

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP EKSPRESI IL-1 β , TNF- α DAN
PERBAIKAN ANATOMI LUKA
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus Model Wistar dengan
Luka Bakar derajat III)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Christiani Natalia Soemitha

MBK 24.23.020434

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

HALAMAN PENGESAHAN

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP EKSPRESI IL-1 β , TNF- α DAN
PERBAIKAN ANATOMI LUKA
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus Model Wistar dengan
Luka Bakar derajat III)**

Disusun oleh :

Christiani Natalia Soemitha

MBK 24.23.020434

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal 11 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B.FINACS
NIP. 210113160

Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes
NIP. 210186023

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

Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B.FINACS
NIP. 210113160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya 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, 11 Agustus 2025

(Christiani Natalia Soemitha)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Christiani Natalia Soemitha
Tempat / Tanggal lahir : Semarang, 24 Desember 1989
Agama : Protestan
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK. Pandanaran Semarang : Lulus tahun 1995
2. SD Cor Jesu Semarang : Lulus tahun 2001
3. SMP PL Dominico Savio : Lulus tahun 2004
4. SMA YSKI : Lulus tahun 2007
5. S1 Fakultas Kedokteran UKRIDA : Lulus tahun 2011
6. Profesi Dokter UKRIDA : Lulus tahun 2013
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Albert Wibowo, S.Sn.CIBTAC
2. Nama Anak : - Clovenia Adelle Wibowo
- Clovalerie Elena Wibowo

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul “**Pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-Mscs) terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α , dan Perbaikan Anatomi Luka (Studi Experimental Pada Tikus Wistar model Luka Bakar Derajat III) ” ini dapat penulis selesaikan.**

Proposal Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B
4. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B FINACS atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.

6. DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH., Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes, Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Penguji I, II, III, yang bersedia meluangkan banyak waktu untuk memberikan kritik dan saran yang membangun dalam penulisan naskah Tesis ini.
7. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
8. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

Akhir kata, penulis berharap tesis ini memberikan manfaat bagi kita semua terutama untuk pengembangan ilmu pengetahuan yang ramah lingkungan.

Semarang, 11 Agustus 2025
Penulis,

(Christiani Natalia Soemitha)

ABSTRAK

Latar Belakang: Luka bakar derajat III menyebabkan peradangan berat dan gangguan penyembuhan akibat peningkatan kadar sitokin proinflamasi, terutama interleukin-1 β (IL-1 β) dan tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Penekanan kedua sitokin ini penting untuk meningkatkan keberhasilan penyembuhan pada cedera dermal.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek anti inflamasi *exosome* yang berasal dari *hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells* (EH-MSC) terhadap ekspresi IL-1 β dan TNF- α pada model tikus luka bakar derajat III.

Metode: Penelitian eksperimental dengan rancangan *Post-Test Only Control Group* dilakukan di Laboratorium SCCR, pada Mei 2025. Sebanyak 30 ekor tikus jantan Wistar (usia 6–8 minggu, berat 200–250 g) dibagi acak lima kelompok: kontrol sehat, luka bakar + NaCl, luka bakar + silver sulfadiazine, kelompok perlakuan EH-MSC dengan dosis 100 μ g dan 200 μ g. Luka bakar derajat III dibuat menggunakan pelat tembaga berukuran 2 $\times$ 2 cm, diikuti pemberian EH-MSC secara subkutan di sekitar luka. Pengukuran luas luka makroskopis dilakukan pada hari ke-0, 3, dan 5. Pada hari ke-5, ekspresi IL-1 β dan TNF- α dianalisis menggunakan RT-PCR dari sampel jaringan kulit. Data dianalisis dengan uji Shapiro–Wilk, Levene, dan *One-Way ANOVA*/uji non-parametrik ($p < 0,05$).

Hasil: Luka bakar tanpa terapi meningkatkan kadar IL-1 β dan TNF- α secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol sehat. Pemberian EH-MSC menurunkan ekspresi kedua sitokin tersebut secara bergantung dosis, dengan penurunan terbesar pada dosis 200 μ g ($p < 0,05$). Secara makroskopis, dosis 200 μ g/kg BB secara signifikan mengurangi luas luka dan ketebalan jaringan nekrosis pada hari ke-5, disertai pembentukan jaringan granulasi dan pertumbuhan rambut awal.

