS.^{18,19} Seperti yang disebutkan sebelumnya, resistensi insulin dan stres oksidatif sistemik yang disebabkan oleh obesitas mengaktifkan kaskade inflamasi, yang menyebabkan fibrosis jaringan, aterosclerosis, dan kemudian penyakit kardiovaskular.^{20,21} Interleukin-6 merupakan salah satu sitokin yang dilepaskan oleh makrofag dan adiposit, dan kadarnya terbukti meningkat seiring dengan resistensi insulin dan obesitas.^{22,23,24} Faktanya, IL-6 diketahui mengatur metabolisme lemak dan glukosa, dan memediasi resistensi insulin melalui berbagai mekanisme kompleks.^{25,26} Sitokin ini bekerja pada berbagai jaringan, yang menyebabkan efek metabolik pada obesitas.^{28,27} Disaat yang bersamaan, terjadi pula peningkatan ekspresi CD68 sebagai respon peradangan yang terus berlangsung.²⁹ Beberapa penelitian telah menunjukkan peningkatan signifikan ekspresi CD68 dalam makrofag sebagai respons terhadap rangsangan inflamasi seperti paparan oxLDL.^{30,31}

Pengobatan konvensional yang tersedia untuk Sindrom Metabolik, seperti Fenofibrat memiliki efektivitas dalam menurunkan kadar TG, LDL, dan HDL meskipun belum sepenuhnya berhasil menekan produksi sitokin pro-inflamasi secara efektif.³² Penelitian terdahulu menemukan bahwa

pemberian Fenofibrat mampu memperbaiki kerusakan endotel pada tikus. Model Sindroma Metabolik.³³ Namun, Fenofibrate dapat menyebabkan sejumlah efek samping negatif, termasuk gangguan pencernaan, nyeri otot, dan peningkatan risiko batu empedu serta pada penggunaan jangka Panjang dapat mempengaruhi fungsi hati dan ginjal pada individu yang rentan.³⁴

Dalam beberapa tahun terakhir, terapi dengan menggunakan sekretom sel punca mesenchymal (SH-MSCs) telah menjadi fokus penelitian yang menarik dalam pengelolaan sindrom metabolik.³⁵⁻³⁸ Selain mengandung molekul regeneratif seperti TGF beta, PDGF, dan VEGF. SH-MSCs juga mengandung molekul yang memiliki efek imunomodulasi dan anti-inflamasi potensial untuk mengatasi peradangan dan gangguan metabolisme yang mendasari sindrom metabolik.^{39,40} Namun, peran SH-MSCs dalam pengelolaan sindrom metabolik masih menjadi area penelitian yang relatif baru dan belum sepenuhnya dipahami. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menyelidiki potensi terapi SH-MSCs dalam mengatasi sindrom metabolik dan perannya dalam mengatur parameter peradangan seperti IL-6 dan CD68.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, dapat dirumuskan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

Adakah pengaruh pemberian SH-MSCs terhadap ekspresi gen *Interleukin 6* (IL-6) dan CD68 pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Sindrom Metabolik?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian Secretome dari Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) terhadap ekspresi gen *Interleukin 6* (IL-6) dan CD68 pada jaringan adiposa visceral Tikus Jantan Galur Wistar Model Sindrom Metabolik.

1.3.2. Tujuan Khusus

Menganalisis pengaruh pemberian SH-MSCs dengan variasi dosis 150 μ L dan 300 μ L terhadap ekspresi gen *Interleukin-6* (IL-6) dan CD68 pada jaringan adiposa visceral tikus jantan galur Wistar model Sindrom Metabolik, serta membandingkannya dengan kelompok kontrol negatif dan kontrol positif.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat Praktis

Diharapkan SH-MSCs dapat memberikan manfaat dalam pencegahan dan pengobatan yang berperan sebagai anti inflamasi dan anti oksidan dengan cara mengontrol inflamasi dan mencegah atau mengurangi stres oksidatif pada Tikus Galur Wistar Jantan Model Sindrom Metabolik.

1.4.2. Manfaat Ilmiah

Menambah ilmu pengetahuan baru tentang potensi anti inflamasi dari SH-MSCs dalam menurunkan ekspresi gen *Interleukin*

6 (IL-6) dan CD68 pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Sindrom Metabolik.



1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil
1	Silvia Moreno-Fernández, Marta Garcés-Rimón, Gema Vera, Julien Astier, Jean François Landrier, Marta Miguel ⁴¹	<i>High Fat/High Glucose Diet Induces metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model</i>	Eksperimental <i>in vivo</i>	Hasil penelitian menunjukkan glukosa lebih efektif daripada fruktosa dalam memicu sindrom metabolik pada tikus dengan diet tinggi lemak-tinggi glukosa
2	Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof MR, Haji Suhaimi F. ⁴²	<i>The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats</i>	Eksperimental <i>in vivo</i>	Tikus Wistar jantan yang diberi makan FDW 20% selama 8 minggu mengalami parameter obesitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi makan FDW 25%. Terjadi hipertrofi adiposit, hipertensi sistolik, hipertrigliseridemia, dan hiperglikemia pada kedua kelompok.
3	A'an Haries Pranowo, Danis Pertiwi, Agung Putra ⁷	<i>The Effect of Secretome Hypoxic Mesenchymal Stem Cells on ProInflammatory and Anti-Inflammatory Markers Expression (in Vivo Experimental Study on the Macrophage Cell Polarization of Wistar Male Mice Type 1 DM Model)</i>	Eksperimental <i>in vivo</i>	Pemberian SH-MSC 0,5 cc dan 1 cc pada polarisasi sel makrofag dapat menurunkan ekspresi protein CD68 dan meningkatkan ekspresi CD163 pada tikus model DMT1.

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil
4	Brittney J. Palermo, Katherine S. Wilkinson, Timothy B. Plante, Charles D. Nicoli, Suzanne E. Judd, Debora Kamin Mukaz, D. Leann Long, Nels C. Olson, Mary Cushman ⁴⁴	<i>Interleukin-6, Diabetes, and Metabolic Syndrome in a Biracial Cohort: The Reasons for Geographic and Racial Differences in Stroke Cohort.</i>	Biracial Cohort	IL-6 lebih tinggi pada peserta berkulit hitam daripada pada peserta kulit putih dan mereka yang memiliki adipositas sentral. Hasil penelitian mendukung konsep intervensi untuk menurunkan peradangan dalam pencegahan diabetes
5	Aneta Pierzynová, Jaromír Šrámek, Anna Cinkajzlová, Helena Kratochvílová, Jaroslav Lindner, Martin Haluzík, Tomáš Kučera ⁴⁵	<i>The number and phenotype of myocardial and adipose tissue CD68+ cells is associated with cardiovascular and metabolic disease in heart surgery patients, Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases</i>	Eksperimental in vivo	Sel CD68+ ditemukan dalam inflamasi tingkat rendah pada jaringan adiposa yang terlibat dalam patogenesis gangguan terkait obesitas termasuk diabetes melitus tipe 2 dan penyakit kardiovaskuler. Proporsi sel CD68+ lebih tinggi pada EAT daripada SAT, dan pada SAT, CD68+ lebih sering ditemukan pada pasien CAD.
6	Renata Belfort, Rachele Berria, John Cornell, Kenneth Cusi ⁴⁶	<i>Fenofibrate Reduces Systemic Inflammation Markers Independent of Its Effects on Lipid and Glucose Metabolism in Patients with the Metabolic Syndrome</i>	Eksperimental in vivo	Fenofibrate secara signifikan menurunkan trigliserida plasma, apolipoprotein (apo) CII, apo CIIL, dan apo E, secara nyata menurunkan protein C-reaktif dan IL-6, namun tidak memperbaiki sekresi insulin, jaringan adiposa, sensitivitas

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil
7	Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Bisri T, Ilyas S, Farhat F, Muhar AM, Rusda M, Amin MM ³⁹	The Role of Mesenchymal Stem Cell Secretome in the Inflammatory Mediators and the Survival Rate of Rat Model of Sepsis	Eksperimental <i>in vivo</i>	insulin hati/otot serta tidak merubah kadar adiponektin dan TNF- α . Ditemukan penurunan signifikan kadar TNF- α serum pada kelompok tikus septik setelah pemberian sekretom MSC pada dosis 150 μ L dan 300 μ L dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa glukosa lebih efektif daripada fruktosa dalam memicu sindrom metabolik pada hewan model tikus diet tinggi lemak tinggi glukosa.⁴¹ Pemberian minum Fructose Drinking Water (FDW) 20% dalam rentang waktu 8 minggu ternyata mampu menyebabkan hewan model mengalami parameter obesitas yang jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi minuman FDW 25%, selain itu terjadi pula hipertrofi adiposit, hipertensi sistolik, hipertrigliseridemia, dan hiperglikemia pada kedua kelompok hewan model penelitian.⁴² Didalam penelitian ini akan dilakukan induksi pakan tinggi lemak dan tinggi glukosa pada tikus model selama 4 minggu.

Peradangan yang terjadi pada sindroma metabolik melepaskan berbagai mediator radang yang dapat digunakan dalam mengukur berbagai kerusakan pada tingkat molekuler,⁴³ seperti adanya ekspresi gen *Interleukin*

6 (IL-6) dan CD68 yang banyak ditemukan dalam inflamasi pada jaringan adiposa yang mengalami proses patogenesis terkait obesitas dengan diabetes melitus tipe 2 dan penyakit kardiovaskuler.⁴⁴ Pada penelitian sebelumnya ditemukan bahwa CD68 ditemukan dalam inflamasi ringan pada jaringan adiposa dan proporsinya menjadi lebih tinggi pada Epicardial Adipose Tissue (EAT) daripada Subcutaneous Adipose Tissue (SAT), dan pada SAT, CD68 lebih sering ditemukan pada pasien Coronary Arterial Disease (CAD).⁴⁵

Salah satu pengobatan standar yang digunakan dalam tata laksana pada sindroma metabolik yaitu Fenofibrate. Dalam penelitian sebelumnya, Fenofibrate disebutkan secara signifikan menurunkan trigliserida plasma, apolipoprotein (apo) CII, apo CIII, dan apo E (semuanya $P < 0,01$), dengan peningkatan pada kolesterol lipoprotein densitas tinggi. Dalam penelitian tersebut juga disebutkan Fenofibrate secara nyata menurunkan protein C-reaktif sensitivitas tinggi plasma dan IL-6. Namun, pengobatan dengan Fenofibrate tidak memberikan perbaikan pada sekresi insulin maupun jaringan adiposa, sensitivitas insulin hati atau otot ataupun oksidasi glukosa/lipid. Begitupun dengan kadar adiponektin dan TNF- α yang tidak berubah setelah pemberian Fenofibrate.^{46,47} Sehingga dibutuhkan terobosan tingkat molekuler dalam mengatasi peradangan yang disebabkan dari berbagai proses patogenesis akibat dari metabolik syndrome.

Pada penelitian yang berfokus pada pemberian SH-MSCs, kelompok perlakuan dengan pemberian sebanyak 0,5 cc dan 1 cc dapat menurunkan

ekspresi protein CD68 dan meningkatkan ekspresi CD163 pada polarisasi sel makrofag pada tikus model DMT1⁷ dan ditemukan penurunan signifikan kadar TNF- α serum pada kelompok tikus septik setelah pemberian sekretom MSC pada dosis 150 μ L dan 300 μ L dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penelitian tersebut berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan ini, karena menggunakan SH-MSCs pada tikus model sindrom metabolik yang dikaji dari parameter ekspresi IL-6 dan CD-68 dan akan dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat dan kontrol negatif sekaligus positif .



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sindroma Metabolik (MetS)

Sindrom metabolik (MetS) merupakan sekumpulan gejala disregulasi metabolik yang ditandai dengan terjadinya resistensi insulin, dislipidemia aterogenik, obesitas sentral, dan hipertensi.^{1,2,3} Proses patogenesis yang mendasari terjadinya MetS adalah resistensi insulin dan peradangan tingkat rendah yang berlangsung terus menerus.⁴ Jika tidak ditatalaksana dengan baik, Sindrom metabolik (MetS) secara signifikan terkait dengan terjadinya diabetes melitus tipe 2 hingga 5 kali lipat, penyakit kardiovaskular hingga 2 kali lipat, dan 1,5 kali lipat pada semua penyebab kematian.^{51,55} Sindroma ini juga dikaitkan dengan komorbiditas lain termasuk keadaan-keadaan seperti pro-trombotik dan pro-inflamasi, steatohepatitis non-alkoholik dan gangguan reproduksi.⁵² Bahkan lebih jauh lagi sekarang ini semakin banyak literatur yang menghubungkan MetS dengan jenis kanker tertentu.⁵⁶

Peningkatan prevalensi MetS yang terjadi secara global akibat dari gaya hidup yang tidak sehat dengan kecenderungan malas bergerak (*sedentary lifestyle*), dan perubahan pola makan yang didorong oleh urbanisasi membuat urgensi yang sangat besar untuk mengatasi sindrom ini.⁴⁹ Sekitar 20% hingga 30% dari populasi dewasa mengalami sindrom metabolik yang bervariasi di berbagai negara.⁵⁰ Di kawasan Asia-Pasifik bahkan menghadapi pandemi baru dimana hampir 1/5 atau lebih dari populasi orang dewasanya mengalami MetS dengan prevalensi kejadian

yang meningkat secara eksponensial.⁵³ Demikian pula yang terjadi di Amerika Serikat, menurut survei yang dilakukan oleh National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) pada kurun waktu 2011 hingga 2018, didapatkan hasil peningkatan prevalensi yang signifikan dengan angka 37,6% pada tahun 2011-2012 meningkat menjadi 41,8% pada tahun 2017-2018.⁵⁴

Faktor risiko sindrom metabolik meliputi peningkatan lingkar pinggang atau lemak perut, hipertrigliseridemia, hipertensi, peningkatan kadar gula dalam darah, dan kadar lipoprotein densitas tinggi (HDL) plasma yang rendah.⁵¹ Jika seorang pasien memiliki tiga dari lima faktor risiko tersebut maka diagnosis sindrom metabolik sudah dapat ditegakkan.^{48,49} Meskipun banyak faktor yang berkontribusi pada patofisiologi sindrom metabolik, beberapa penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif, bersamaan dengan kondisi inflamasi kronis, merupakan inti dari perkembangan Sindroma Metabolik.^{50,51} Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan, yang sering kali condong ke arah oksidan, adalah penyebab stress oksidatif, yang pada gilirannya menyebabkan gangguan pada sinyal redoks dan regulasi serta kerusakan pada tingkat selular dan molekuler.⁵⁵ Sindrom metabolik ditandai dengan masalah terkait obesitas, yang menunjukkan hubungan antara obesitas dan sindrom metabolik.⁵⁴ Inflamasi dan stress oksidatif memainkan peran penting dalam perkembangan komorbiditas metabolik seperti hiperlipidemia, tekanan darah tinggi, dan peningkatan intoleransi glukosa, yang semuanya

menyebabkan disfungsi metabolik.^{56,57} Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa risiko sindrom metabolik dapat dikurangi secara signifikan dengan mengurangi berat badan dan memfokuskan intervensi pada perubahan pola makan seperti pembatasan waktu makan, diet khusus seperti diet Mediterania, termasuk meningkatkan latihan fisik, perubahan pola tidur, atau bahkan mengurangi stress.⁵⁵

2.1.1. Komponen Sindroma Metabolik (MetS)

Komponen sindrom metabolik saling terkait dan kompleks yang melibatkan obesitas dan resistensi insulin sebagai faktor utama.⁴⁸ Obesitas adalah faktor risiko utama dalam perkembangan Diabetes Mellitus tipe 2 (T2DM), dan diperkirakan sekitar 90 persen orang yang menderita T2DM mengalami kelebihan berat badan atau obesitas.^{57,58} Obesitas juga dikaitkan dengan peningkatan risiko Penyakit kardiovaskular yang mencakup kondisi seperti tekanan darah tinggi, aterosklerosis, infark miokard akut, dan gagal jantung.⁵⁹ Obesitas sentral didefinisikan sebagai memiliki lingkaran perut yang lebih besar dari 102 cm untuk pria dan lebih besar dari 88 cm untuk wanita.⁶⁰ Obesitas dikaitkan dengan peradangan tingkat rendah yang dapat menyebabkan resistensi insulin, defisiensi insulin, dan gangguan metabolik.⁵⁹ Insulin adalah hormone peptida yang dilepaskan oleh sel beta pankreas sebagai respons terhadap peningkatan glukosa dalam darah yang menyebabkan penghambatan lipolysis dan glukoneogenesis hati, serta menghalangi

penyerapan glukosa di hati, otot, dan jaringan adiposa.⁶¹ Resistensi insulin merupakan respons fisiologis yang berubah terhadap stimulasi insulin pada jaringan target, seperti hati, otot, dan jaringan adiposa.⁶² Resistensi tersebut menghambat metabolisme glukosa, sehingga menyebabkan hipertrofi sel beta, peningkatan produksi insulin sel beta, dan pada akhirnya menyebabkan kondisi hiperinsulinemia^{61,63} Resistensi insulin dapat menyebabkan sekumpulan kondisi diantaranya adalah hiperglikemia, hipertensi, dislipidemia, obesitas visceral, hiperurisemia, peningkatan penanda inflamasi, disfungsi endotel, dan trombosis, yang secara kompleks disregulasi tersebut mengarahkan pada sindrom metabolik.^{48,57,58}

Metabolisme lipid sangat penting untuk etiologi resistensi insulin dan perkembangan sindrom metabolik selanjutnya.⁶⁴ Perubahan lipid juga berkontribusi pada kriteria diagnostik untuk sindrom metabolik, dan dua lipid utama meliputi trigliseridemia puasa >150 mg/dL dan konsentrasi kolesterol HDL <40 mg/dL. Gangguan lipid ini ditandai dengan peningkatan sintesis lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL), penurunan kapasitas lipolitik plasma, dan peningkatan aktivitas protein transfer ester kolesterol.⁶⁵