Kesimpulan: EH-MSC memiliki efek anti inflamasi dan penyembuhan luka yang kuat pada luka bakar derajat III melalui penekanan IL-1 β , pengurangan luas luka dan nekrosis, serta stimulasi regenerasi jaringan dan tidak signifikan terhadap TNF- α . Temuan ini mendukung potensi EH-MSC sebagai terapi regeneratif *cell-free* untuk luka bakar berat.

Kata Kunci: EH-MSC; *Exosome*; IL-1 β ; TNF- α ; Penyembuhan Luka; Luka Bakar Derajat III

ABSTRACT

Background: Third-degree burns are associated with intense inflammation and poor wound healing due to elevated levels of pro-inflammatory cytokines, particularly interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α). Targeting these cytokines is critical to improving healing outcomes in deep dermal injuries.

Objectives: This study aimed to evaluate the anti-inflammatory effects of exosomes derived from hypoxia conditioned mesenchymal stem cells (EH MSCs) on IL-1 β and TNF- α expression in a rat model of third-degree burn.

Methods: An experimental Post-Test Only Control Group study was conducted at the Stem Cell and Cancer Research Laboratory, in May 2025. Thirty male Wistar rats (6–8 weeks, 200–250 g) were randomized into five groups: healthy control, burn + saline, burn + silver sulfadiazine, and two EH-MSC treatment groups (100 μ g and 200 μ g). Burns were induced using a 2 $\times$ 2 cm heated copper plate, followed by subcutaneous EH-MSC administration around the wound. Macroscopic wound measurements were taken on days 0, 3, and 5. On day 5, IL-1 β and TNF- α were quantified via RT-PCR from skin tissue. Data were analyzed with Shapiro–Wilk, Levene's, and One-Way ANOVA/non-parametric tests ($p < 0.05$).

Results: Untreated burns significantly increased IL-1 β and TNF- α compared to the healthy control. EH-MSCs reduced cytokine expression dose-dependently, with the 200 μ g group showing the largest reduction ($p < 0.05$). Macroscopically, 200 μ g/kg BW EH-MSCs markedly decreased wound size and necrotic thickness by day 5, with improved granulation tissue and early hair regrowth..

Conclusion: EH-MSCs exhibit potent anti-inflammatory and wound-healing effects in third-degree burns by suppressing IL-1 β , reducing wound size and necrosis, and promoting tissue regeneration, and not significant to TNF- α supporting their potential as a cell-free regenerative therapy for severe burns.

Keywords: Exosome, Stem Cells; IL-1 β ;Third degree Burn;TNF- α ;Wound Healing

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
<i>ABSTRACT</i>	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Originalitas Penelitian.....	5
1.5. Manfaat penelitian	6
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	6
1.5.2. Manfaat Praktis	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1. <i>Interleukin 1 beta</i> (IL-1 β).....	8
2.1.1. Definisi.....	8
2.1.2. Peran IL-1 β pada Penyembuhan Luka Bakar	8
2.2. <i>Tumor necrosis factor alpha</i> (TNF- α).....	9
2.2.1. Definisi.....	9
2.2.2. Peran TNF- α pada Penyembuhan Luka Bakar.....	9

2.3.	Luka Bakar.....	11
2.3.1.	Definisi.....	11
2.3.2.	Faktor-faktor yang dapat menyebabkan luka bakar: ³²	11
2.3.3.	Etipatogenesis Luka Bakar.....	12
2.3.4.	Patofisiologi Luka Bakar	13
2.3.5.	Klasifikasi Luka Bakar.....	14
2.4.	Luka bakar derajat III	17
2.4.1.	Gambaran histologis luka bakar derajat III ⁴¹	18
2.5.	Penyembuhan Luka Bakar.....	19
2.5.1.	Definisi.....	19
2.5.2.	Peran Keseimbangan Kelembapan dalam Penyembuhan Luka Bakar.....	22
2.6.	Terapi Standar Untuk Luka Bakar Derajat III Dengan <i>Silver Sulfadiazine</i> (Burnazine®)	23
2.7.	Hipoksia.....	24
2.8.	<i>Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cell</i> (EH-MSC)	24
2.8.1.	Definisi.....	24
2.8.2.	Kandungan <i>Exosome</i> MSC	25
2.9.	Efek <i>Exosome hypoxia mesenchymal stem cell</i> (EH-MSCs) terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α dan Perbaikan anatomi luka pada kondisi luka bakar derajat III.....	26
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS		30
3.1.	Kerangka Teori	30
3.2.	Kerangka Konsep.....	35
3.3.	Hipotesis	35
BAB IV METODE PENELITIAN		36
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	36
4.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	37
4.2.1.	Variabel penelitian.....	37
4.2.2.	Definisi Operasional	38
4.3.	Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	40

4.3.1. Subyek penelitian	40
4.3.2. Sampel Penelitian	41
4.4. Besar Sampel.....	41
4.5. Alat dan Bahan.....	42
4.5.1. Alat Penelitian	42
4.5.2. Bahan Penelitian	43
4.6. Cara Penelitian	43
4.6.1. <i>Ethical clearance</i>	43
4.6.2. Pembuatan luka bakar derajat III dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan.....	44
4.6.3. Perlakuan (Pemberian <i>Exosome</i> MSC pada luka bakar)	44
4.6.4. Pembuatan preparat	45
4.6.5. Analisis PCR	47
4.7. Alur Penelitian	48
4.8. Analisa Data.....	49
4.9. Tempat dan Waktu Penelitian.....	50
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	51
5.1. Hasil Penelitian.....	51
5.1.1. Hasil Validasi EH-MSC (<i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i>).....	51
5.1.2. Hasil Validasi Luka Bakar Derajat III	53
5.1.3. Ekspresi IL-1 β	56
5.1.4. Ekspresi TNF- α	58
5.1.5. Hasil Perbaikan Anatomi Luka Bakar Derajat III melalui Pengukuran Luas Luka dan Pengamatan Makroskopik Luka	59
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	64
5.3. Keterbatasan Penelitian	68
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	69
6.1. Kesimpulan	69
6.2. Saran	70

DAFTAR PUSTAKA.....	71
LAMPIRAN.....	80



DAFTAR SINGKATAN

IL-1 β	: <i>Interleukin-1β</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alfa</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
EH-MSC	: <i>Exosome Hipoxia Mesenchymal Stem Cell</i>
miRNA	: <i>Micro Ribonucleic Acid</i>
CD9	: <i>Cluster Of Differentiation 9</i>
CD63	: <i>Cluster Of Differentiation 63</i>
CD81	: <i>Cluster Of Differentiation 81</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
IGF-1	: <i>Insulin-Like Growth Factor-1</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor-Kappa Beta</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
MACS	: <i>Magnetic Activated Cell Sorting</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
DAMPS	: <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
IFN	: <i>Interferon</i>
M1	: <i>Macrophages 1</i>
M2	: <i>Macrophages 2</i>
NLR	: <i>Neutrophil to Lymphocyte Ratio</i>
HIF	: <i>Hypoxia-Inducible Factor</i>
EPC	: <i>Endothelial Progenitor Cells</i>
ADP	: <i>Adenosin Difostat</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1. Hasil deskripsi rerata Ekspresi IL-1 β dan uji One way ANOVA	56
Tabel 5.2. Uji Post Hoc LSD Ekspresi IL-1 β	57
Tabel 5.3. Hasil deskripsi rerata Ekspresi TNF- α dan uji One way ANOVA	59
Tabel 5.5. Hasil Pengamatan Makroskopis Luka Bakar Derajat III pada masing- masing Kelompok Perlakuan.....	61