2.1.2. Mekanisme dan Peran ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam Perkembangan Sindroma Metabolik

Pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) diatur secara ketat melalui mekanisme sensing dan redox signaling, yang

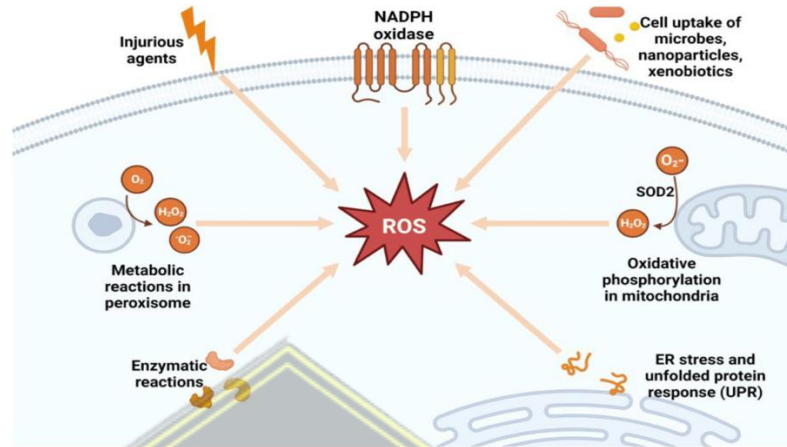
dipengaruhi oleh sumber ROS, jenis sel, serta lingkungan jaringan. Proses ini dapat terjadi dalam kondisi fisiologis normal maupun sebagai respons maladaptif akibat gangguan metabolik serta sinyal inflamasi.^{66,67} Sumber utama ROS dalam sel berasal dari dua sistem utama, yaitu Enzim Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate (NADPH) Oxidase (NOX) serta mitokondria.⁶⁸

Kelompok enzim NOX terdiri dari beberapa isoform, termasuk NOX1, NOX2, NOX3, NOX4, NOX5, DUOX1, dan DUOX2, yang berlokasi di membran sel.⁶⁹ Dari kelompok ini, NOX2 dan NOX3 memainkan peran krusial dalam berbagai kondisi patologis. Sementara itu, dalam mitokondria, ROS terbentuk selama proses fosforilasi oksidatif, yang terjadi akibat oksidasi Nikotinamida Adenina Dinukleotida (NADH) menjadi NAD^+ .^{70,71}

Anion superoksida yang dihasilkan oleh mitokondria dan NOX2 secara cepat dikonversi oleh Superoksida Dismutase menjadi Hidrogen Peroksida (H_2O_2).⁷² Molekul ini berperan sebagai sinyal penting dalam sel dan merupakan agen oksidasi kuat, sehingga keseimbangannya harus dijaga agar produksinya tidak berlebihan atau terlalu rendah.^{70,71}

Untuk mengendalikan kadar H_2O_2 , sel mengekspresikan berbagai protein antioksidan, seperti Peroxiredoxin, Catalase, Glutathione (GSH), dan Thioredoxin, yang berfungsi mengubah

H_2O_2 menjadi air guna mengurangi dampak stres oksidatif.⁷²



Gambar 2.1. Sumber Spesies Oksigen Reaktif.

Pengendalian *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui mekanisme redox regulating, sensing, dan signaling yang ketat sangat penting dalam menjaga keseimbangan fisiologis. Regulasi ini berkontribusi pada aktivasi berbagai faktor transkripsi, salah satunya *Hypoxia-Inducible Factor* (HIF), yang memiliki peran utama dalam angiogenesis.⁷³ Selain itu, ROS juga dapat mengaktifkan jalur *Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells* (NF- κ B), yang dalam kondisi normal berfungsi untuk mencegah apoptosis dengan mempertahankan kelangsungan hidup sel. Hal ini terjadi melalui stimulasi jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), yang memiliki peran utama dalam proliferasi seluler.⁷⁴

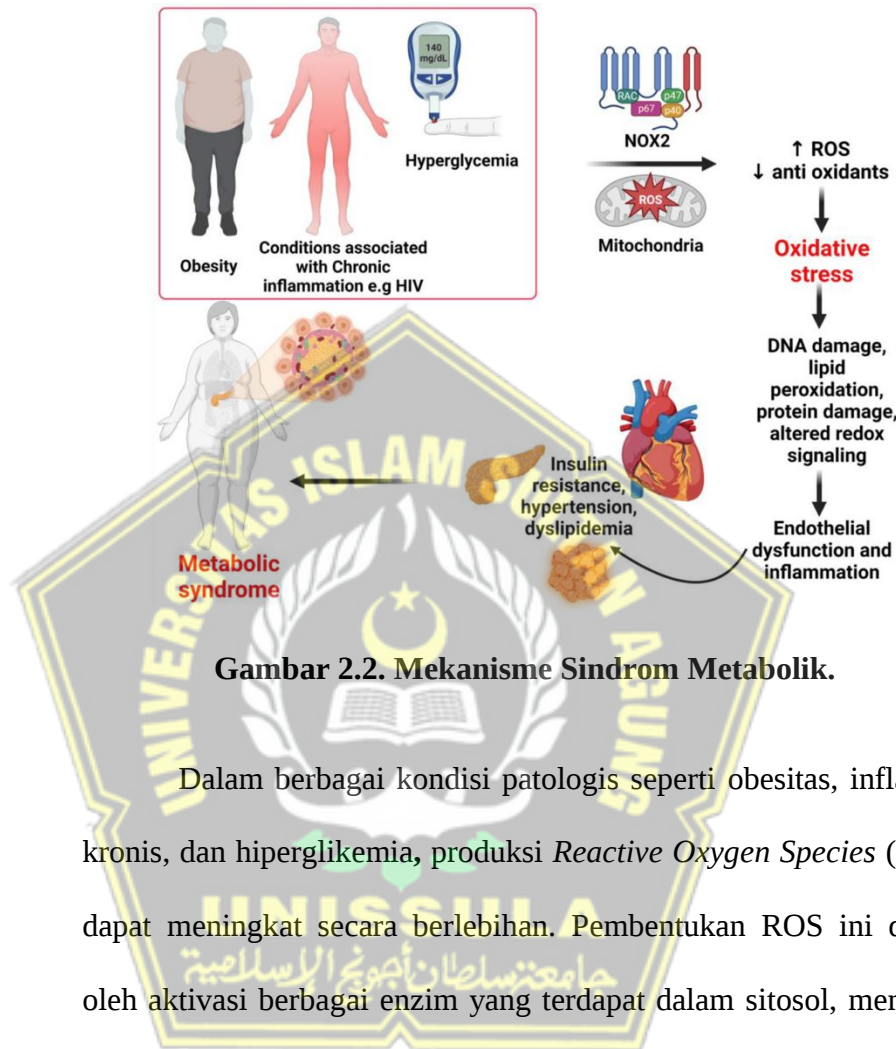
Kelebihan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat terjadi sebagai dampak dari berbagai kondisi patologis seperti obesitas, gangguan sensitivitas insulin, kadar glukosa darah tinggi, peradangan kronis, serta kelainan metabolisme lipid.^{74,75,76} Stres oksidatif yang muncul akibat kondisi ini berdampak buruk bagi sel karena menyebabkan kerusakan struktur DNA dan memicu peroksidasi lipid akibat paparan berlebih terhadap ROS.⁷⁸ Lipid yang menyusun membran plasma, mitokondria, serta retikulum endoplasma menjadi sasaran utama serangan ROS, sehingga mengalami proses peroksidasi yang melibatkan banyak makromolekul dalam sel.⁷⁹ Hasil akhir dari proses peroksidasi lipid ini dapat menghasilkan senyawa toksik yang merugikan sel serta memerlukan glutathione untuk dikeluarkan dari tubuh, namun mekanisme pengeluarannya cukup kompleks dan belum sepenuhnya dipahami.⁸⁰ Sejumlah penelitian telah mengungkapkan bahwa individu dengan sindrom metabolik mengalami penurunan aktivitas enzim antioksidan dalam plasma, disertai dengan peningkatan biomarker yang menunjukkan kerusakan akibat stres oksidatif. Akibatnya, kondisi ini semakin memperburuk kerentanan sel terhadap stres oksidatif, yang dapat mempercepat progresivitas gangguan metabolik dan komplikasi yang menyertainya.^{79,80}

Melalui proses yang serupa dengan peroksidasi lipid, protein dan asam nukleat juga dapat mengalami peroksidasi serta modifikasi

melalui nitrosilasi.⁷² Kendati demikian, produk akhir dari peroksidasi kedua molekul ini umumnya tidak langsung bersifat toksik terhadap sel.⁷² Namun, jika terjadi penumpukan protein yang tidak aktif, hal ini dapat membebani kapasitas sel dalam memetabolisme komponen tersebut, yang pada akhirnya dapat menyebabkan kerusakan DNA. Akumulasi protein yang berlebih juga dapat memicu mekanisme apoptosis, berkontribusi terhadap kematian sel.⁷⁸ Selain itu, protein yang mengalami modifikasi struktural akan mengalami penurunan fungsi, sehingga dapat menyebabkan disfungsi seluler yang signifikan dan hilangnya aktivitas biologis normal dalam jaringan yang terdampak.^{59,67,70}

Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan menciptakan kondisi stres oksidatif yang dapat mengganggu kontrol redoks dan sinyal seluler, sehingga berdampak negatif pada regulasi ekspresi gen. Ketidakseimbangan ini dapat merangsang faktor pertumbuhan yang memicu respons stres seluler dan mengaktifkan mekanisme apoptosis.^{66,67} Disrupsi redox signaling juga berkontribusi terhadap aktivasi jalur pro-inflamasi serta pro-fibrotik, yang pada akhirnya mempengaruhi sinyal metabolisme insulin dan mengganggu fungsi endotel. Selain itu, kondisi ini dapat mempercepat terjadinya peradangan serta fibrosis pada organ vital seperti ginjal dan sistem kardiovaskular, yang kemudian dapat memicu kerusakan organ target.^{66,80} Ilustrasi pada gambar 2 berikut

dapat memberikan gambaran ringkas mengenai peran serta mekanisme ROS dalam patogenesis sindrom metabolik.



Gambar 2.2. Mekanisme Sindrom Metabolik.

Dalam berbagai kondisi patologis seperti obesitas, inflamasi kronis, dan hiperglikemia, produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat meningkat secara berlebihan. Pembentukan ROS ini dipicu oleh aktivasi berbagai enzim yang terdapat dalam sitosol, membran sel, serta mitokondria.⁵⁸ Peningkatan kadar ROS yang tidak diimbangi oleh mekanisme pertahanan antioksidan akan mengarah pada stres oksidatif.⁶⁹ Akumulasi stres oksidatif berpotensi merusak sel secara intraseluler, mengganggu keseimbangan redoks, serta mengakibatkan penumpukan produk oksidasi yang tidak dapat dikembalikan (ireversibel).⁷¹ Kondisi ini memicu disfungsi endotel, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap munculnya resistensi

insulin, hipertensi, dislipidemia, dan berlanjut hingga berkembang menjadi sindrom metabolik.⁷⁰

2.1.3. Mekanisme Peradangan dan Produksi Radikal Bebas Melalui Obesitas pada Sindroma Metabolik

Obesitas merupakan gangguan metabolik yang ditandai dengan akumulasi lemak tubuh yang berlebihan atau distribusi lemak yang tidak optimal, yang dapat memicu berbagai dampak negatif bagi kesehatan.^{70,81,82} Kondisi ini dapat berperan baik sebagai penyebab maupun akibat dari stress oksidatif.⁸³ Asupan tinggi lemak, karbohidrat, serta asam lemak jenuh, terutama asam lemak trans, mampu mengaktifkan jalur intraseluler tertentu yang pada akhirnya meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). Mekanisme ini terjadi melalui berbagai proses, termasuk pembentukan superoksida dalam fosforilasi oksidatif, autoksidasi gliseraldehida, aktivasi protein kinase C, serta stimulasi jalur poliol dan heksosamin.⁷⁶ Berbagai penelitian berbasis kultur sel dan hewan telah menunjukkan bahwa stres oksidatif memainkan peran kausal dalam perkembangan obesitas. Proses ini berkontribusi terhadap peningkatan proliferasi pra-adiposit, diferensiasi sel lemak, serta ekspansi jaringan adiposa putih, yang pada akhirnya turut memengaruhi pola asupan makanan individu.⁸⁰

Obesitas dapat memicu terjadinya stres oksidatif sistemik akibat meningkatnya aktivitas enzim NOX serta stres retikulum

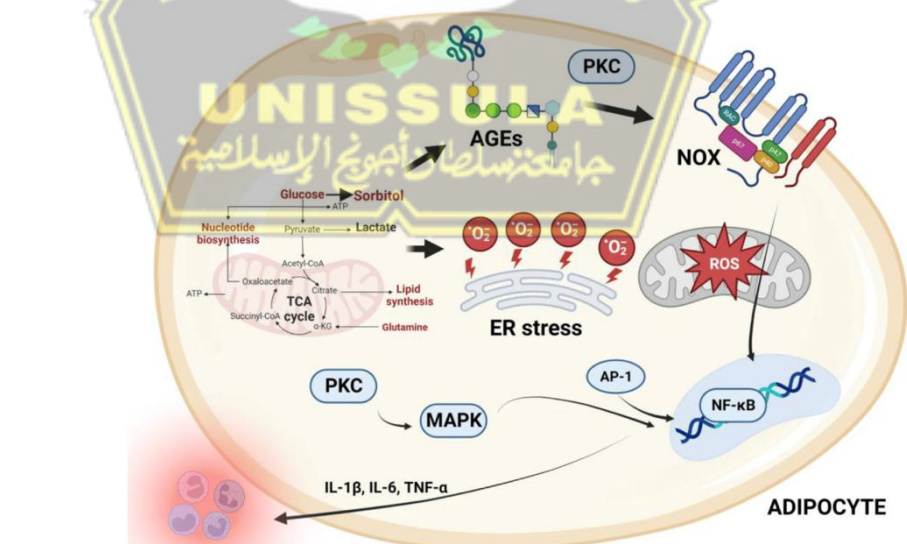
endoplasma pada adiposit. Selain itu, gangguan metabolisme pasca makan yang tidak normal juga berkontribusi terhadap peningkatan produksi ROS, hiperleptinemia, peradangan kronis, serta disfungsi jaringan yang diperparah oleh rendahnya kadar antioksidan.⁸⁴ Terdapat hubungan erat antara stres oksidatif dan inflamasi dalam patofisiologi obesitas. Pada individu dengan obesitas, aktivasi faktor transkripsi pro-inflamasi, seperti NF- κ B dan aktivator protein-1 (AP-1), yang peka terhadap perubahan redoks, menginduksi pelepasan sitokin inflamasi, seperti *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α), *interleukin-1 β* (IL-1 β), dan *interleukin-6* (IL-6). Peningkatan produksi sitokin ini memicu produksi ROS lebih lanjut, menciptakan siklus peradangan yang berkelanjutan.⁷⁶ Stres oksidatif dan inflamasi menjadi elemen kunci dalam perkembangan berbagai komplikasi obesitas, termasuk aterosklerosis, resistensi insulin, diabetes tipe 2, serta kanker.⁸⁵

Dalam berbagai mekanisme yang berkontribusi terhadap stres oksidatif pada obesitas, perubahan metabolisme lipid dan glukosa—seperti hiperglikemia, peradangan kronis, disfungsi jaringan, serta hiperleptinemia—berperan penting.⁸⁶ Selain itu, produksi ROS yang tidak terkendali setelah konsumsi makanan dapat semakin meningkatkan stres oksidatif pada individu dengan obesitas.^{76,84} Proses glikolisis dan siklus asam trikarboksilat (TCA) berperan dalam menghasilkan NADH (*nikotinamida adenin dinukleotida*)

sebagai donor elektron, serta FADH_2 (*flavin adenin dinukleotida*) yang mengalami reduksi dalam rantai transpor elektron mitokondria.⁸³ Ketidakseimbangan asupan energi, terutama akibat kelebihan konsumsi glukosa, mempercepat metabolisme melalui jalur glikolisis dan TCA, sehingga meningkatkan akumulasi NADH dan FADH_2 .^{82,85} Peningkatan gradien proton dalam mitokondria dapat menyebabkan kebocoran elektron, yang pada akhirnya memicu pembentukan senyawa reaktif seperti anion superoksida—baik melalui aktivasi NADPH oksidase maupun dari proses transpor elektron yang terganggu.⁸¹ Enzim superoksida dismutase kemudian mengonversi superoksida menjadi hidrogen peroksida, yang dapat menimbulkan efek toksik lebih lanjut.⁸⁷ Selain itu, radikal bebas yang berlebihan dapat menghambat kerja enzim *gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase* (GAPDH), yang pada akhirnya menyebabkan perubahan jalur metabolisme utama. Gangguan ini dapat memicu peningkatan produksi radikal bebas tambahan, sekaligus menurunkan kapasitas antioksidan seluler, sehingga semakin memperburuk kondisi stres oksidatif.⁸³

Empat jalur alternatif tersebut meliputi : (1) Aktivasi jalur poliol, yang melibatkan reduksi glukosa menjadi sorbitol melalui aldolase reduktase, yang menggunakan NADPH, yang mengakibatkan penipisan NADPH sitosol dan selanjutnya meningkatkan produksi ROS.^{88,89} (2) *Fruktosa-6-fosfat* diubah

menjadi *glukosamin-6-fosfat*, yang menghambat aksi tioredoksin dan menyebabkan stres oksidatif.⁸³ (3) *Triosa fosfat* menghasilkan metilglioksal, prekursor utama produk akhir glikasi lanjutan (AGEs).⁸⁸ AGEs mengaktifkan jalur NOX, yang meningkatkan produksi ROS/spesies nitrogen reaktif (RNS), sedangkan NF- κ B mengubah ekspresi gen dan menyebabkan transkripsi sitokin pro-inflamasi (termasuk TNF- α dan IL-6), molekul adhesi, microRNA (miR), dan inducible nitric oxide synthase (iNOS), yang terlibat dalam adipogenesis, inflamasi, dan stress oksidatif.⁸⁰ (4) Dihidroksiaseton fosfat diubah menjadi diasilgliserol, yang mengaktifkan jalur protein kinase C (PKC), yang memainkan peran penting dalam perkembangan komplikasi kardiovaskular melalui aktivasi kaskade MAPK.⁸⁵ (Gambar 4)



Gambar 2.3. Mekanisme Stres Oksidatif Terkait Dengan Adiposit.