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Zona luka bakar.....	14
Gambar 2.2. Klasifikasi Luka Bakar.....	15
Gambar 2.3. Makro dan mikroskopis luka bakar derajat tiga.	18
Gambar 2.4. Representasi skematis tahapan penyembuhan luka.....	20
Gambar 2.5. Peran eksosom pada kulit dan penyembuhan luka.	26
Gambar 2.6. Peran eksosom dalam penyembuhan luka bakar dan potensi kegunaannya dalam regenerasi dan perbaikan. ⁶⁶	28
Gambar 2.7. Mekanisme patofisiologi luka bakar pada kulit menurut model Jackson.	28
Gambar 3.1. Kerangka Teori	34
Gambar 3.2. Kerangka Konsep.....	35
Gambar 4.1. Rancangan Penelitian.....	36
Gambar 4.2. Alur Penelitian	48
Gambar 5.1. Morfologi MSC.....	51
Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red s dan (B) Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 40x).	52
Gambar 5.3. Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i> menggunakan marker CD63 dan CD9.....	53
Gambar 5.4. Validasi dan Hasil Makroskopis Luka Bakar	54
Gambar 5.5. Hasil mikroskopis pasca pemberian EH-MSCs.....	54
Gambar 5.6. Grafik ekspresi IL-1 β	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Izin Etik Penelitian	80
Lampiran 2. Surat Keterangan Hasil Penelitian	81
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	84
Lampiran 4. Statistik Kadar IL-1 β dan TNF- α	88
Lampiran 5. Hasil Pengukuran Luas Luka.....	91
Lampiran 6. Gambaran dan ukuran penyembuhan luka	92



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka bakar dapat dikategorikan cedera yang mengakibatkan kerusakan jaringan yang terkait dengan respons fisiologis dan patofisiologis, di mana penghalang kulit terganggu oleh faktor termal, kimia, atau listrik eksternal, ketika integritas kulit berubah, fungsinya terganggu dan lebih rentan terhadap dehidrasi, infeksi, gangguan metabolisme.¹ Luka bakar dapat diklasifikasikan menurut sejumlah faktor, termasuk kedalaman, etiologi, dan persentase luas permukaan tubuh yang terkena. Kombinasi klasifikasi di atas menentukan derajat keparahan luka bakar.² Masalah yang menjadikan dasar penelitian ini ingin lebih mengetahui efektifitas EH-MSCs terhadap luka bakar derajat III, dan didahului dengan terjadinya luka bakar pada anak saya dan mengalami perbaikan yang signifikan menggunakan Exosome.

Masalah yang menjadikan dasar meneliti tentang luka bakar, yaitu terjadinya kasus luka bakar pada anak saya, dan menunjukkan perbaikan signifikan menggunakan terapi eksosom. Serta masalah yang mempengaruhi hampir 11 juta orang di seluruh dunia dengan sekitar 300.000 kematian setiap tahunnya dan berkontribusi terhadap peningkatan morbiditas.⁴ Angka kematian terkait kebakaran sangat tinggi di Asia Tenggara (11,6 kematian/100.000 penduduk per tahun). Negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah seperti Indonesia sangat terpengaruh. Luka bakar juga

merupakan penyebab utama hilangnya tahun-tahun kehidupan yang disesuaikan dengan kecacatan di negara-negara tersebut. Berdasarkan data Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) mencatat terdapat 195.000 kasus kematian akibat luka bakar di Indonesia setiap tahunnya. Luka bakar yang paling banyak terjadi adalah luka bakar derajat II dengan prevalensi sebesar 73% dari seluruh luka bakar⁵

Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa sel punca dan eksosomnya dapat bermanfaat bagi penyembuhan luka.^{9,10} Selain mendorong proliferasi sel dan regenerasi jaringan, eksosom juga mengurangi jaringan parut, komplikasi, dan respons imun terhadap bahan cangkok.^{11,12} Aplikasi *Exosome human umbilical cord* MSC-EVs telah menunjukkan potensinya untuk mengurangi peradangan yang disebabkan oleh luka bakar parah. Infus EV mengurangi produksi TNF- α dan produksi IL-1 β dalam makrofag dengan meningkatkan Ekspresi IL-10 dan menekan jalur pensinyalan TLR4 dan respons inflamasi.¹³ Karena eksosom mengandung berbagai protein, asam nukleat, dan mediator komunikasi sel esensial.¹⁴ *Exosome* yang berasal dari sel punca mesenkimal (MSC) yang dipreparasi dalam kondisi hipoksia telah menunjukkan potensi dalam memodulasi respons imun, proses penyembuhan luka dan dapat mempengaruhi mikrolingkungan jaringan, termasuk modulasi ekspresi sitokin pro-inflamasi.^{15,16} Cidera bakar dan penyakit kritis mempengaruhi jaringan