Obesitas memiliki ciri intake berlebih dan hipertrofi adiposit, serta pelepasan dan akumulasi mediator pro-inflamasi seperti asam lemak bebas (FFA), hiperglikemia, produk akhir glikasi lanjut, sitokin, dan sitokin pro-inflamasi yang terkait dengan protein kinase C (PKC) dan jalur poliol.⁸⁰ Dengan mengaktifkan NADPH oksidase (NOX), sintase oksida nitrat, NOS endotel tak berpasangan (eNOS), dan mieloperoksidase, komponen-komponen ini dapat memicu stres oksidatif jaringan. Peradangan kronis juga dapat berkontribusi pada modifikasi keseimbangan redoks jaringan adiposa dengan mengaktifkan transduksi sinyal stres, yang berkontribusi pada peningkatan autofagi dan apoptosis, produksi adipokine yang tidak terkendali, dan peradangan jaringan adiposa.⁸² Perubahan fungsional yang dihasilkan dapat lebih lanjut merusak fungsi jaringan adiposa dengan memengaruhi jalur intraseluler yang menghasilkan sitokin pro-inflamasi, yang mengakibatkan peningkatan daya tarik, infiltrasi, dan aktivasi sel imun, serta peningkatan peradangan jaringan adiposa, sehingga menciptakan lingkaran setan antara stres oksidatif dan peradangan jaringan adiposa, serta penurunan aktivitas sistem antioksidan, yang pada akhirnya menyebabkan disfungsi metabolik.^{80,81}

2.2. *Interleukin-6 (IL-6)*

Interleukin 6 (IL-6) merupakan sitokin yang dihasilkan oleh berbagai jenis sel, termasuk makrofag, sel T, dan sel B. Sitokin ini memiliki fungsi

proinflamasi dan dikenal dengan beberapa nama lain, seperti interferon- β 2 (IFN- β 2), faktor stimulasi sel B-2, serta faktor pertumbuhan hibridoma atau plasmatisoma.³⁸ IL-6 memiliki peran multifungsi yang krusial dalam berbagai respons imun dan inflamasi fisiologis. Salah satu fungsinya adalah mengoordinasikan sistem imun, merangsang produksi antibodi, serta mengatur proliferasi dan diferensiasi sel.³⁹ Mekanisme kerja IL-6 melibatkan interaksi dengan reseptor spesifiknya, IL-6R, yang terdapat pada permukaan sel target. Aktivasi reseptor ini kemudian memicu kaskade sinyal intraseluler melalui jalur STAT (signal transducer and activator of transcription) dan MAPK (mitogen-activated protein kinase), yang berperan dalam regulasi ekspresi gen yang terkait dengan inflamasi.⁴⁰

Karena peranannya yang sangat penting dalam memulai, mempertahankan, serta menyelesaikan proses inflamasi, regulasi IL-6 menjadi fokus utama dalam penelitian berbagai penyakit, termasuk gangguan autoimun, inflamasi kronis, serta berbagai jenis keganasan.⁴¹ Dengan pemahaman yang lebih dalam mengenai mekanisme IL-6 dalam berbagai kondisi patologis, penelitian di bidang ini dapat mengarah pada pengembangan strategi terapeutik yang lebih efektif, baik untuk menghambat maupun memanfaatkan efek biologis IL-6 sesuai dengan kebutuhan klinis.

Makrofag, sel T, dan sel B adalah elemen utama dalam sistem imun yang berperan dalam produksi *interleukin-6* (IL-6) sebagai respons terhadap berbagai kondisi biologis.^{41,42} Makrofag, yang berfungsi sebagai sel

fagositik utama dalam sistem kekebalan tubuh, menghasilkan IL-6 sebagai bagian dari mekanisme pertahanan terhadap infeksi dan benda asing.⁴³ Selain itu, sel T, khususnya subkelompok *T-helper*, turut berkontribusi dalam sekresi IL-6 guna memperkuat respons imun adaptif terhadap patogen.⁴⁴ Sel B, yang bertanggung jawab atas produksi antibodi, juga merupakan sumber utama IL-6 dalam regulasi kekebalan tubuh. Fibroblas dan sel endotel pembuluh darah juga dapat menghasilkan IL-6 sebagai respons terhadap situasi tertentu seperti cedera atau peradangan.⁴⁵ Sel-sel ini melepaskan IL-6 sebagai respons terhadap berbagai stimulus, termasuk infeksi, peradangan, atau stres. IL-6 yang dihasilkan oleh sel-sel ini memiliki peran penting dalam mengatur respon imun, proses peradangan, dan keseimbangan sistem kekebalan tubuh. Tidak hanya terbatas pada sel-sel imun, fibroblas dan sel endotel yang melapisi pembuluh darah juga mampu memproduksi IL-6, terutama ketika tubuh mengalami cedera atau peradangan.^{44,46} Pelepasan IL-6 oleh berbagai jenis sel ini dapat dipicu oleh beragam faktor, termasuk infeksi, stres, dan inflamasi, sehingga menjadikannya sebagai mediator kunci dalam pengaturan keseimbangan sistem imun.⁴³

Interleukin-6 memiliki peran penting dalam penyakit metabolik seperti obesitas, diabetes tipe 2, dan sindrom metabolik yang diproduksi oleh jaringan lemak, terutama adiposit, dan sel-sel imun dalam respon terhadap peradangan dan stress metabolik.⁴⁷ Dalam kondisi normal, IL-6 berfungsi dalam proses antiinflamasi dan pengaturan metabolisme.⁴⁶

Dengan fungsinya yang luas, IL-6 tidak hanya berkontribusi dalam mekanisme pertahanan terhadap ancaman luar tetapi juga berperan dalam regulasi berbagai proses biologis yang mempengaruhi kesehatan manusia.^{45,47}

Interleukin-6 berperan dalam regulasi keseimbangan energi tubuh dan pengaturan metabolisme glukosa serta lemak.^{48,49} Dalam situasi patologis, peningkatan kadar IL-6 dapat menyebabkan resistensi insulin, mengganggu regulasi glukosa darah, dan meningkatkan proses inflamasi kronis, yang sering terkait dengan penyakit metabolik. Lebih lanjut, IL-6 berperan dalam menyebabkan disfungsi sel beta pankreas yang memproduksi insulin.⁵⁰ Sekresi IL-6 dipengaruhi oleh sejumlah faktor, termasuk kondisi fisiologis dan patologis dalam tubuh. Infeksi, peradangan, dan stres merupakan pemicu utama yang dapat merangsang produksi IL-6. Selain itu, kelebihan berat badan, terutama penumpukan lemak di jaringan adiposa, dikenal sebagai faktor peningkat produksi IL-6. Diet yang tidak seimbang, terutama yang kaya lemak jenuh, dapat memicu produksi IL-6 secara berlebihan.⁵¹

Sekresi IL-6 juga dipengaruhi oleh aktivitas fisik. Latihan fisik dan aktivitas fisik yang teratur cenderung mengurangi produksi IL-6, sementara gaya hidup yang kurang aktif cenderung meningkatkan kadar IL-6 dalam tubuh.⁵² Faktor usia juga memainkan peran produksi IL-6 cenderung meningkat seiring bertambahnya usia. Selain itu, hormon seperti estrogen dan kortisol memiliki efek pada produksi IL-6. Estrogen cenderung menekan produksi IL-6, sementara kortisol, hormon stres, dapat

meningkatkan produksinya. Kondisi medis tertentu seperti penyakit autoimun, kanker, atau penyakit jantung juga dapat menyebabkan peningkatan produksi IL-6.⁵²

2.3. CD 68 (Cluster of Differentiation 68)

Makrofag Tipe-1 (M1) adalah jenis makrofag yang diaktifkan oleh PAMPs dan IFN- γ yang dihasilkan oleh sel NK dan sel Th1.⁵³ Fenotip Makrofag Tipe-1 (M1) bisa muncul karena adanya rangsangan dari IFN- γ , TNF- α , atau bahkan akibat produk mikroba seperti *lipopolisakarida* (LPS). Pada *Makrofag Tipe-1* (M1) terjadi peningkatan molekul permukaan seperti MHC kelas II dan B-7 (CD86), yang membuat mereka mampu melakukan presentasi antigen. *Makrofag Tipe-1* (M1) juga memiliki kemampuan untuk membunuh patogen. Kemampuan mereka dalam membunuh patogen ditingkatkan melalui induksi enzim *sintase oksida nitrat* (iNOS) yang menghasilkan *nitrat oksida* (NO). Makrofag Tipe-1 (M1) menggunakan Arginin sebagai substrat untuk membentuk iNOS dan menghasilkan *nitrat oksida* yang bersifat mikrobisidal.⁵⁴

Di dalam jaringan adiposa obesitas, terdapat makrofag yang dapat dibagi menjadi dua fenotip yang berbeda yaitu 1) *Makrofag Tipe-1* (M1) yang aktif secara klasik dan 2) *Makrofag Tipe-2* (M2) yang merupakan makrofag residen. *Makrofag Tipe-1* (M1) mengeluarkan sitokin proinflamasi seperti TNF, IL-6, dan MCP-1, yang berperan dalam menyebabkan resistensi insulin.⁵⁵ Di sisi lain, makrofag M2, yang merupakan makrofag utama dalam jaringan adiposa yang kurus dan

memiliki rasio M1:M2 yang berhubungan dengan resistensi insulin yang lebih baik. Ekspresi penanda M1 meningkat ketika makanan tinggi lemak dikonsumsi, sementara penanda makrofag M2 tidak mengalami perubahan yang signifikan. Sekresi TNF α dari adiposit yang membesar diyakini menjadi pemicu utama rekrutmen ekspresi *Makrofag Tipe-1* (M1) dengan menarik monosit ke dalam jaringan adiposa dan merangsang diferensiasi *Makrofag Tipe-1* (M1) di daerah jaringan adiposa tikus obesitas yang diinduksi oleh diet tinggi lemak- tinggi glukosa.⁵⁶

2.4. *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs)

Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) merujuk pada kumpulan molekul dan faktor yang dilepaskan oleh *Mesenchymal Stem Cells* ke lingkungan sekitarnya. SH-MSCs ini terdiri dari beragam protein, peptida, sitokin, faktor pertumbuhan, dan eksosom yang dihasilkan oleh *Mesenchymal Stem Cells*.^{57,58} Pentingnya *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) terletak pada potensi terapeutiknya yang signifikan. Hal ini disebabkan oleh efek yang dimiliki faktor-faktor dalam SH-MSCs terhadap sel-sel dan jaringan di sekitarnya, seperti interaksi dengan jalur sinyal, modulasi respons imun, serta kemampuan regenerative pada tingkat seluler dan jaringan. Selain itu SH-MSCs memiliki efek seperti berikut:

a. Efek Anti-Inflamasi

Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) memiliki kapasitas untuk mengurangi respons peradangan dengan menekan aktivitas system kekebalan tubuh serta menghambat produksi

sitokin proinflamasi. Faktor-faktor yang terkandung dalam secretome, seperti protein, eksosom, dan faktor pertumbuhan, dapat memodulasi respon imun tubuh, mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi, serta mempengaruhi jalur sinyal yang terlibat dalam peradangan. Kemampuan ini memberikan potensi terapi yang signifikan dalam mengendalikan kondisi peradangan kronis atau penyakit autoimun. Melalui interaksi dengan lingkungan sekitarnya, SH-MSCs menawarkan potensi dalam meredakan respon peradangan, yang penting dalam berbagai kondisi medis yang melibatkan proses inflamasi yang berlebihan.⁵⁷⁻⁶¹

b. Efek Regeneratif

Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs), yang terdiri dari sejumlah faktor seperti protein, peptida, dan eksosom, memiliki kemampuan unik untuk merangsang pertumbuhan sel serta mengatur diferensiasi sel-sel punca mesenkimal yang berada di dekat dengan sel target. Ini membantu dalam mempromosikan penyembuhan jaringan dan regenerasi. Faktor-faktor yang terkandung dalam SH-MSCs, seperti faktor pertumbuhan dan sitokin, memfasilitasi proliferasi sel serta proses diferensiasi yang diperlukan untuk memperbaiki dan memperbarui jaringan. Hal ini menawarkan potensi yang signifikan dalam perbaikan kerusakan jaringan, pemulihan cedera, serta mendukung proses regenerasi di berbagai kondisi medis yang membutuhkan regenerasi atau perbaikan jaringan.^{62,63}

c. Efek Angiogenesis

Sejumlah komponen dalam *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) memiliki kemampuan untuk merangsang pembentukan pembuluh darah baru, proses yang krusial dalam menyediakan suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan yang rusak. Faktor-faktor seperti *Vaskular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin dapat memainkan peran penting dalam proses angiogenesis, mempromosikan pertumbuhan pembuluh darah baru yang mendukung pemulihan jaringan. Dengan memicu perkembangan jaringan vaskular baru, *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) memberikan potensi terapi yang signifikan dalam menyokong perbaikan jaringan, mempercepat pemulihan cedera, dan memperkuat regenerasi di lingkungan yang membutuhkan penyediaan sumber daya vital ke jaringan yang rusak.^{64,65}

d. Efek Imunomodulasi

Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) memiliki kemampuan untuk mengontrol respons imun tubuh dengan mengatur aktivitas sel-sel imun seperti sel T dan sel-sel kekebalan tubuh lainnya. Faktor-faktor yang terdapat dalam SH-MSCs, seperti *sitokin* dan *interleukin*, memiliki peran dalam modulasi aktivitas sel-sel imun. Mereka dapat mempengaruhi diferensiasi sel-sel imun, meredakan reaksi inflamasi berlebihan, dan menyeimbangkan respon kekebalan tubuh. Melalui kemampuannya dalam mengatur interaksi antara sel-sel

kekebalan tubuh, secretome menawarkan potensi dalam meredakan peradangan berlebihan, menyokong respon imun yang seimbang, serta bermanfaat dalam pengobatan kondisi medis yang melibatkan disfungsi sistem kekebalan tubuh.⁵⁹⁻⁶¹

2.5. Pengaruh SH-MSCs terhadap IL-6 dan CD68

Pemberian SH-MSCs memiliki pengaruh yang signifikan terhadap IL-6 dan CD68 dalam tubuh. SH-MSCs mengandung sejumlah faktor yang dapat memengaruhi perilaku sel-sel imun, khususnya CD68 dan regulasi IL-6, memiliki dampak penting dalam respon inflamasi dan imun tubuh.⁵⁶

Interleukin 6 (IL-6), sitokin pro-inflamasi, terlibat dalam regulasi respons imun dan merupakan target yang penting dalam pengobatan kondisi inflamasi.⁴⁵ Pemberian SH-MSCs telah terbukti mengurangi produksi IL-6 dalam beberapa studi, mengimbangi respon inflamasi tubuh. Faktor-faktor dalam *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) memainkan peran dalam menekan sekresi IL-6, sehingga mengontrol peradangan berlebihan.¹¹

Macrophage type-1 yang dikenal sebagai sel pro-inflamasi, biasanya memiliki respons pro-inflamasi yang kuat. SH-MSCs mampu mengubah *Macrophage type-1* ke arah fenotip yang lebih anti-inflamasi. Faktor-faktor dalam SH-MSC, seperti interleukin-10 (IL-10) dan *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF- β), dapat memodulasi aktivitas makrofag. Ini memungkinkan peralihan dari makrofag pro-inflamasi ke *Macrophage type-*

2 yang memiliki sifat anti-inflamasi, memperbaiki respons imun tubuh secara keseluruhan.¹²

Selain itu, pemberian SH-MSCs juga dapat menghambat aktivasi dan proliferasi makrofag. Faktor-faktor tertentu dalam SH-MSCs mampu menghambat transformasi makrofag menjadi bentuk yang lebih pro-inflamasi, mengurangi respons imun berlebihan yang sering terjadi dalam kondisi patologis.