Penyembuhan luka merupakan proses fisiologis yang sangat penting. Beberapa mediator inflamasi penting yang berperan dalam penyembuhan

luka, diantaranya adalah TNF- α . Peran TNF- α dalam penyembuhan luka pada berbagai penelitian menunjukkan TNF- α menginduksi pertumbuhan epitel dan neovaskularisasi. TNF- α juga dapat mengkompensasi efek negatif dari reduksi makrofag yang juga memberikan efek langsung pada penyembuhan luka.²² Pada *Exosome* MSC yang menghasilkan IL-10 melalui NF-kB, IL-10 menghambat produksi beberapa sitokin TNF- α dan IL-1 β , dan NF-kB, diharapkan dapat mengatur keseimbangan IL-1 β dan TNF- α . Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan *Exosome* MSC untuk penyembuhan luka bakar derajat III yang lebih dalam lagi. Studi ini bermaksud guna membuktikan pengaruh *Exosome hypoxia* MSC pada Ekspresi IL-1 β dan TNF- α tikus wistar model luka bakar derajat III.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α , dan Perbaikan Anatomi Luka pada tikus model luka bakar derajat III?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α , dan perbaikan anatomi luka pada tikus model luka bakar derajat III..

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan Ekspresi IL-1 β antar kelompok *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$ dengan kelompok kontrol pada Tikus model luka bakar derajat III.
2. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan Ekspresi TNF- α antar kelompok *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$ dengan kelompok kontrol pada Tikus model luka bakar derajat III.
3. Penelitian ini bertujuan menganalisis bagaimana perbaikan anatomi luka melalui pengukuran luas luka dan pengamatan makroskopis setelah pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$ dengan kelompok kontrol pada Tikus model luka bakar derajat III.

1.4. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Variabel Bebas	Hasil
1.	Bayu Tirta, <i>et al</i> 2024	<i>Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic Mesenchymal Stem Cells' Secretome: IL-10(MSC) Upregulation and TNF- α/PGE2 Suppression</i>	Pemberian sekretom hipoksia yang berasal dari <i>Mesenchymal Stem Cells</i>	Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan HS- MSC mengakibatkan peningkatan terkait dosis pada IL-10, sitokin anti-inflamasi, di samping penurunan yang nyata pada TNF- α dan PGE2, sitokin pro-inflamasi. Efek ini mempercepat proses penyembuhan dengan meningkatkan re-epitelialisasi dan meminimalkan pembentukan jaringan parut.
2.	Ashok Priyadarshi, <i>et al</i> 2023	<i>Effect of combination of photobiomodulation 904 nm superpulsed laser therapy and Hippophae rhamnoides L. On third-degree burn wound healing</i>	Terapi fotobiomodulasi (PBMT) dan pemberian ekstrak <i>seabuckthorn</i> (SBTL- ALE)	Perawatan ganda (PBMT + SBTL-ALE) mempercepat penyembuhan luka bakar tingkat tiga pada tikus, yang dapat membuka jalan bagi strategi terapi multimode untuk penanganan luka bakar dan perawatan kosmetik kulit.
	Rayanne Lisboa Mesquita, <i>et al</i> 2016	<i>Effect of low-intensity therapeutic ultrasound on wound healing in rats subjected to third-degree burns</i>	Pemberian <i>low-intensity therapeutic ultrasound</i> (LITUS)	Tidak ada perbedaan yang tampak di antara lesi kelompok pada hari ke-4. Pada akhir perawatan, penyembuhan luka lebih jelas terlihat pada BTG. Tidak ditemukan perbedaan yang signifikan secara statistik antara BG dan BTG dalam kaitannya dengan parameter yang diukur menggunakan sistem penilaian perubahan histologis dalam penyembuhan luka bakar