Dengan pengaruhnya terhadap IL-6 dan CD-68, SH-MSCs memberikan potensi dalam terapi anti-inflamasi. Mengubah respons sel-sel imun utama seperti makrofag, serta mengatur sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, menunjukkan SH-MSCs sebagai agen yang menjanjikan dalam pengendalian kondisi inflamasi dan penyakit autoimun. Namun, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memahami mekanisme interaksi antara SH-MSCs dan sel-sel imun secara lebih mendalam, serta untuk menerjemahkan penemuan ini ke dalam terapi klinis yang efektif.¹²

BAB III

KERANGKA TEORI, KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Sindroma Metabolik terbukti berkaitan dengan terjadinya berbagai tingkat peradangan secara molekuler. Komponen sindrom metabolik saling terkait dan kompleks yang melibatkan obesitas dan resistensi insulin sebagai faktor utama.⁴⁸ Obesitas dikaitkan dengan peradangan tingkat rendah yang dapat menyebabkan resistensi insulin, defisiensi insulin, dan gangguan metabolik.⁵⁹ Resistensi insulin merupakan respons fisiologis yang berubah terhadap stimulasi insulin pada jaringan target, seperti hati, otot, dan jaringan adiposa.⁶² Resistensi tersebut menghambat metabolisme glukosa, sehingga menyebabkan hipertrofi sel beta, peningkatan produksi insulin sel beta, dan pada akhirnya menyebabkan kondisi hyperinsulinemia^{61,63}

Metabolisme lipid sangat penting untuk etiologi resistensi insulin dan perkembangan sindrom metabolik selanjutnya.⁶⁴ Perubahan lipid juga berkontribusi pada kriteria diagnostik untuk sindrom metabolik.⁶³ Gangguan lipid ini ditandai dengan peningkatan sintesis lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL), penurunan kapasitas lipolitik plasma, dan peningkatan aktivitas protein transfer ester kolesterol.⁶⁵

Resistensi insulin dapat menimbulkan akumulasi berlebihan jaringan adiposa, terutama disekitar perut yang memicu peningkatan dan ketidakseimbangan konsentrasi ROS. Peningkatan kadar ROS akan memicu aktivasi jalur AKT yang berujung pada peningkatan produksi HIF-1 α yang

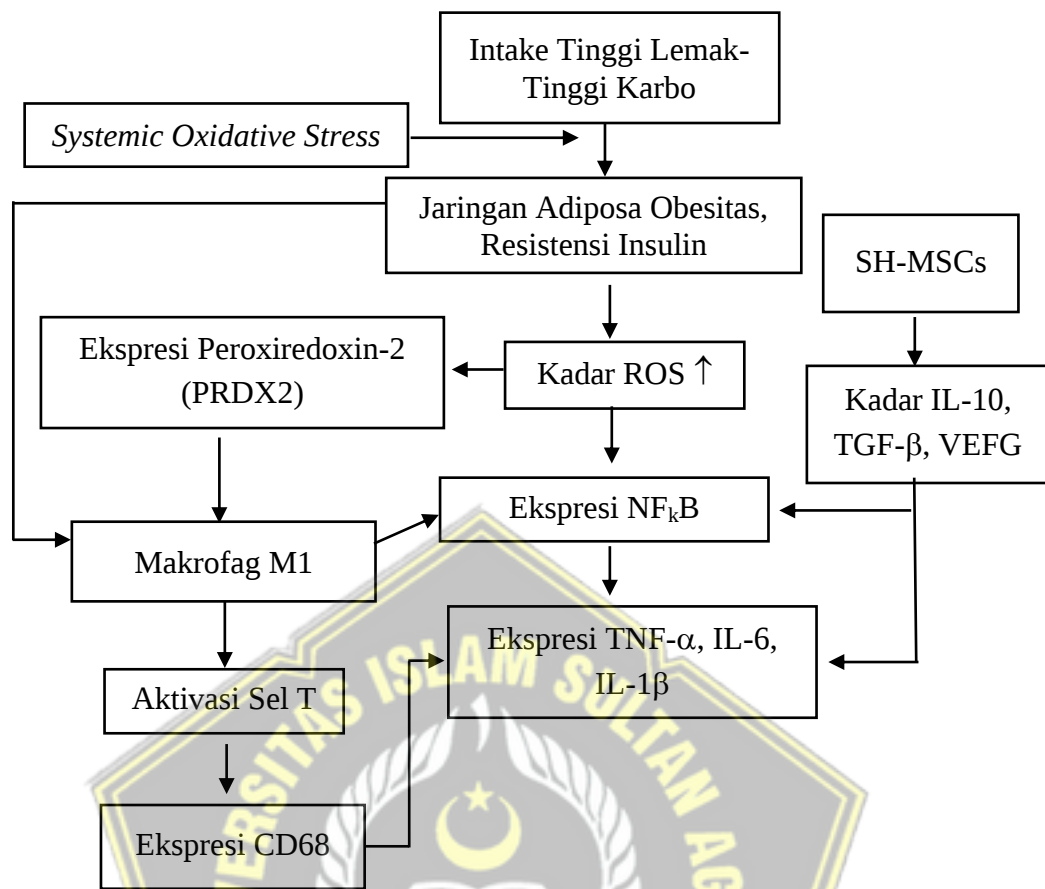
turut berperan dalam respons peradangan melalui aktivasi NF- κ B dan memicu pelepasan sitokin-sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-6. HIF-1 α juga dapat berinteraksi dengan elemen respons hipoksia (HRE) pada gen IL-6, memungkinkan transkripsi gen-gen yang mengarah pada peningkatan produksi IL-6.

Produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) diregulasi secara ketat melalui mekanisme *sensing* dan *redox signaling* yang dipengaruhi oleh sumber ROS, jenis sel, dan lingkungan jaringan yang terlibat dalam proses fisiologis normal atau respon maladaptif akibat disfungsi metabolik dan signal inflamasi.^{66,67} Selain itu peningkatan kadar ROS secara langsung dapat mendegradasi DNA dan memicu aktivasi NF- κ B dan menambah produksi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6. Produksi berlebih IL-6 dapat memicu perubahan arah pada makrofag menjadi M1 yang mengekspresikan CD-68 yang menandakan sifat pro-inflamasi dan memperburuk kondisi peradangan.⁶⁹

Produksi ROS yang berlebihan menghasilkan lingkungan stress oksidatif, yang juga mengganggu *signal* dan *redox control* sehingga menyebabkan efek buruk pada ekspresi gen, meningkatkan faktor pertumbuhan elemen respons stres, dan mengaktifkan jalur apoptosis.^{66,67} Gangguan *redox signaling* juga mendorong jalur pro-inflamasi dan pro-fibrotik yang mempengaruhi sinyal metabolisme insulin, disfungsi endotel, serta mendorong peradangan dan fibrosis pada ginjal dan kardiovaskular yang kemudian mengakibatkan kerusakan organ target.^{66,80}

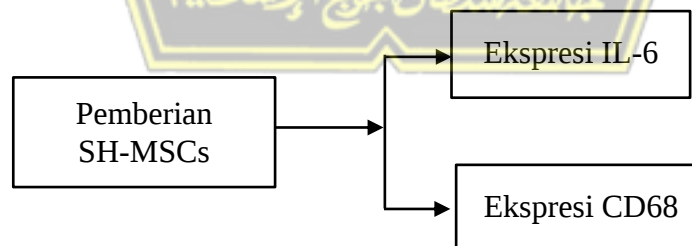
Pemberian SH-MSCs memiliki pengaruh yang signifikan terhadap IL-6 dan CD68 dalam tubuh. SH-MSCs mengandung sejumlah faktor yang dapat memengaruhi perilaku sel-sel imun, khususnya CD68 dan regulasi IL-6, memiliki dampak penting dalam respon inflamasi dan imun tubuh.⁵⁶

Interleukin 6 (IL-6), sitokin pro-inflamasi, terlibat dalam regulasi respons imun dan merupakan target yang penting dalam pengobatan kondisi inflamasi.⁹⁴ Pemberian SH-MSCs telah terbukti mengurangi produksi IL-6 dalam beberapa studi, mengimbangi respon inflamasi tubuh. Faktor-faktor dalam *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) memainkan peran dalam menekan sekresi IL-6, sehingga mengontrol peradangan berlebihan.⁹⁷ Selain itu, pemberian SH-MSCs juga dapat menghambat aktivasi dan proliferasi makrofag. Faktor-faktor dalam SH-MSCs, seperti interleukin-10 (IL-10) dan *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF- β), dapat memodulasi aktivitas makrofag, mengurangi respons imun berlebihan yang sering terjadi dalam kondisi patologis. Ini memungkinkan peralihan dari makrofag pro-inflamasi ke *Macrophage type- 2* yang memiliki sifat anti-inflamasi, memperbaiki respons imun tubuh secara keseluruhan.¹² Kandungan faktor seperti *Vaskular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan Angiopoietin dalam SH-MSCs memainkan peran penting dalam proses angiogenesis, mempromosikan pertumbuhan pembuluh darah baru yang mendukung pemulihan jaringan. Dengan pengaruhnya terhadap IL-6 dan CD-68, SH-MSCs memberikan potensi dalam terapi anti-inflamasi.^{35,36}



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Ada pengaruh pemberian SH-MSCs dengan variasi dosis 150 μ L dan 300 μ L terhadap Ekspresi Gen *interleukin 6* (IL-6) dan CD68 pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Sindroma Metabolik.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in vivo* dengan menggunakan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan 5 (lima) kelompok, yang terbagi menjadi 3 kelompok, yaitu kelompok sehat (K1), kelompok kontrol yaitu kontrol negatif dan positif (K2 dan K3), dan 2 kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda (K4 dan K5). Data diukur setelah intervensi.



Gambar 4.1. Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S : Subjek
- A : Adaptasi
- I : Induksi
- V : Validasi
- R : Randomisasi

K1 : Kelompok Sehat, tikus diberi pakan dengan diet normal selama 4 minggu dan tidak mendapatkan pemberian atau perlakuan apapun setelahnya.

K2 : Kelompok Kontrol Negatif, tikus diberi pakan tinggi lemak tinggi glukosa selama 4 minggu dan tidak mendapatkan pemberian atau perlakuan apapun setelahnya.

K3 : Kelompok Kontrol Positif, tikus diberi pakan tinggi lemak tinggi glukosa selama 4 minggu dan setelahnya mendapatkan pemberian *per oral* Fenofibrate 1,65 mg/hari/ekor tikus selama 4 kali dalam 14 hari yaitu pada hari ke 1, 4, 7 dan 10.

K4 : Kelompok Perlakuan 1, tikus diberi pakan tinggi lemak tinggi glukosa selama 4 minggu dan setelahnya mendapatkan pemberian SH-MSCs secara *intra vena* dengan dosis 150 uL/ ekor tikus selama 4 kali dalam 14 hari yaitu pada hari ke 1, 4, 7 dan 10.

K5 : Kelompok Perlakuan 2, tikus diberi pakan tinggi lemak tinggi glukosa selama 4 minggu dan setelahnya mendapatkan pemberian SH-MSCs secara *intra vena* dengan dosis 300 uL/ ekor tikus selama 4 kali dalam 14 hari yaitu pada hari ke 1, 4, 7 dan 10.

O : Observasi

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Populasi

Sampel dalam penelitian ini menggunakan tikus galur wistar jantan berusia 8 minggu dengan berat badan $\pm$ 200 gram dipilih

secara *purposive sampling* berdasarkan karakteristik yang telah diketahui sebelumnya.

4.2.2. Sampel Penelitian

Besar sampel dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus Federer yaitu:

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

$$(n-1)3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6 \text{ ekor}$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok perlakuan

n : besar sampel setiap kelompok perlakuan

Berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer didapatkan besar sampel minimal 6 ekor. Jadi total sampel yang digunakan dalam penelitian adalah sebanyak 30 ekor tikus.

4.2.2.1. Kriteria Inklusi

1. Tikus galur Wistar jantan (*Rattus norvegicus*),
2. Usia 8-12 minggu untuk memastikan bahwa tikus berada dalam tahap perkembangan metabolisme yang optimal dan berat badan dalam rentang 150-250 gram untuk memastikan keseragaman metabolisme.

3. Tikus yang telah menerima diet tinggi lemak dan glukosa selama 4 minggu untuk menginduksi kondisi sindrom metabolik.
4. Mengalami Sindroma Metabolik atau memiliki tanda-tanda resistensi insulin dan inflamasi, yang dikonfirmasi melalui parameter biokimia atau klinis
5. Memiliki *Indeks Lee* lebih dari 300.
6. Tikus menerima intervensi dengan secretome SH-MSCs dalam dosis yang telah ditentukan (150 μ L atau 300 μ L).
7. Tikus yang menerima kontrol positif (misalnya, fenofibrat) untuk perbandingan terapi.
8. Tikus dengan sampel jaringan adiposa visceral yang cukup untuk analisis RT-PCR ekspresi IL-6 dan CD68.
9. Tidak memiliki kelainan fisik atau infeksi yang dapat mengganggu hasil penelitian.

4.2.2.2. Kriteria Ekslusi

1. Memiliki berat badan terlalu rendah atau terlalu tinggi diluar rentang yang telah ditentukan.
2. Usia tikus tidak sesuai
3. Memiliki kelainan kongenital atau cacat fisik yang dapat mempengaruhi metabolisme dan respons terhadap intervensi.

4. Tidak mengalami Sindroma metabolic setelah periode induksi, karena hal ini akan mengganggu interpretasi data terhadap efek SH-MSCs.
5. Tikus mengalami infeksi atau penyakit akut selama masa penelitian, karena dapat menyebabkan respons imun yang tidak terkait dengan penelitian utama.
6. Tikus yang mengalami stres berlebihan atau cedera, yang dapat mengubah regulasi sistem imun dan metabolisme.
7. Tikus dengan gangguan metabolik lain yang tidak terkait dengan sindrom metabolik (misalnya, kelainan genetik yang memengaruhi metabolisme glukosa atau lipid).
8. Tikus yang menunjukkan resistensi terhadap prosedur pemberian injeksi SH-MSCs atau mengalami komplikasi akibat injeksi.
9. Tikus yang mengalami kematian sebelum pengambilan sampel, sehingga data mereka tidak dapat digunakan dalam analisis.

4.3. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di *Laboratorium Stem Cell and Cancer Research (SCCR)* pada bulan Desember 2024- Januari 2025.

4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Pemberian SH-MSCs

2. Variabel Terikat

Ekspresi gen *Interleukin 6* (IL-6) dan CD68

3. Variabel Prekondisi

Induksi pakan tinggi lemak tinggi glukosa

4.4.2. Definisi Operasional

Tabel 4. 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Skala
SH-MSCs	SH-MSCs adalah protein soluble molekul yang mengandung factor IL-10, VEGF dan TGF- β . Diperoleh dari medium kultur sekresi MSC Umbilical Cord (karakteristik ekspresi CD73, CD90 dan CD105 serta tidak mengekspresikan CD13, CD14, CD16, CD21 pada suhu 37°C pada kondisi 5% O ₂ selama 24 jam.	Ordinal
Ekspresi gen <i>Interleukin 6</i> (IL-6)	<i>Interleukin 6</i> (IL-6) adalah ekspresi sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh sejumlah jenis sel, terutama sel-sel makrofag, monosit, dan sel dendritik, sebagai respons terhadap inflamasi kronis, obesitas, stress fisiologis dan infeksi akut. Dari sampel jaringan lemak dan dianalisis dengan metode RT-PCR (<i>Real Time – Polymerite Chain Reaction</i>)	Rasio
Ekspresi gen CD 68	CD 68 adalah protein penanda inflamasi dan aktivasi makrofag pada permukaan sel dan memfasilitasi fagositosis. Analisa Ekspresi CD 68 dihitung dari sampel jaringan lemak dengan metode RT-PCR (<i>Real Time – Polymerite Chain Reaction</i>)	Rasio

4.5. Bahan Penelitian

Bahan utama pada penelitian ini yaitu hewan coba model sindroma metabolik, jenis yang digunakan adalah tikus jantan galur Wistar dewasa sehat yang berusia 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram. Tikus jantan galur wistar diperoleh dari *Animal Model Research Center SCCR Semarang* sebanyak 30 ekor. Bahan kultur yang terbuat dari tali pusat tikus, Fenofibrate, NaCl 0,9 %, PBS tanpa Ca dan Mg, DMEM *low glucose*, FBS, fungizone, reagen buffer, primer spesifik gen IL-6 dan CD68.

4.6. Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan yang digunakan dalam beberapa kegiatan seperti : alat yang digunakan untuk membuat hewan model antara lain berupa sonde/ spuiter untuk memberi makan tinggi lemak-tinggi glukosa, pisau cukur, kandang paparan, kandang pemeliharaan, tempat air minum tikus, tabung *Eppendorf*, timbangan tikus "*Daihan Scientific*", Pinset chirurgic, dan gunting kecil. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data adalah sarung tangan, kapas, counter, vacutainer, tabung hematokrit, centrifuge/ Microcentrifuge, mikropipet 1000 uL mikropipet tip, dan vial tube 1,5 mL. Alat yang digunakan untuk analisis data antara lain microplate reader, mikroskop, *staining jar*, *coated desk glass*, *cover glass*, μ plate, Spektrofotometer *Multiscan SkyHigh*, Instrumen RT-PCR dan laptop.

4.7. Cara Induksi Sindrom Metabolik pada Tikus

Induksi Sindrom Metabolik pada Tikus dilakukan dengan diet tinggi lemak tinggi glukosa diberikan melalui pakan yang terdiri dari pakan standar 50%, tepung terigu 25%, lemak kambing 10%, minyak babi 8-9%, kuning telur 5%, minyak kelapa 1%, NaCl 0,9 %, dan larutan glukosa 20%. Diet ini diberikan selama 4 minggu (28 hari). Diet tinggi lemak tinggi glukosa diberikan *ad libitum* 20 g per tikus/hari dalam bentuk blok palet. Evaluasi berat badan tikus dilakukan tiap 7 hari dengan penimbangan berat badan tikus.

4.8. Cara Pengukuran Indeks Lee

Setelah 4 minggu, tikus ditimbang dan diukur untuk menghitung Indeks Lee. Dikatakan mengalami sindroma metabolik jika Indeks Lee lebih dari 300, dan terjadi peningkatan profil lemak dan gula darah puasa. Indeks Lee dilakukan dengan cara mengukur *naso-anal length* atau Panjang badan dan berat badan pada Tikus dengan rumus perhitungan yaitu : berat badan (gram) $\frac{1}{3} \times 1000 / \text{Panjang naso-anal tikus (cm)}$.

Tikus dengan hasil perhitungan indeks Lee lebih dari 300 dianggap mengalami obesitas.¹¹¹

4.9. Pemberian SH-MSCs

Dosis SH-MSCs yang diberikan pada kelompok perlakuan adalah 150 μL /ekor tikus pada kelompok perlakuan K4 dan 300 μL /ekor tikus pada kelompok perlakuan K5 selama 4 kali dalam 14 hari yaitu yang diberikan pada hari ke 1, 4, 7 dan 10 secara *Intra vena*.³⁵

4.10. Cara Kerja Penelitian

4.10.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.10.2. Cara Kerja Penelitian

Sebanyak 30 ekor tikus dibagi menjadi 5 perlakuan secara acak lengkap sebagai berikut:

K1 : pemberian diet normal, selanjutnya tidak mendapatkan apapun/ tanpa pemberian intervensi lanjutan.