4.	Zahra Saremi, <i>et al</i> 2016	<i>The Combined Effects of Nano-Zinc, Nano-Albumin and Honey in Healing Wounds Caused by Third- Degree Burn in Male Mice</i>	Pemberian Nano-Zinc, Nano-Albumin dan Madu	Pada tingkat makroskopis, setelah perawatan luka bakar, penyusutan luka bakar dan pengurangan bekas luka diamati pada kelompok yang diberi madu dan nano-Seng dibandingkan dengan kelompok control dan kelompok yang diberikan perawatan lainnya, studi histologis menunjukkan peningkatan signifikan pada ketebalan total lapisan dermal dan epidermal kulit pada kelompok eksperimen dibandingkan dengan kelompok lainnya
----	------------------------------------	--	--	---

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi penyembuhan luka bakar derajat III, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α , dan Perbaikan Anatomi Luka pada penyembuhan luka bakar derajat III pada tikus model wistar sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

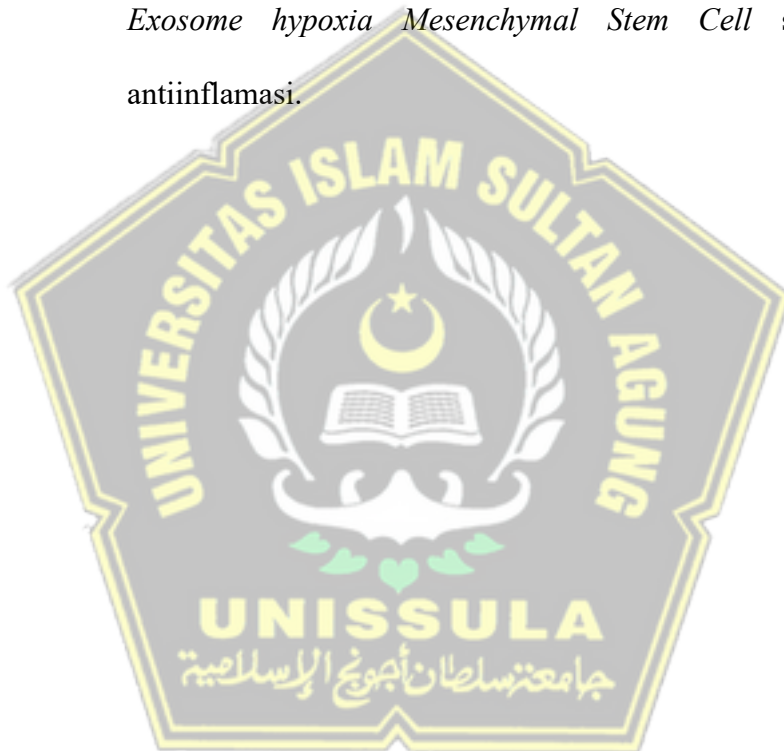
1.5. Manfaat penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *exosome hypoxia mesenchymal stem cell* terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α dan Perbaikan Anatomi Luka pada Tikus model Wistar dengan luka bakar derajat III.

1.5.2. Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan pengetahuan yang berguna bagi masyarakat mengenai kegunaan *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* untuk perlindungan kulit.
2. Bagi praktisi kesehatan, temuan ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru terkait potensi terapi dengan *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* sebagai agen antiinflamasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin 1 beta (IL-1 β)*

2.1.1. Definisi

Interleukin-1 β (IL-1 β) adalah sitokin pro-inflamasi poten yang penting untuk respons pertahanan host terhadap infeksi dan cedera.²³ Ia juga merupakan yang paling terkarakterisasi dan paling banyak dipelajari dari 11 anggota keluarga IL-1. Ia diproduksi dan disekresikan oleh berbagai jenis sel meskipun sebagian besar penelitian difokuskan pada produksinya di dalam sel-sel sistem imun bawaan, seperti monosit dan makrofag. Ia diproduksi sebagai prekursor 31 kDa yang tidak aktif, disebut pro-IL-1 β , sebagai respons terhadap motif molekuler yang dibawa oleh patogen yang disebut '*patogen associated molecular patterns*' (PAMPs). PAMP bekerja melalui reseptor pengenalan pola (PRR's) pada makrofag untuk mengatur jalur yang mengendalikan ekspresi gen.²⁴