K2 : pemberian diet tinggi lemak tinggi glukosa, selanjutnya tidak mendapatkan apapun/ tanpa pemberian intervensi lanjutan

K3 : pemberian diet tinggi lemak tinggi glukosa, dengan pemberian Fenofibrate 1,65 mg/ekor / hari pada hari ke 1, 4, 7 dan 10 secara *oral*.

K4 : pemberian diet tinggi lemak tinggi glukosa, dengan pemberian SH-MSCs dengan dosis 150 μ L/ ekor/ hari pada hari ke 1, 4, 7 dan 10 secara *intra vena*.

K5 : pemberian diet tinggi lemak tinggi glukosa, dengan pemberian SH-MSCs dengan dosis 300 μ L/ ekor/ hari pada hari ke 1, 4, 7 dan 10 secara *intra vena*.

Hari ke 15 tikus diterminasi menggunakan inhalasi CO₂ dosis lethal dan diambil sampelnya berupa jaringan lemak

peritoneum untuk dilakukan pemeriksaan ekspresi gen IL-6 dan CD68.

4.10.3. Cara Pengukuran Trigliserida

Pengukuran kadar trigliserida digunakan sebagai validasi tikus yang telah mengalami peningkatan trigliserida yang berkorelasi terhadap sindrom metabolik.⁴⁹ Pengukuran trigliserida dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Siapkan blanko, standar, dan sampel serum darah tikus.
2. Masukkan reagent trigliserida hingga 1000 μ l ke dalam tiga tabung reaksi, masing-masing berisi 1000 μ l.
3. Masukkan standar trigliserida hingga 10 μ l ke dalam tabung yang sudah berisi 1000 μ l reagen trigliserida.
4. Masukkan serum hingga 10 μ l ke dalam reagen trigliserida.
5. Inkubasi selama sepuluh menit pada suhu 37°C.
6. Dalam 60 menit, baca hasil menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

4.10.4. Cara Pemeriksaan *High-Density Lipoprotein* (HDL)

Peningkatan HDL diketahui menjadi salah satu penanda terjadinya sindrom metabolik sehingga pengukuran ini perlu untuk dilakukan analisis. Analisis HDL dilakukan dengan cara sebagai berikut:

1. Pembuatan *working reagent*: siapkan satu botol kosong untuk menggabungkan empat bagian reagen kolesterol hingga 4000 μ l dan 1000 μ l aquadest pada satu bagian.
2. Pembuatan *supernatant*: tabung pertama biasanya digunakan, berisi *working reagent* sebanyak 500 μ l, dan tabung kedua berisi sampel, dimasukkan 200 μ l serum, dan kemudian dihomogenkan.
3. Inkubasi selama sepuluh menit pada suhu 20-25 °C dan sentrifugasi selama sepuluh menit pada 4000 rpm.
4. Prosedur kerja analisis kolesterol HDL: berikan tiga tabung, kemudian masukkan larutan supernatant standar sebanyak 100 mililiter, larutan supernatant sampel sebanyak 100 mililiter, dan tabung blanko, supernatant sampel, dan reagent kerja masing-masing sebanyak 1000 mililiter.
5. Inkubasi selama sepuluh menit pada suhu 37°C.
6. Baca hasil menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

4.10.5. Cara Pemeriksaan *Low-Density Lipoprotein* (LDL)

1. Siapkan blanko, standar, dan sampel serum darah tikus.
2. Masukkan reagent LDL hingga 1000 μ l ke dalam tiga tabung reaksi, masing-masing berisi 1000 μ l.
3. Masukkan standar LDL hingga 10 μ l ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi 1000 μ l reagent LDL.

4. Masukkan serum hingga 10 μ l ke dalam reagent LDL. Inkubasi selama sepuluh menit pada suhu 37 °C.
5. Baca hasil menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm.

4.10.6. Cara Pemeriksaan Tikus Galur Wistar Jantan Menggunakan RT-PCR

1. Ambil 100 mg sampel lemak, potong kecil, dan masukkan ke dalam tabung yang sudah berisi 50 mL RNA Iso Plus.
2. Hancurkan potongan lemak dengan micropastle, tambahkan 50 mL RNA Iso Plus, dan biarkan selama 5 menit pada suhu ruang.
3. Tambahkan 20 mL chloroform dan aduk hingga larutan menjadi berwarna putih susu.
4. Inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 menit, lalu sentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C. Hasilnya adalah tiga lapisan dalam tabung: lapisan atas berisi RNA (fase cair), lapisan kedua berisi DNA (fase setengah padat), dan lapisan bawah berisi debris sel.
5. Alihkan lapisan paling atas (RNA) ke tabung *sentrifuge* baru, ukur volumenya, dan tambahkan isopropanol dengan volume yang sama dengan RNA yang diambil dari lapisan atas.
6. Lakukan gerakan menggoyang tabung campuran hingga muncul benang-benang putih, lalu sentrifugasi pada 15.000 rpm

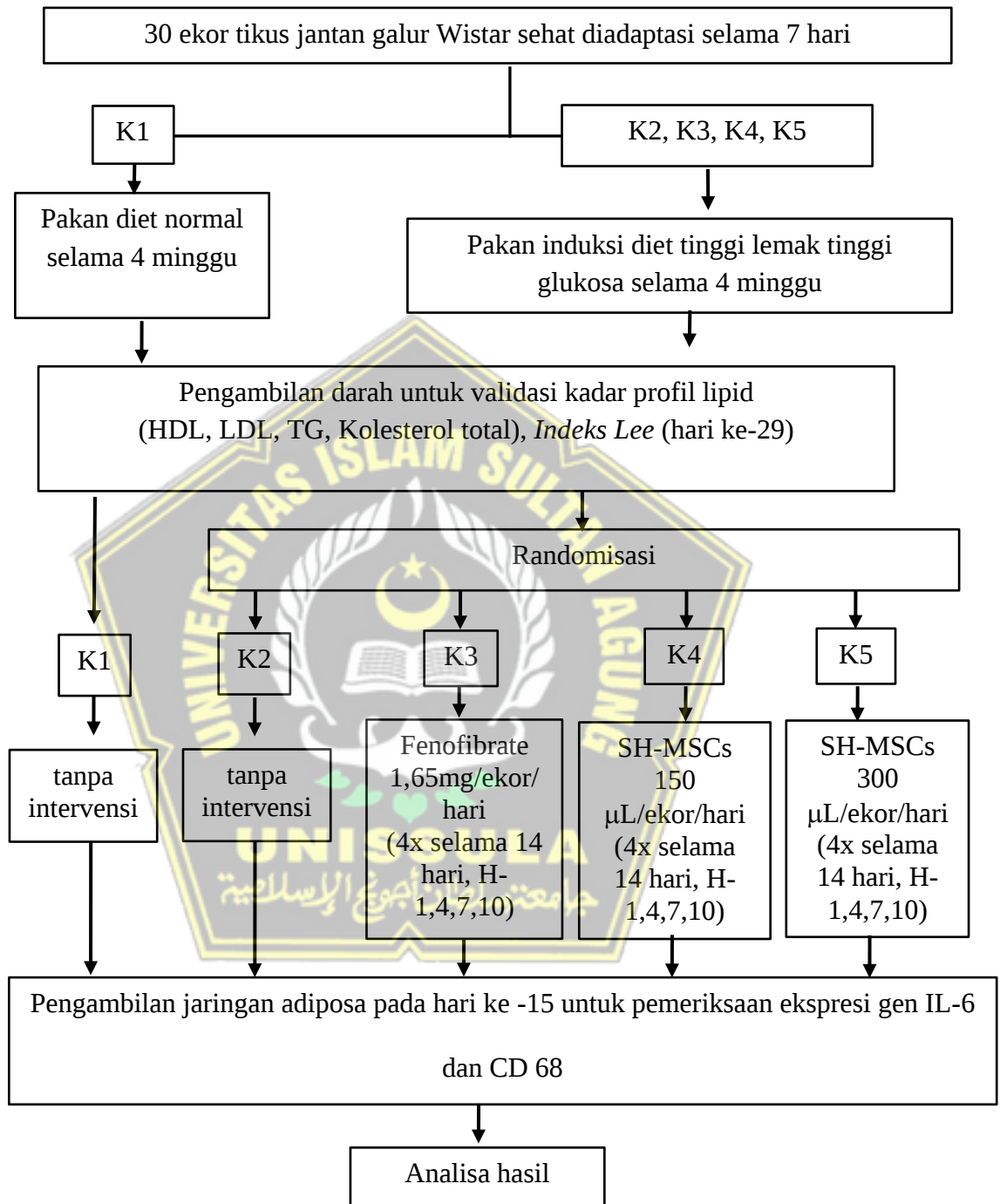
selama 10 menit pada suhu 40°C. Buang supernatant hingga pellet berwarna putih terlihat di dasar tabung.

7. Setelah pengeringan, tambahkan 100 mL etanol 70% dalam larutan DEPC (*Diethyl pyrocarbonate*) dan lakukan pengadukan ulang, lalu sentrifugasi lagi pada 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 40°C.
8. Buang supernatant dan tambahkan DEPC sebanyak 30-50 µm. Campuran diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Hasilnya adalah total RNA solution yang disimpan pada suhu -80°C. Kuantifikasi RNA dilakukan menggunakan Nanodrop, dengan target 3000 ng.
9. Sintesis cDNA dimulai dengan mencampur sampel RNA yang sudah dikuantifikasi, 1 µL Oligo(dT), dan PCR water hingga mencapai volume 10 µL, lalu diinkubasi selama 5 menit pada suhu 70°C.
10. Campuran A dicampur dengan campuran B yang terdiri dari 5X buffer (4 µL), DEPC-Treated H₂O (5 µL), dan ReverTraAce (1 µL). Campuran ini diinkubasi pada suhu tertentu (25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit, dan 85°C selama 5 menit) untuk menghasilkan cDNA.

4.10.7. Pembacaan ekspresi gen IL-6 dan CD68 dengan Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

1. Ekspresi gen IL-6 dan CD68 dievaluasi melalui metode *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).
2. Dalam reaksi PCR, digunakan campuran yang terdiri dari 3 μL cDNA sampel, 12,5 μL Taq master mix yang mencakup dNTPs, Taq DNA *polymerase*, *reaction buffer*, dan MgCl_2 , 0,6 μL primer spesifik untuk masing-masing gen target (*primer forward* dan *reverse*), dan 8,3 μL *Nuclease Free Water*.
3. Primer yang digunakan untuk gen IL-6 adalah F: 5'-CTGTCACGGAGACCAATGTGG-3' dan R: 5'-AAGGCGTAGCTGAACAAGGTG-3'. Sedangkan primer yang digunakan untuk gen CD68 adalah F: 5'-CTGCTGAGGAGGATTGTCCAC-3' dan R: 5'-CACAACAGCAAGGAGGTGA-3'.
4. Produk PCR kemudian dianalisis menggunakan metode qRT-PCR Illumina.
5. Peningkatan ekspresi gen dievaluasi dengan menghitung rasio peningkatan terhadap gen *housekeeping*, dan data ini dianalisis menggunakan perangkat lunak EcoStudy.

4.11. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

4.12. Analisis Data

Data yang diperoleh dari eksperimen ini diuji deskriptif menggunakan skala data rasio. Analisis normalitas dan variasi data dikerjakan dengan uji Shapiro Wilk dan Levene's Test dan dilanjutkan uji beda menggunakan uji One Way Anova dengan Post Hoc LSD. Analisis data dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS 26.0 for Windows.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

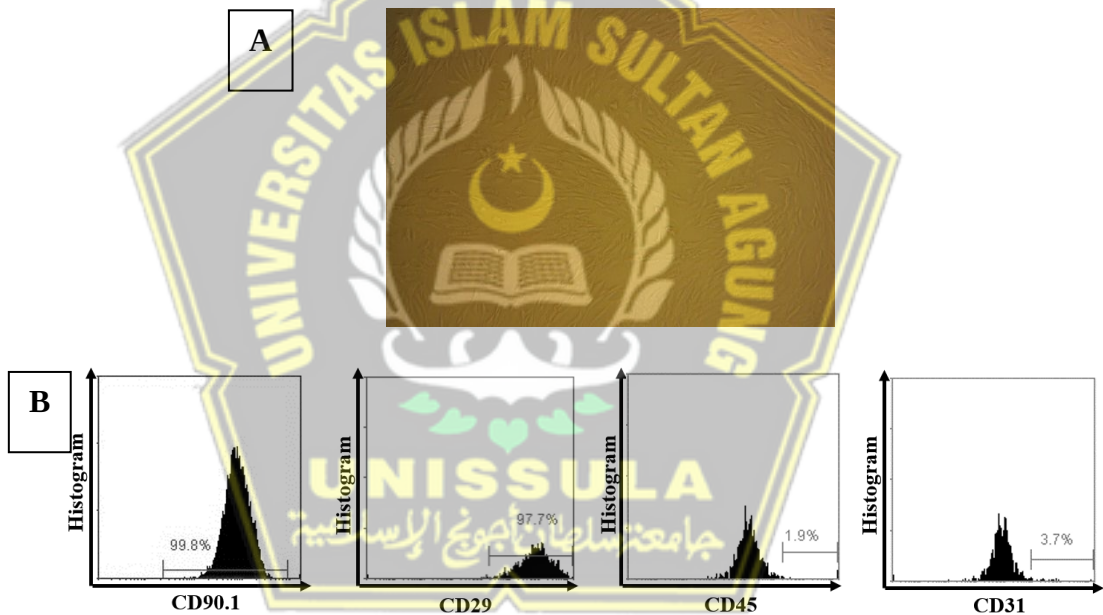
5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Hasil Validasi SH-MSC

Mesenchymal stem cells (MSCs) diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia, Semarang, dengan menggunakan tali pusat tikus sebagai sumber pada usia kehamilan 21 hari. Setelah proses isolasi, sel-sel dikultur dalam flask kultur yang berisi media DMEM. Pada pasase kelima, pengamatan morfologi dilakukan menggunakan mikroskop. Hasil analisis menunjukkan bahwa sel-sel tersebut memiliki karakteristik khas MSCs, yaitu bentuk menyerupai spindle (fusiform) dan kecenderungan untuk melekat pada permukaan flask kultur. Selain itu, MSC secara morfologi ditandai dengan pertumbuhan yang homogen dalam kultur, menunjukkan keseragaman ukuran dan orientasi sel, yang menjadi indikasi stabilitas seluler dalam kondisi kultur (Gambar 5.1A).

Berdasarkan analisis morfologi, sel yang dikultur menunjukkan karakteristik khas MSCs. Namun, validasi lebih lanjut dilakukan menggunakan metode flowcytometry untuk memastikan ekspresi spesifik marker permukaan sel. Flowcytometry digunakan untuk mengidentifikasi dan mengukur ekspresi protein tertentu pada permukaan sel, yang penting untuk memastikan identitas MSCs. Analisis ini mengevaluasi ekspresi marker seperti CD90, CD29,

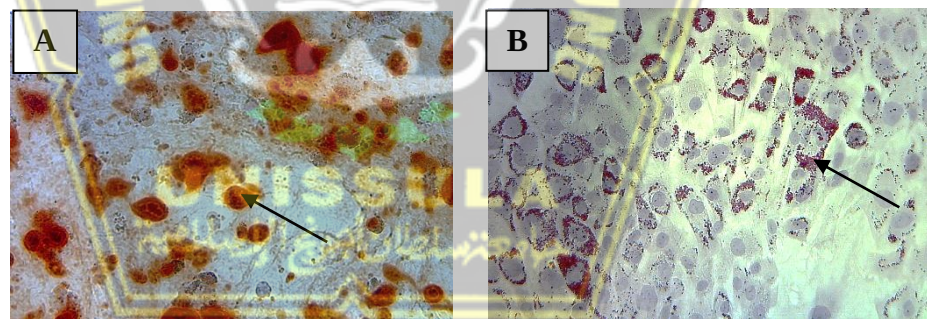
CD45, dan CD31 pada sel yang dikultur. Hasil analisis menunjukkan bahwa sel-sel tersebut secara dominan mengekspresikan CD90 (99,50%) dan CD29 (96,10%), yang merupakan marker positif MSC, sementara hanya sedikit mengekspresikan CD45 (1,30%) dan CD31 (6,60%), yang merupakan marker negatif MSC (Gambar 5.1B). Hal ini mengonfirmasi bahwa sel yang dikultur sesuai dengan karakteristik MSC berdasarkan profil surface marker.



Gambar 5.1. Morfologi MSCs. (A) morfologi MSCs berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31.

Setelah tervalidasi menggunakan metode flowcytometri, syarat International Society of Cell Therapy (ISCT), MSCs harus mampu melakukan diferensiasi menjadi jenis sel lainnya. Oleh karena itu, sel diinduksi untuk bisa mengetahui kemampuan diferensiasi menjadi sel lain. Pada penelitian ini memverifikasi kemampuan

diferensiasi MSCs menjadi berbagai jenis sel dewasa, seperti osteosit dan adiposit, dengan memberikan medium spesifik yang dirancang untuk menginduksi proses diferensiasi tersebut. Validasi kemampuan diferensiasi ini penting untuk mengonfirmasi potensi multipoten MSCs, yang merupakan salah satu karakteristik utama sel punca. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MSCs berhasil berdiferensiasi menjadi osteosit, yang ditandai dengan pewarnaan positif menggunakan Alizarin Red, serta adiposit, yang ditunjukkan oleh pewarnaan dengan Oil Red O. Hal ini membuktikan bahwa MSCs memiliki kapasitas untuk berkembang menjadi tipe sel fungsional tertentu di bawah kondisi yang sesuai. (Gambar 5.2 A dan B).



Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B) Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x).

MSCs kemudian diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box hipoksia. Setelah itu, medium kultur MSCs yang mengandung sekretom MSCs dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 10-100 kDa sehingga dapat diperoleh SH-MSCs.

5.1.2. Hasil Validasi Sindroma Metabolik

Validasi pembentukan model syndrome metabolik pada tikus dilakukan mengukur HDL, LDL, TG, Kolesterol total dan *Indeks Lee* pada hari ke-29 dan didapatkan hasil seperti pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil Validasi Tikus Sindroma Metabolik

Parameter	Nilai Standar	Nilai Analisis
Kolesterol Total	10-54 mg/dL	73 mg/dL
HDL	35 mg/dL	28 mg/dL
LDL	75 mg/dL	112 mg/dL
TG	150 mg/dL	172 mg/dL
Index Lee	300	315

Setelah tikus tervalidasi mengalami Sindroma metabolik, tikus dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (tikus Sindroma metabolik tanpa intervensi), K3 (tikus Sindroma metabolik dengan terapi Fenofibrate 1,65mg/ekor/hari), K4 dan K5 (tikus Sindroma metabolik dengan injeksi SH-MSCs dengan dosis masing-masing 150 μ L/ekor/hari dan 300 μ L/ekor/hari secara intravena sebanyak 4 kali injeksi selama 14 hari, yang diberikan pada hari ke-1, 4, 7 dan 10).

Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-15. Sampel jaringan adiposit peritoneum tikus kemudian dihomogenisasi menggunakan trizole RNase inhibitor untuk menghambat kerusakan RNA yang diekstraksi. Setelah RNA didapatkan, analisis ekspresi IL-6 dan CD68 dilakukan mengguna RT-PCR.

5.1.3. Ekspresi IL-6 dan CD68

Hasil pembacaan ekspresi CD68 dan IL-6 pada lima kelompok perlakuan menunjukkan adanya variasi nilai rata-rata di setiap kelompok. Untuk ekspresi CD68, kelompok K1 memiliki nilai $1,06 \pm 0,01$, K2 sebesar $2,71 \pm 0,07$, K3 sebesar $1,76 \pm 0,11$, K4 sebesar $1,07 \pm 0,13$, dan K5 sebesar $0,85 \pm 0,05$. Kelompok K2 menunjukkan ekspresi tertinggi, sedangkan K5 memiliki ekspresi terendah. Kelompok K1 dan K4 memiliki nilai yang hampir sama, sementara K3 berada di antara K2 dan K1/K4.

Pada ekspresi IL-6, kelompok K1 memiliki nilai $1,06 \pm 0,01$, K2 sebesar $1,71 \pm 0,11$, K3 sebesar $1,70 \pm 0,16$, K4 sebesar $1,35 \pm 0,10$, dan K5 sebesar $0,54 \pm 0,11$. Kelompok K2 menunjukkan ekspresi tertinggi, diikuti K3, sementara K5 memiliki ekspresi terendah. Nilai K1 dan K4 berada di tengah, dengan K4 sedikit lebih tinggi dari K1.

Analisis statistik menunjukkan bahwa data dari kedua parameter memiliki sebaran normal berdasarkan uji Shapiro-Wilk. Hasil uji homogenitas menggunakan *Levene's Test* juga menyatakan data homogen ($P > 0,05$). Dengan demikian, data memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, memungkinkan analisis lebih lanjut menggunakan uji parametrik untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antar kelompok. Variasi ekspresi CD68 dan IL-6 ini

mencerminkan respons biologis yang berbeda terhadap perlakuan pada masing-masing kelompok. Data tersaji pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Analisis Statistik Data Ekspresi CD68 dan IL6

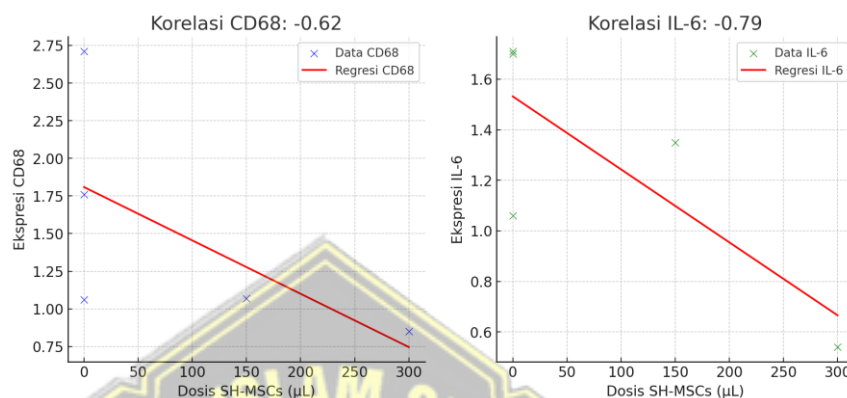
Variabel	Kelompok					P
	K1	K2	K3	K4	K5	
CD68	1,06	2,71	1,76	1,07	0,85	
Std. deviasi	0,01	0,07	0,11	0,13	0,05	
Shapiro Wilk						>0,05
Lavene test						>0,05
One Way Anova						<0,00
IL-6	1,06	1,71	1,70	1,35	0,54	
Std. deviasi	0,01	0,11	0,16	0,10	0,11	
Shapiro Wilk						>0,05
Lavene test						>0,05
One Way Anova						<0,00

Data yang dinyatakan signifikan pada analisis One Way Anova dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui hubungan antar kelompok perlakuan. Hasil analisis LSD ditampilkan pada table 5.3

Tabel 5.3. Hasil Analisis LSD Data Ekspresi CD68 dan IL6

Kelompok	Kelompok Perbandingan	CD68	IL-6
K1	K2	0,00	0,00
	K3	0,00	0,00
	K4	0,90	0,00
	K5	0,01	0,00
	K5	0,01	0,00
K2	K3	0,00	0,93
	K4	0,00	0,00
	K5	0,00	0,00
K3	K4	0,00	0,00
	K5	0,00	0,00
K4	K5	0,01	0,00

Hasil analisis uji LSD menemukan bahwa ekspresi CD68 dan IL-6 perlakuan K4 dan K5 secara signifikan berbeda dibandingkan dengan perlakuan K3 ($P < 0,05$).



Gambar 5.3. Gambar grafik Analisis korelasi dan regresi data CD68 dan IL-6

Dari gambar grafik diatas hasil analisis Korelasi antara dosis SH-MSCs dan ekspresi CD68 adalah sebesar -0.62, yang artinya korelasi negatif sedang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis SH-MSCs, semakin rendah ekspresi CD68. Ini menunjukkan bahwa SH-MSCs berperan dalam menekan jumlah makrofag proinflamasi (M1). Hasil analisis korelasi antara dosis SH-MSCs dan ekspresi IL-6 adalah sebesar -0.79, yang artinya ada korelasi negatif kuat, yang berarti semakin tinggi dosis SH-MSCs, semakin rendah ekspresi IL-6. Hasil ini menunjukkan bahwa SH-MSCs memiliki efek antiinflamasi yang signifikan dalam menekan produksi IL-6.

Interpretasi dari grafik Regresi adalah sebagai berikut, regresi CD68 (Garis Merah di Grafik Pertama) pola regresi menunjukkan penurunan ekspresi CD68 seiring peningkatan dosis SH-MSCs,

tetapi dengan variabilitas antar kelompok. Hasil ini mendukung bahwa SH-MSCs memodulasi makrofag, mengurangi inflamasi pada jaringan adiposa. Regresi IL-6 (Garis Merah di Grafik Kedua) menunjukkan penurunan IL-6 sangat tajam pada dosis 300 μ L, menunjukkan bahwa dosis tinggi SH-MSCs sangat efektif dalam menekan jalur inflamasi. Korelasi yang lebih kuat dibandingkan CD68 menunjukkan bahwa SH-MSCs lebih dominan dalam menghambat inflamasi melalui IL-6 daripada hanya memodulasi makrofag. Analisis ini membuktikan bahwa SH-MSCs secara signifikan menekan IL-6 dan CD68 dalam cara yang bergantung pada dosis. Efek antiinflamasi SH-MSCs lebih kuat terhadap IL-6 dibandingkan CD68, menunjukkan bahwa selain menekan makrofag M1, SH-MSCs juga mengatur ekspresi sitokin inflamasi langsung. Dosis 300 μ L memiliki efek paling signifikan, tetapi perlu dipastikan apakah efek ini tidak terlalu menekan respons imun secara keseluruhan.

5.2. Pembahasan

Penelitian ini menganalisis ekspresi CD68 dan IL-6 pada jaringan lemak tikus yang mengalami sindroma metabolik, dengan lima kelompok perlakuan berbeda. Kelompok K1, sebagai kontrol, merupakan tikus sehat dengan ekspresi CD68 ($1,06 \pm 0,01$) dan IL-6 ($1,06 \pm 0,01$). Kelompok K2, tikus dengan sindroma metabolik tanpa intervensi, menunjukkan peningkatan signifikan pada ekspresi CD68 ($2,71 \pm 0,07$) dan IL-6 ($1,71 \pm$

0,11). Hal ini mencerminkan kondisi inflamasi kronis yang sering terjadi pada sindroma metabolik, ditandai oleh peningkatan makrofag proinflamasi (M1) dan sitokin inflamasi, seperti IL-6, yang memicu kerusakan jaringan serta disfungsi metabolik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 pada kelompok K2 (Sindrom Metabolik tanpa intervensi) dan K3 (Sindrom Metabolik dengan Fenofibrat) memiliki nilai yang hampir sama (K2: $1,71 \pm 0,11$; K3: $1,70 \pm 0,16$). Ini menandakan bahwa pemberian Fenofibrat tidak memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan ekspresi IL-6 pada model sindrom metabolik dibandingkan dengan kelompok tanpa perlakuan (K2). Untuk memahami fenomena ini, berikut adalah analisis mendalam dari perspektif mekanisme biomolekuler, farmakologi, dan inflamasi. Fenofibrat adalah agonis PPAR- α (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha), yang bekerja dengan meningkatkan metabolisme lipid dan menurunkan trigliserida dan meningkatkan kadar HDL serta mengurangi akumulasi lipid dalam jaringan adiposa sehingga mencegah lipotoksisitas. Namun, PPAR- α memiliki efek terbatas terhadap jalur inflamasi sistemik, terutama pada jalur NF- κ B dan produksi sitokin inflamasi seperti IL-6. Fenofibrat tidak signifikan dalam menekan IL-6 karena lebih berfokus pada metabolisme lipid, bukan pada inflamasi langsung. Jalur PPAR- α tidak secara langsung menekan aktivasi NF- κ B, yang merupakan regulator utama IL-6 dalam inflamasi kronis. Sindrom metabolik pada K2 telah menyebabkan inflamasi sistemik yang tinggi, sehingga pengobatan dengan Fenofibrat tidak cukup kuat untuk

membalikkan efek inflamasi yang sudah berjalan. Berbeda dengan K4 dan K5 yang diberikan SH-MSCs yang mengandung IL-10 dan TGF- β , yang dapat mengubah makrofag M1 ke M2, sehingga ekspresi IL-6 turun drastis, hal inilah yang menjelaskan mengapa hanya kelompok K4 dan K5 yang berhasil menekan IL-6 secara signifikan, sedangkan K3 (yang mendapat Fenofibrat) tidak.

Kelompok K3, tikus sindroma metabolik yang menerima injeksi fenofibrat (1,65 mg/ ekor), menunjukkan penurunan ekspresi CD68 ($1,76 \pm 0,11$) dan IL-6 ($1,70 \pm 0,16$) dibandingkan K2. Fenofibrat, sebagai agonis PPAR- α , memiliki efek antiinflamasi yang mampu menekan aktivitas makrofag M1 dan produksi sitokin inflamasi seperti IL-6. Namun, penurunannya relatif terbatas, mengindikasikan bahwa fenofibrat terutama bekerja pada jalur metabolik lipid dengan efek antiinflamasi yang moderat.

Pada kelompok K4, tikus sindroma metabolik yang menerima injeksi secretome SH-MSCs (150 μ l/200 gBB), ekspresi CD68 ($1,07 \pm 0,13$) dan IL-6 ($1,35 \pm 0,10$) menunjukkan penurunan signifikan dibandingkan K2 dan K3. Secretome MSCs, yang kaya akan faktor imunomodulator seperti TGF- β , IL-10, dan prostaglandin E2 (PGE2), berperan penting dalam menghambat peradangan kronis. Secretome SH-MSCs diketahui mampu memicu polarisasi makrofag dari fenotipe proinflamasi M1 menjadi fenotipe antiinflamasi M2, yang ditandai dengan ekspresi penanda seperti CD163 dan IL-10. Polarisasi ini melibatkan berbagai jalur, termasuk aktivasi STAT3

dan peningkatan sinyal PPAR- γ , yang berkontribusi pada resolusi inflamasi dan perbaikan jaringan.¹¹²

Kelompok K5, tikus sindroma metabolik yang menerima dosis lebih tinggi secretome SH-MSCs (300 μ l/200 gBB), menunjukkan ekspresi CD68 ($0,85 \pm 0,05$) dan IL-6 ($0,54 \pm 0,11$) yang paling rendah di antara semua kelompok. Hal ini menunjukkan efektivitas dosis tinggi secretome SH-MSCs dalam menekan inflamasi jaringan lemak. Jalur yang terlibat dalam respons ini mencakup pelepasan eksosom yang mengandung mikroRNA antiinflamasi (misalnya, miR-146a) dan peningkatan ekspresi enzim antioksidan seperti heme oxygenase-1 (HO-1). Mekanisme ini tidak hanya menekan aktivasi makrofag M1 tetapi juga meningkatkan fungsi makrofag M2, yang mendukung regenerasi jaringan dan homeostasis metabolik.^{113,114}

Pada kelompok K5 (SH-MSCs dosis tinggi 300 μ L), ekspresi CD68 ($0,85 \pm 0,05$) dan IL-6 ($0,54 \pm 0,11$) menunjukkan penurunan drastis dibandingkan kelompok lain. Sekilas, ini tampak menguntungkan, karena inflamasi ditekan. Namun, apakah kondisi ini benar-benar ideal atau bisa berdampak negatif dalam jangka Panjang membutuhkan penelitian lanjutan. Kadar CD68 yang rendah menunjukkan bahwa makrofag dalam jaringan adiposa berkurang, yang berarti penurunan respons imun lokal, dan kadar IL-6 yang rendah menandakan berkurangnya peradangan sistemik, tetapi juga bisa menunjukkan penekanan berlebihan pada sistem imun. Makrofag (CD68) bukan hanya pro-inflamasi (M1), tetapi juga memiliki peran penting dalam pembersihan jaringan mati, perbaikan luka, dan regenerasi sel. Jika

CD68 terlalu rendah, bisa terjadi penurunan kemampuan tubuh dalam memperbaiki jaringan yang rusak akibat sindrom metabolik. Pada kasus obesitas, makrofag diperlukan untuk membersihkan debris sel akibat lipotoksisitas.

Begitupun dengan IL-6 juga Memiliki Fungsi Protektif, dimana meskipun IL-6 adalah sitokin pro-inflamasi, ia juga memiliki peran dalam metabolisme glukosa dan lipid. IL-6 yang sangat rendah bisa menghambat sensitivitas insulin di otot, karena IL-6 berperan dalam transpor GLUT4 ke membran sel otot untuk meningkatkan pengambilan glukosa. IL-6 juga penting untuk aktivasi respons imun saat tubuh menghadapi infeksi atau cedera. CD68 dan IL-6 yang terlalu rendah bisa menjadi masalah, karena sistem imun yang terlalu ditekan bisa menyebabkan gangguan dalam perbaikan jaringan dan keseimbangan metabolik.¹²²

Untuk mencapai keseimbangan imunomodulasi, akan terjadi potensi umpan balik biomolekuler jika CD68 dan IL-6 terlalu rendah. Efek pada Makrofag dan regulasi imun akan terjadi penurunan drastis CD68 bisa mengurangi populasi makrofag M2, yang diperlukan untuk perbaikan jaringan dan produksi IL-10 serta TGF- β . Jika IL-10 juga ikut menurun, tubuh bisa kehilangan sinyal untuk mengaktifkan respons imun adaptif dan perbaikan jaringan. Dalam jangka panjang, kondisi ini bisa menyebabkan penurunan pertahanan jaringan adiposa terhadap lipotoksisitas, sehingga meningkatkan risiko disfungsi metabolik berulang. Efek pada Sensitivitas Insulin dan Metabolisme Energi, IL-6 dalam jumlah rendah tapi tidak nol

dibutuhkan untuk memfasilitasi sensitivitas insulin dan metabolisme glukosa melalui aktivasi AMPK di otot dan hati. Jika IL-6 terlalu rendah, ekspresi GLUT4 bisa menurun, menyebabkan resistensi insulin di jaringan otot, meskipun inflamasi sistemik telah ditekan. Kemungkinan aktivasi jalur kompensatori, ketika IL-6 turun drastis, tubuh bisa mengaktifkan jalur alternatif, seperti peningkatan TNF- α atau IL-1 β sebagai mekanisme kompensasi. Jika hal ini terjadi, maka meskipun IL-6 rendah, peradangan tetap bisa muncul melalui jalur lain yang lebih berbahaya.

Berdasarkan data yang diperoleh, penelitian menunjukkan hubungan langsung antara ekspresi CD68 dan IL-6 dengan derajat inflamasi pada jaringan lemak tikus yang mengalami sindroma metabolik. Ekspresi CD68, sebagai penanda makrofag, mencerminkan kehadiran makrofag M1 yang bersifat proinflamasi, sementara IL-6 merupakan indikator aktivitas inflamasi sistemik.¹¹⁵⁻¹¹⁷ Pada tikus dengan sindroma metabolik tanpa intervensi (K2), tingginya ekspresi CD68 dan IL-6 menunjukkan dominasi makrofag M1 dan lingkungan proinflamasi.¹¹⁸ Intervensi menggunakan fenofibrat (K3) menurunkan inflamasi, namun efeknya masih terbatas. Sementara itu, pemberian secretome SH-MSCs, terutama pada dosis tinggi (K5), secara signifikan menekan ekspresi CD68 dan IL-6, yang menunjukkan efektivitas SH-MSCs dalam memodulasi respons imun.