2.1.2. Peran IL-1 β pada Penyembuhan Luka Bakar

Kadar mediator pro-inflamasi yang abnormal, seperti faktor nekrosis interleukin-1 β (IL-1 β) telah dilaporkan baik secara sistemik maupun lokal pada pasien luka bakar, yang menunjukkan bahwa mediator ini terlibat secara sentral dalam pembentukan lingkungan patofisiologis luka bakar. IL-1 β terlibat secara sentral dalam respons

inflamasi, menjadikannya penanda yang baik untuk keseluruhan keadaan inflamasi setelah cedera luka bakar.²⁵

2.2. *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- α)

2.2.1. Definisi

Faktor nekrosis tumor (TNF) sitokin inflamasi berperan penting dalam mengatur respons imun inflamasi.²⁶ *Tumor necrosis factor alpha* (TNF- α) adalah sitokin yang memiliki efek pleiotropik pada berbagai jenis sel. Ia telah diidentifikasi sebagai pengatur utama respons inflamasi dan diketahui terlibat dalam patogenesis beberapa penyakit inflamasi dan autoimun. Secara struktural, TNF- α adalah protein homotrimer yang terdiri dari 157 asam amino, yang sebagian besar dihasilkan oleh makrofag yang teraktivasi, limfosit T, dan sel pembunuh alami. Secara fungsional, ia diketahui memicu serangkaian berbagai molekul inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin lainnya. TNF- α ada dalam bentuk yang larut dan transmembran. TNF- α transmembran (tmTNF- α) adalah bentuk prekursor yang awalnya disintesis dan harus diproses oleh enzim pengubah TNF- α (TACE), metaloproteinase disintegrin yang terikat membran, untuk dilepaskan sebagai TNF- α yang larut (TNF- α).²⁷

2.2.2. Peran TNF- α pada Penyembuhan Luka Bakar

TNF- α , salah satu jenis TNF, berperan penting dalam fase inflamasi penyembuhan luka. TNF- α tidak hanya menstimulasi

respons imun tubuh tetapi juga merekrut sel imun ke lokasi luka. Selain itu, TNF- α mengaktifkan proliferasi fibroblas dan pembuluh darah baru, pembentukan keratinosit, dan ekspresi faktor pertumbuhan.²⁸ Selama penyembuhan luka normal, faktor nekrosis tumor alfa (TNF- α) mencapai Ekspresi tertingginya antara 12 dan 24 jam setelah cedera. TNF- α adalah sitokin yang memainkan peran penting dalam sistem imun, dan peningkatan konsentrasinya pada tahap ini dikaitkan dengan respons inflamasi signifikan yang bertujuan untuk membuang patogen dan sel-sel mati dari area luka. Selama fase ini, aktivitas TNF- α dapat memicu serangkaian peristiwa biologis, termasuk aktivasi sel imun, proliferasi fibroblas, dan produksi faktor pertumbuhan yang mendorong regenerasi jaringan. Sebagai sitokin inflamasi, TNF-alfa memiliki dampak besar pada pengaturan respons inflamasi dan penyembuhan jaringan. Meskipun TNF-alfa bermanfaat pada tahap awal penyembuhan luka, Ekspresi yang terlalu tinggi atau respons inflamasi yang berkepanjangan dapat menyebabkan masalah, seperti pembentukan jaringan parut yang berlebihan, yang menghambat proses penyembuhan luka.^{29,30}

TNF- α memediasi kelangsungan hidup dan proliferasi keratinosit melalui jalur pensinyalan reseptor TNF (TNFR)/faktor nuklir- κ B (NF- κ B). TNF- α mengatur sekresi sitokin dalam keratinosit dan bekerja sama dengan IL-1 untuk memodulasi

fibroblas. Baru-baru ini, ditemukan bahwa TNF- α menginduksi fosforilasi AKT (p-AKT) dalam iSC, dan sinyal AKT mengaktifkan protein β -catenin hilir.³¹