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) memainkan peran sentral dalam menekan inflamasi melalui berbagai mekanisme. Selain memicu polarisasi M1 menjadi M2, SH-MSCs juga memodulasi respons

imun adaptif dengan menghambat aktivasi sel T proinflamasi dan meningkatkan produksi sel T regulator. Jalur-jalur penting yang terlibat meliputi sinyal IDO (*indoleamine 2,3-dioxygenase*), COX-2 (*cyclooxygenase-2*), dan pelepasan faktor imunomodulator seperti galectin-1 dan HGF (*Hepatocyte Growth Factor*). Efek ini mendukung perbaikan jaringan dan restorasi fungsi metabolik, sehingga memberikan peluang besar untuk pengelolaan sindroma metabolik.¹¹⁹⁻¹²⁰

Dengan demikian, penelitian ini mengonfirmasi potensi SH-MSCs, terutama pada dosis tinggi (300 μ L/ekor tikus), dalam menekan inflamasi dan mengembalikan keseimbangan imun. Intervensi ini mampu mereduksi ekspresi penanda inflamasi (CD68 dan IL-6) secara signifikan, dengan memodulasi polarisasi makrofag dan memberikan efek terapi pada sindroma metabolik. Namun demikian penelitian ini tidak mengkaji ekspresi CD163 yang merupakan penanda M2 serta IL-10 yang merupakan faktor antiinflamasi yang menjadikan keterbatasan pada penelitian ini.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi SH-MSCs secara intravena terhadap ekspresi CD68 dan IL-6 pada tikus jantan galur Wistar model sindroma metabolik menunjukkan hal-hal berikut:

1. Terbukti adanya perbedaan kadar CD68 pada kelompok K4 dan K5 yang diinjeksi SH-MSCs secara intravena dengan dosis 150 μ L/ekor/hari dan 300 μ L/ekor/hari dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Terbukti adanya perbedaan kadar IL-6 pada kelompok K4 dan K5 yang diinjeksi SH-MSCs secara intravena dengan dosis 150 μ L/ekor/hari dan 300 μ L/ekor/hari dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

Berdasarkan analisis yang telah dilakukan terhadap penelitian ini, terdapat beberapa aspek yang masih dapat ditingkatkan untuk memperkuat validitas dan generalisasi hasil. Selain itu, ada beberapa celah penelitian yang bisa menjadi dasar eksplorasi lebih lanjut dalam studi mendatang.

Penelitian ini memiliki keterbatasan penelitian yang pertama yaitu tidak mengukur peran makrofag M2 secara spesifik. Permasalahan dalam penelitian ini, meskipun penelitian ini telah menganalisis ekspresi CD68

sebagai penanda makrofag, namun belum dilakukan pengukuran spesifik terhadap makrofag M2 yang berperan dalam proses anti-inflamasi dan perbaikan jaringan. Oleh karenanya untuk studi lanjutan, dapat dilakukan pengukuran CD163 sebagai penanda makrofag M2 dan IL-10 atau TGF- β sebagai sitokin yang berperan dalam polarisasi makrofag ke arah M2.

Keterbatasan yang kedua dalam penelitian ini adalah tidak mengkaji jalur inflamasi alternatif (TNF- α dan IL-1 β). Penurunan IL-6 yang tidak sejalan dengan ekspresi CD68 pada kelompok kontrol negatif (K2) menunjukkan kemungkinan bahwa jalur inflamasi lainnya seperti TNF- α dan IL-1 β lebih dominan. Sehingga pada studi lanjutan dapat dilakukan pengukuran ekspresi TNF- α dan IL-1 β untuk mengkonfirmasi apakah inflamasi di K2 lebih banyak dimediasi oleh jalur ini.

Keterbatasan yang ketiga dalam penelitian ini adalah tidak menyelidiki regulasi negatif IL-6 (umpan balik homeostasis). Penelitian ini tidak mengeksplorasi mekanisme umpan balik negatif yang dapat menekan produksi IL-6 meskipun inflamasi masih terjadi. Pengukuran ekspresi SOCS3 (Suppressor of Cytokine Signaling 3) dapat dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat mekanisme umpan balik yang menekan IL-6.

Keterbatasan selanjutnya dalam penelitian ini adalah tidak mengevaluasi efek jangka panjang pemberian SH-MSCs dan tidak ada pengukuran stres oksidatif yang lebih spesifik. Dalam penelitian ini hanya mengukur efek SH-MSCs dalam jangka pendek (14 hari) tanpa

mengevaluasi efeknya dalam periode yang lebih panjang. Penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan desain longitudinal study yang mengamati efek SH-MSCs dalam beberapa minggu atau bulan serta menambahkan pengukuran parameter yang berhubungan dengan stres oksidatif seperti MDA (Malondialdehyde) atau SOD (Superoxide Dismutase) untuk mengkonfirmasi apakah efek anti-inflamasi SH-MSCs berkaitan dengan reduksi stres oksidatif.

Penelitian ini telah menunjukkan bahwa SH-MSCs berpotensi menekan inflamasi dan memperbaiki sindrom metabolik melalui modulasi ekspresi IL-6 dan CD68. Namun, masih ada beberapa keterbatasan yang perlu diperbaiki, seperti kurangnya eksplorasi mekanisme polarisasi makrofag, regulasi IL-6, dan jalur inflamasi alternatif. Penelitian selanjutnya dapat menguji jalur molekuler spesifik, efek jangka panjang, serta potensi kombinasi terapi untuk meningkatkan efektivitas SH-MSCs dalam pengelolaan sindrom metabolik. Dengan memperbaiki aspek-aspek tersebut, penelitian di masa depan akan lebih mampu mengkonfirmasi mekanisme kerja SH-MSCs dan membuka peluang aplikasinya dalam terapi klinis bagi pasien dengan sindrom metabolik.

DAFTAR PUSTAKA

- 1 Mohamed SM, Shalaby MA, El-Shiekh RA, El-Banna HA, Emam SR, Bakr AF, Metabolic Syndrome: Risk Factors, diagnosis, pathogenesis, and management with natural approaches. *Food Chamistry Advances vol3* 2023;100335.<https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100335>.
- 2 Alemany M, The Metabolic Syndrome, a Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(4):2251. <https://doi.org/10.3390/ijms25042251>
- 3 Fahed G, Aoun L, Zerdan MB, Allam S, Zerdan MB, Bouferraa Y, *et al*. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. *Int. J. Mol. Sci*. 2022; 23. doi:10.3390/ijms23020786.
- 4 Prasun P, Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020 Oct 1;1866(10):165838. doi: 10.1016/j.bbadis.2020.165838. Epub 2020 May 16. PMID: 32428560.
- 5 Lin TY, Chien KL, Chiu YH. *et al*. Dynamics of detailed components of metabolic syndrome associated with the risk of cardiovascular disease and death. *Sci Rep* 11, 3677 (2021),<https://doi.org/10.1038/s41598-021-83118>
- 6 Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Putra IB, Bisri T *et al*. Mesenchymal stem cell secretome therapy on inflammation: A systematic review. *J Pharm Pharmacogn Res* 2024; 12: 39–49.
- 7 Pranowo AH, Pertiwi D, Putra A, The Effect of Secretome Hypoxic Mesenchymal Stem Cells on Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Markers Expression (in Vivo Experimental Study on the Macrophage Cell Polarization of Wistar Male Mice Type 1 DM Model). *International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis* 2023; 4884-4890. DOI: 10.47191/ijmra/v6-i10-44, Impact Factor: 7.022
- 8 Lim JU, Lee JH, Kim JS, Hwang Y Il, Kim T-H, Lim SY *et al*. Comparison of World Health Organization and Asia-Pacific body mass index classifications in COPD patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2017; : 2465–2475.
- 9 Botoseneanu A, Chen H, Ambrosius WT, Allore HG, Anton S, Foltz SC, *et al*. Metabolic syndrome and the benefit of a physical activity intervention on lower-extremity function: Results from a randomized clinical trial. *Experimental Gerontology* 150 (2021); Elsevier 0531-5565. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2021.111343>.
- 10 Hirode G, Wong RJ. Trends in the Prevalence of Metabolic Syndrome in the United States, 2011-2016. *JAMA*. 2020;323(24):2526–2528. doi:10.1001/jama.2020.4501

- 11 Ranasinghe P, Mathangasinghe Y, Jayawardena R, *et al.* Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the asia-pacific region: a systematic review. *BMC Public Health* 17, 101 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4041-1>
- 12 Riskesdas. Hasil Utama Riskesdas 2018, *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia* 2018.
- 13 Laporan Survei Kesehatan Indonesia (SKI) 2023, *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia* 2023.
- 14 Kosmas CE, Rodriguez Polanco S, Bousvarou MD, Papakonstantinou EJ, Peña Genao E, Guzman E *et al.* The Triglyceride/High-Density Lipoprotein Cholesterol (TG/HDL-C) Ratio as a Risk Marker for Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease. *Diagnostics*. 2023. doi:10.3390/diagnostics13050929.
- 15 Chen X, Devaraj S. Monocytes from metabolic syndrome subjects exhibit a proinflammatory M1 Phenotype. *Metab Syndr Relat Disord* 2014; 12: 362–366.
- 16 Castoldi A, De Souza CN, Saraiva Câmara NO, Moraes-Vieira PM. The macrophage switch in obesity development. *Front. Immunol.* 2016; 6. doi:10.3389/fimmu.2015.00637.
- 17 Jing Z , Tingting Z , Yan Y, Jinjing W, Dan Z, Yanwei H, *et al* Association between a metabolic score for insulin resistance and hypertension: results from National Health and Nutrition Examination Survey 2007–2016 analyses, 2024, *Frontiers in Endocrinology*, DOI=10.3389/fendo.2024.1369600, ISSN=1664-2392
- 18 Kopp HP, Kopp CW, Festa A, Krzyzanowska K, Kriwanek S, Minar E, Roka R, Schernthaner G. Impact of weight loss on inflammatory proteins and their association with the insulin resistance syndrome in morbidly obese patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(6):1042-7.
- 19 Hotamisligil, G.S. Inflammation and metabolic disorders. *Nature* 2006, 444, 860–867.
- 20 Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112(12):1796-808.
- 21 Virgen-Carrillo C, Ríos D, Ruiz Torres K, Martínez Moreno AG. Diagnostic Criteria for Metabolic Syndrome in Diet-Induced Rodent Models: A Systematic Review. *Curr Diabetes Rev.* 2021;17(3):10.2174/1573399817666210414103730.
- 22 Kanemaki T, Kitade H, Kaibori M, Sakitani K, Hiramatsu Y, Kamiyama Y, Ito S, Okumura T. Interleukin 1beta and interleukin 6, but not tumor necrosis factor alpha, inhibit insulin-stimulated glycogen synthesis in rat

- hepatocytes. *Hepatology*. 1998;27(5):1296-303.
- 23 Gomolak JR, Didion SP. Angiotensin II-induced endothelial dysfunction is temporally linked with increases in interleukin-6 and vascular macrophage accumulation. *Front Physiol*. 2014;5:396. doi: 10.3389/fphys.2014.00396.
 - 24 Sitia S, Tomasoni L, Atzeni F, Ambrosio G, Cordiano C, Catapano A, *et al*. From endothelial dysfunction to atherosclerosis. *Autoimmun Rev*. 2010;9(12):830-4. doi: 10.1016/j.autrev.2010.07.016.
 - 25 Schrader LI, Kinzenbaw DA, Johnson AW, Faraci FM, Didion SP. IL-6 deficiency protects against angiotensin II-induced endothelial dysfunction and hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(12):2576-81. doi: 10.1161/ATVBAHA.107.153080.
 - 26 Bhargava P, Lee CH. Role and function of macrophages in the metabolic syndrome. *Biochem. J*. 2012; 442: 253–262.
 - 27 Pérez S, Rius-Pérez S. Macrophage Polarization and Reprogramming in Acute Inflammation: A Redox Perspective. *Antioxidants*. 2022; 11(7):1394. <https://doi.org/10.3390/antiox11071394>
 - 28 Boutens L, Hooiveld GJ, Dhingra S, Cramer RA, Netea MG, Stienstra R. Unique metabolic activation of adipose tissue macrophages in obesity promotes inflammatory responses. *Diabetologia*. (2018) 61(4):942–53. doi: 10.1007/s00125-017-4526-6
 - 29 Vijay J, Gauthier MF, Biswell RL, Louiselle DA, Johnston JJ, Cheung WA, *et al*. Single-cell analysis of human adipose tissue identifies depot and disease specific cell types. *Nat Metab* (2020) 2(1):97–109.
 - 30 Ramprasad MP, Fischer W, Witztum JL, Sambrano GR, Quehenberger O, Steinberg D. The 94- to 97-kDa mouse macrophage membrane protein that recognizes oxidized low density lipoprotein and phosphatidylserine-rich liposomes is identical to macrosialin, the mouse homologue of human CD68. *Proc Natl Acad Sci USA* (1995) 92(21):9580–4. doi: 10.1073/pnas.92.21.9580
 - 31 Dimitry AC, Murry CK, Veronika AM, Alexander NO, Yuri VB, CD68/macrosialin: not just a histochemical marker, *Laboratory Investigation*, Volume 97, Issue 1, 2017, 4-13, ISSN 0023-6837, <https://doi.org/10.1038/labinvest.2016.116>.
 - 32 Ezhov MV, Arutyunov GP. Effectiveness and Safety of Fenofibrate in Routine Treatment of Patients with Hypertriglyceridemia and Metabolic Syndrome. *Diseases*. 2023; 11(4):140. <https://doi.org/10.3390/diseases11040140>
 - 33 Alvarez de Sotomayor M, Mingorance C, Andriantsitohaina R. Fenofibrate improves age-related endothelial dysfunction in rat resistance arteries. *Atherosclerosis* 2007; 193: 112–120.

- 34 Deerochanawong C, Kim SG, Chang YC, Role of Fenofibrate Use in Dyslipidemi and Related Comorbidities in The Asian Population : A Narrative Review, *Diabetes Metab J* (Seoul) 20224; 48(2):184-195. <https://doi.org/10.4093/dmj.2023.0168>
- 35 Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Putra IB, Bisri T *et al.* Mesenchymal stem cell secretome therapy on inflammation: A systematic review. *J Pharm Pharmacogn Res* 2024; 12: 39–49.
- 37 Ormazabal V, Nova-Lampeti E, Rojas D, Zúñiga FA, Escudero C, Lagos P *et al.* Secretome from human mesenchymal stem cells-derived endothelial cells promotes wound healing in a type-2 diabetes mouse model. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 941.
- 38 Dias I, Pinheiro D, Ribeiro Silva K, Stumbo AC, Thole A, Cortez E *et al.* Secretome effect of adipose tissue-derived stem cells cultured two-dimensionally and three-dimensionally in mice with streptozocin induced type 1 diabetes. *Curr Res Pharmacol Drug Discov* 2021. doi:10.1016/j.crphar.2021.100069.
- 39 Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Bisri T, Ilyas S *et al.* The Role of Mesenchymal Stem Cell Secretome in the Inflammatory Mediators and the Survival Rate of Rat Model of Sepsis. *Biomedicines* 2023; Aug 21;11(8):2325. doi: 10.3390/biomedicines11082325. PMID: 37626822; PMCID: PMC10452511.
- 40 Neidlinger-Wilke C, Ekkerlein A, Goncalves RM, Ferreira JR, Ignatius A, Wilke HJ *et al.* Mesenchymal stem cell secretome decreases the inflammatory response in annulus fibrosus organ cultures. *Eur Cells Mater* 2021; 42: 1–19.
- 41 Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, Astier J, Landrier JF, Miguel M. High fat/high glucose diet induces metabolic syndrome in an experimental rat model. *Nutrients* 2018; 10. doi:10.3390/nu10101502.
- 42 Mamikutty N, Thent ZC, Sapri SR, Sahrudin NN, Mohd Yusof MR, Haji Suhaimi F. *The establishment of metabolic syndrome model by induction of fructose drinking water in male Wistar rats.* *Biomed Res Int.* 2014;2014:263897. doi: 10.1155/2014/263897. Epub 2014 Jun 18. PMID: 25045660; PMCID: PMC4086416.
- 43 Chan, AML, Ng, A.M.H., Yunus, M.H.M. *et al.* Single high-dose intravenous injection of Wharton’s jelly-derived mesenchymal stem cell exerts protective effects in a rat model of metabolic syndrome. *Stem Cell Res Ther* 15, 160 (2024). <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03769-2>
- 44 Palermo BJ, Wilkinson KS, Plante TB, Nicoli CD, Judd SE, Kamin Mukaz D, Long DL, Olson NC, Cushman M. *Interleukin-6, Diabetes, and Metabolic Syndrome in a Biracial Cohort: The Reasons for Geographic*

- and Racial Differences in Stroke Cohort*. *Diabetes Care*. 2024 Mar 1;47(3):491-500. doi: 10.2337/dc23-0914.
- 45 Pierzynová A, Šrámek J, Cinkajzlová A, Kratochvílová H, Lindner J, Haluzík M, Kučera T. *The number and phenotype of myocardial and adipose tissue CD68+ cells is associated with cardiovascular and metabolic disease in heart surgery patients*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2019 Sep;29(9):946-955. doi: 10.1016/j.numecd.2019.05.063. Epub 2019 May 30. PMID: 31307852.
 - 46 Belfort R, Berria R, Cornell J, Cusi K, Fenofibrate Reduces Systemic Inflammation Markers Independent of Its Effects on Lipid and Glucose Metabolism in Patients with the Metabolic Syndrome. 2010. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 829–836, <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1487>
 - 47 Guimaraes VHD, Lelis DF, Oliveira LP, Borem LMA, *et al*, (2020). Comparative study of dietary fat : Lard and sugar as a better obesity and metabolic syndrome mice model. *Archives of physiology and biochemistry*, 129(2), 449-459)
 - 48 Masenga SK, Kabwe LS, Chakulya M, Kirabo A. Mekanisme Stres Oksidatif pada Sindrom Metabolik. *Jurnal Internasional Ilmu Molekuler* . 2023; 24(9):7898. <https://doi.org/10.3390/ijms24097898>
 - 49 Neeland IJ, Lim S, Tchernof A. *et al*. Metabolic syndrome. *Nat Rev Dis Primers* **10**, 77 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41572-024-00563-5>
 - 50 Grudy SM, Pandemic Metabolic Syndrom , *Arterioskler Tromb Vasc Biol* 2008; **28** (4):629-636.
 - 51 Cornier MA, *et al*. Sindrom metabolik. *Endocr Rev*. 2008;29(7):777–822
 - 52 O'Neill S, O'Driscoll L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. *Obes Rev*. 2015;16(1):1–12.
 - 53 Ranasinghe, P., Mathangasinghe, Y., Jayawardena, R. *et al*. Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the asia-pacific region: a systematic review. *BMC Public Health* **17**, 101 (2017). <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4041-1>
 - 54 Xiaopeng L, Benjamin Or, Man F Tsoi, Ching L Cheung, Bernard M Y Cheung, Prevalence of metabolic syndrome in the United States National Health and Nutrition Examination Survey 2011–18, *Postgraduate Medical Journal*, Volume 99, Issue 1175, September 2023, Pages 985–992, <https://doi.org/10.1093/postmj/qgad008>
 - 55 Gallardo-Alfaro L, Bibiloni MD, Mascaró CM, Montemayor S, Ruiz-Canela M, Salas-Salvadó J, *et al*. Leisure-time physical activity, sedentary behaviour and diet quality are associated with metabolic syndrome severity: the PREDIMED-plus study. *Nutrients*. 2020;12(4):1013. doi:

- 10.3390/nu12041013.
- 56 Wilkinson MJ, Manoogian ENC, Zadourian A, Lo H, Fakhouri S, Shoghi A, *et al.* Ten-hour time-restricted eating reduces weight, blood pressure, and atherogenic lipids in patients with metabolic syndrome. *Cell Metab.* 2020;31(1):92-104.e5. doi: 10.1016/j.cmet.2019.11.004.
 - 57 Bhupathiraju SN, Hu FB. Epidemiology of obesity and diabetes and their cardiovascular complications. *Circ Res.* 2016;118(11):1723-35. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.115.306825.
 - 58 Grant B, Sandelson M, Agyemang-Prempeh B, Zalin A, Managing Obesity in People with Type 2 Diabetes. *Clin. Med.* 2021, 21, e327–e331.
 - 59 Monserrat-Mesquida M, Quetglas-Llabrés M, Capó X, Bouzas C, Mateos D, Pons A, Tur JA, Sureda, A. Metabolic Syndrome Is Associated with Oxidative Stress and Proinflammatory State. *Antioxidants* 2020, 9, 236.
 - 60 Schroder JD, Falqueto H, Mânica A, Zanini D, de Oliveira T, de Sá CA, Cardoso AM, Manfredi LH, Effects of Time-Restricted Feeding in Weight Loss, Metabolic Syndrome and Cardiovascular Risk in Obese Women. *J. Transl. Med.* 2021, 19, 3
 - 61 Fahed G, Aoun L, Bou Zerdan M, Allam S, Bou Zerdan M, Bouferraa Y, Assi HI. Metabolic syndrome: Updates on pathophysiology and management in 2021. *Int J Mol Sci.* 2022;23(2):786. doi: 10.3390/ijms23020786.
 - 62 Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol Rev.* 2018;98(4):2133-223. doi: 10.1152/physrev.00063.2017.
 - 63 Wolosowicz M, Prokopiuk S, Kaminski TW. Recent advances in the treatment of insulin resistance targeting molecular and metabolic pathways: Fighting a losing battle? *Medicina (Kaunas).* 2022;58(4):472. doi: 10.3390/medicina58040472
 - 64 Denisenko YK, Kytikova OY, Novgorodtseva TP, Antonyuk MV, Gvozdenko TA, Kantur TA. Lipid-induced mechanisms of metabolic syndrome. *J Obes.* 2020;2020:5762395. doi: 10.1155/2020/5762395
 - 65 Pedro-Botet J, Ascaso JF, Barrios V, De la Sierra A, Escalada J, Millán J, *et al.* COSMIC Project: Consensus on the objectives of the metabolic syndrome in clinic. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2018;11:683-97. doi: 10.2147/DMSO.S179185.
 - 66 Touyz RM, Rios FJ, Alves-Lopes R, Neves KB, Camargo LL, Montezano AC. Oxidative stress: A unifying paradigm in hypertension. *Can J Cardiol.* 2020;36(5):659-70. doi: 10.1016/j.cjca.2019.12.023.
 - 67 Samson SL, Garber AJ. Metabolic syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2014;43(1):1-23. doi: 10.1016/j.ecl.2013.09.009.

- 68 Jakubczyk K, Dec K, Kałduńska J, Kawczuga D, Kochman J, Janda K. Reactive oxygen species—sources, functions, oxidative damage. *Pol Merkur Lek Organ Pol Tow Lek*. 2020;48(283):124-7.
- 69 DeVallance E, Li Y, Jurczak MJ, Cifuentes-Pagano E, Pagano PJ. The role of NADPH oxidases in the etiology of obesity and metabolic syndrome: Contribution of individual isoforms and cell biology. *Antioxid Redox Signal*. 2019;31(10):687-709. doi: 10.1089/ars.2018.7606
- 70 Veith A, Moorthy B. Role of cytochrome P450s in the generation and metabolism of reactive oxygen species. *Curr Opin Toxicol*. 2018;7:44-51. doi: 10.1016/j.cotox.2018.02.005
- 71 Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol*. 2020;37:101674. doi: 10.1016/j.redox.2020.101674
- 72 Zhu J, Wu F, Yue S, Chen C, Song S, Wang H, Zhao M. Functions of reactive oxygen species in apoptosis and ganoderic acid biosynthesis in *Ganoderma lucidum*. *FEMS Microbiol Lett*. 2019;366:fnz123. doi: 10.1093/femsle/fnz123.
- 73 Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxid Redox Signal*. 2014;20(7):1126-67. doi: 10.1089/ars.2012.5149
- 74 Padgett LE, Broniowska KA, Hansen PA, Corbett JA, Tse HM. The role of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in type 1 diabetes pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1281:16-35. doi: 10.1111/nyas.12044
- 75 Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ Res*. 2018;122(6):877-902. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401
- 76 Čolak E, Pap D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. *J Med Biochem*. 2021;40(1):1-9. doi: 10.5937/jomb0-27709
- 77 Juan CA, Pérez de la Lastra JM, Plou FJ, Pérez-Lebeña E. The chemistry of reactive oxygen species (ROS) revisited: outlining their role in biological macromolecules (DNA, lipids, and proteins) and induced pathologies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9):4642. doi: 10.3390/ijms22094642.
- 78 Gaschler MM, Stockwell BR. Lipid peroxidation in cell death. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;482(3):419-25. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.
- 79 Bekkouche L, Bouchenak M, Malaisse WJ, Yahia DA. The Mediterranean diet adoption improves metabolic, oxidative, and inflammatory

- abnormalities in Algerian metabolic syndrome patients. *Horm Metab Res.* 2017;49(5):364-70. doi: 10.1055/s-0043-102949
- 80 Scioli MG, Storti G, D'Amico F, Rodríguez Guzmán R, Centofanti F, Doldo E, *et al.* Oxidative stress and new pathogenetic mechanisms in endothelial dysfunction: Potential diagnostic biomarkers and therapeutic targets. *J Clin Med.* 2020;9(6):1995. doi: 10.3390/jcm9061995.
- 81 Mayoral LP-C, Andrade GM, Mayoral EP-C, Huerta TH, Canseco SP, Rodal Canales FJ, *et al.* Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. *Indian J Med Res.* 2020;151(1):11-21. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_757_20
- 82 Aras M, Tchang BG, Pape J. Obesity and diabetes. *Nurs Clin North Am.* 2021;56(3):527-41. doi: 10.1016/j.cnur.2021.05.002
- 83 Manna P, Jain SK. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: Causes and therapeutic strategies. *Metab Syndr Relat Disord.* 2015;13(10):423-44. doi: 10.1089/met.2015.0095.
- 84 Nono Nankam PA, Nguelefack TB, Goedecke JH, Blüher M. Contribution of adipose tissue oxidative stress to obesity-associated diabetes risk and ethnic differences: Focus on women of African ancestry. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(4):622. doi: 10.3390/antiox10040622.
- 85 Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G, *et al.* Oxidative stress in obesity: A critical component in human diseases. *Int J Mol Sci.* 2014;16(1):378-400. doi: 10.3390/ijms16010378.
- 86 Arnold PK, Finley LWS. Regulation and function of the mammalian tricarboxylic acid cycle. *J Biol Chem.* 2022;299(4):102838. doi: 10.1016/j.jbc.2022.102838
- 87 Delehanty JB, Das S, Goldberg E, Sangtani A, Knight DA. Synthesis of a reactive oxygen species-responsive doxorubicin derivative. *Molecules.* 2018;23(7):1809. doi: 10.3390/molecules23071809.
- 88 Singh M, Kapoor A, Bhatnagar A. Physiological and pathological roles of aldose reductase. *Metabolites.* 2021;11(10):655. doi: 10.3390/metabo11100655.
- 89 Srikanth KK, Orrick JA. Biochemistry, polyol or sorbitol pathways. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545227/>.
- 90 Rose-John S. Interleukin-6 signalling in health and disease. *F1000Research* 2020. doi:10.12688/f1000research.26058.1.
- 91 Weiss TW, Arnesen H, Seljeflot I. Components of the Interleukin-6 transsignalling system are associated with the metabolic syndrome, endothelial dysfunction and arterial stiffness. *Metabolism* 2013; **62**: 1008–1013.

- 92 Zahedi AS, Daneshpour MS, Akbarzadeh M, Hedayati M, Azizi F, Zarkesh M. Association of baseline and changes in adiponectin, homocysteine, high-sensitivity C-reactive protein, interleukin-6, and interleukin-10 levels and metabolic syndrome incidence: Tehran lipid and glucose study. *Heliyon* 2023; **9**. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e19911.
- 93 Naftali Y, Chozin IN, Sartono TR, Djajalaksana S, Rohman MS, Yudhanto HS. Pulmonary fibrosis with increasing of interleukin-6 in Sprague Dawley rats with metabolic syndrome. *Int J Med Sci Clin Res Stud.* 2023;3(12):3162-9. doi: 10.47191/ijmscrs/v3-i12-44.
- 94 Wueest S, Konrad D. The controversial role of IL-6 in adipose tissue on obesity-induced dysregulation of glucose metabolism. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 2020; 319: E607–E613.
- 95 Fernandez-Mejia C. Molecular basis of type-2 diabetes. *Mol Endocrinol* 2006; 661: 87–108.
- 96 Burton TC, Lv N, Tsai P, Peñalver Bernabé B, Tussing-Humphreys L, Xiao L *et al.* Associations between fecal short-chain fatty acids, plasma inflammatory cytokines, and dietary markers with depression and anxiety: Post hoc analysis of the ENGAGE-2 pilot trial. *Am J Clin Nutr* 2023; 117: 717–730.
- 97 Espinoza-Jiménez A, Peón AN, Terrazas LI. Alternatively activated macrophages in types 1 and 2 diabetes. *Mediators Inflamm.* 2012; doi:10.1155/2012/815953.
- 98 Galvão Tessaro FH, Ayala TS, Bella LM, Martins JO. Macrophages from a type 1 diabetes mouse model present dysregulated PI3K/AKT, ERK 1/2 and SAPK/JNK levels. *Immunobiology* 2020. doi:10.1016/j.imbio.2019.11.014.
- 99 Izadi R, Hejazi SH, Bahramikia S. Alternative viewpoint against diabetic wound based on stem cell secretome that can mediated angiogenesis and reduce inflammation. *Arch Dermatol Res* 2024; 316. doi:10.1007/s00403-023-02739-7.
- 100 Rath M, Müller I, Kropf P, Closs EI, Munder M. Metabolism via Arginase or Nitric Oxide Synthase: Two Competing Arginine Pathways in Macrophages. *Front Immunol.* 2014 Oct 27;5:532. doi: 10.3389/fimmu.2014.00532.
- 101 Chavakis T, Alexaki VI, Ferrante AW. Macrophage function in adipose tissue homeostasis and metabolic inflammation. *Nat Immunol.* 2023;24(5):757-66. doi: 10.1038/s41590-023-01479-0
- 102 Nawaz A, Fujisaka S, Kado T, *et al.* Heterogeneity of adipose tissue-resident macrophages-beyond M1/M2 paradigm. *Diabetol Int.* 2023;14(2):125-33. doi: 10.1007/s13340-023-00624-2.

- 103 Jahandideh S, Khatami S, Eslami Far A, Kadivar M. Anti-inflammatory effects of human embryonic stem cell-derived mesenchymal stem cells secretome preconditioned with diazoxide, trimetazidine and MG-132 on LPS-induced systemic inflammation mouse model. *Artif Cells, Nanomedicine Biotechnol* 2018; **46**: 1178–1187.
- 104 Daneshmandi L, Shah S, Jafari T, Bhattacharjee M, Momah D, Saveh-Shemshaki N *et al.* Emergence of the Stem Cell Secretome in Regenerative Engineering. *Trends Biotechnol.* 2020; **38**: 1373–1384.
- 105 Driscoll J, Patel T. The mesenchymal stem cell secretome as an acellular regenerative therapy for liver disease. *J. Gastroenterol.* 2019; **54**: 763–773.
- 106 Sazli BI, Lindarto D, Hasan R, Putra A, Pranoto A, Sembiring RJ *et al.* Secretome of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells Enhance Angiogenesis in Diabetic Rats with Peripheral Artery Disease. *Med Arch* 2023; **77**: 90–96.
- 107 Estrada R, Li N, Sarojini H, An J, Lee MJ, Wang E. Secretome from mesenchymal stem cells induces angiogenesis via Cyr61. *J Cell Physiol* 2009. doi:10.1002/jcp.21701.
- 108 Gangadaran P, Oh EJ, Rajendran RL, Oh JM, Kim HM, Kwak S *et al.* Three-dimensional culture conditioned bone marrow MSC secretome accelerates wound healing in a burn injury mouse model. *Biochem Biophys Res Commun* 2023; **673**: 87–95.
- 109 Harrell CR, Volarevic V. Mesenchymal stem cell-derived secretome: A new remedy for the treatment of autoimmune and inflammatory diseases. In: *Stem Cells: Latest Advances.* 2021, pp 59–69.
- 110 Yang H, Chen Y, Liu C. Triglyceride-glucose index is associated with metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2023. doi:10.1080/09513590.2023.2172154.
- 111 Hioki C, Yoshida T, Kogure A, Yoshimoto K, Shimatsu A (2010). Growth Hormone Administration Controls Body Composition Associated with Changes of Thermogenesis in Obese KK-Ay Mice. *The Open Endocrinology Journal* 4:3-8, doi: 10.2174/1874216501004010003
- 112 Song M, Han L, Chen FF, Wang D, Wang F, Zhang L *et al.* Adipocyte-derived exosomes carrying sonic hedgehog mediate M1 macrophage polarization-induced insulin resistance via Ptch and PI3K pathways. *Cell Physiol Biochem* 2018; **48**: 1416–1432.
- 113 Li K, Ching D, Luk FS, Raffai RL. Apolipoprotein e Enhances MicroRNA-146a in Monocytes and Macrophages to Suppress Nuclear Factor- κ B-Driven Inflammation and Atherosclerosis. *Circ Res* 2015; **117**: e1–e11.
- 114 He X, Tang R, Sun Y, Wang YG, Zhen KY, Zhang DM *et al.* MicroR-146 blocks the activation of M1 macrophage by targeting signal transducer and

- activator of transcription 1 in hepatic schistosomiasis. *EBioMedicine* 2016; **13**: 339–347.
- 115 Pérez S, Rius-Pérez S. Macrophage Polarization and Reprogramming in Acute Inflammation: A Redox Perspective. *Antioxidants*. 2022; **11**. doi:10.3390/antiox11071394.
- 116 Shimobayashi M, Albert V, Woelnerhanssen B, Frei IC, Weissenberger D, Meyer-Gerspach AC *et al*. Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue. *J Clin Invest* 2018; 128: 1538–1550.
- 117 Balestrieri B, Di Costanzo D, Dwyer DF. Macrophage-mediated immune responses: From fatty acids to oxylipins. *Molecules*. 2022; **27**. doi:10.3390/molecules27010152.
- 118 Jan A, Arndt L, Janine F, et al. IL-6 signaling drives self-renewal activation of adipose tissue macrophages. *Front Immunol*. 2024;15:1201439. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1201439>.
- 119 Irawan RCS, Putra A, Trisnadi S, Ghaissani SS, Hidayah N. Secretome hypoxia-mesenchymal stem cells decrease tumor necrosis factor- α and interleukin-18 in kidney of type 2 diabetes mellitus model rats. *Univ Med*. 2023;42:320-328. doi: 10.18051/UnivMed.2023.v42:320-328
- 120 Wang G, Cao K, Liu K, Xue Y, Roberts AI, Li F, Han Y, Rabson AB, Wang Y, Shi Y. Kynurenic acid, an IDO metabolite, controls TSG-6-mediated immunosuppression of human mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ*. 2018;25:1209–1223. doi: 10.1038/s41418-017-0006-2.