2.3. Luka Bakar

2.3.1. Definisi

Luka bakar (*combustio/burn*) adalah cedera (*injury*) sebagai akibat kontak langsung atau terpapar dengan sumber-sumber panas (*thermal*), Listrik (*electrict*), zat kimia (*chemycal*), atau radiasi (*radiation*).³² Faktor penting lainnya yang secara langsung mempengaruhi tingkat keparahan cedera meliputi lokasi luka bakar, suhu dan waktu paparan sumber panas, dengan efek sinergis di antara semuanya.²

2.3.2. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan luka bakar:³²

a. Luka Bakar Termal

Luka bakar *thermal* (panas) disebabkan oleh karena terpapar atau kontak dengan api, cairan panas atau objek-objek panas lainnya.

b. Luka Bakar Kimia

Luka bakar *chemical* (kimia) disebabkan oleh kontaknya jaringan kulit dengan asam atau basa kuat. Konsentrasi zat kimia, lamanya kontak dan banyaknya jaringan yang terpapar menentukan luasnya injuri karena zat kimia ini. Luka bakar

kimia dapat terjadi misalnya karena kontak dengan zat-zat pembersih yang sering dipergunakan untuk keperluan rumah tangga dan berbagai zat kimia yang digunakan dalam bidang industri, pertanian dan militer. Lebih dari 25.000 produk zat kimia diketahui dapat menyebabkan luka bakar kimia.

c. Luka Bakar Elektrik

Luka bakar *electric* (listrik) disebabkan oleh panas yang digerakan dari energi listrik yang dihantarkan melalui tubuh. Berat ringannya luka dipengaruhi oleh lamanya kontak, tingginya voltage dan cara gelombang elektrik itu sampai mengenai tubuh.

d. Luka Bakar Radiasi

Luka bakar *radiation* (radiasi) disebabkan oleh terpapar dengan sumber radioaktif. Tipe injuri ini seringkali berhubungan dengan penggunaan radiasi ion pada industri atau dari sumber radiasi untuk keperluan terapeutik pada dunia kedokteran. Terbakar oleh sinar matahari akibat terpapar yang terlalu lama juga merupakan salah satu tipe luka bakar radiasi.

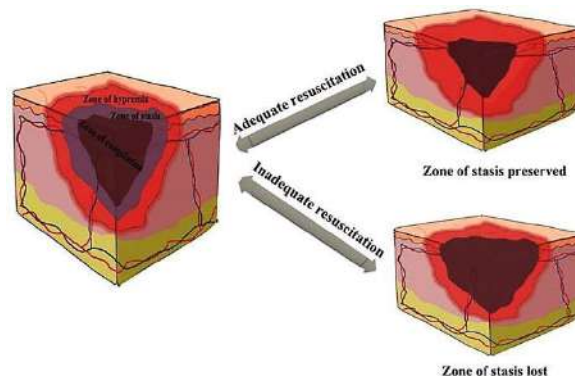
2.3.3. Etiopatogenesis Luka Bakar

Berdasarkan derajatnya, luka bakar dibagi menjadi fase akut, fase subakut dan fase lanjut. Pada fase akut terjadi gangguan keseimbangan sirkulasi cairan dan elektrolit akibat cedera termis bersifat sistemik yang dapat mengakibatkan terjadinya syok

hipovolemik. Fase sub akut berlangsung setelah syok berakhir yang ditandai dengan keadaan hipermetabolisme, infeksi hingga sepsis serta inflamasi dalam bentuk SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*). Luka terbuka akibat kerusakan jaringan (kulit dan jaringan di bawahnya) menimbulkan inflamasi, sepsis dan penguapan cairan tubuh disertai panas atau energi.³³ Masalah yang terjadi adalah kerusakan atau kehilangan jaringan akibat kontak dengan sumber panas. Luka yang terjadi menyebabkan proses inflamasi dan infeksi, masalah penutupan luka pada luka telanjang atau tidak berepitel luas dan atau pada struktur atau organ-organ fungsional, dan keadaan hipermetabolisme.^{33,34} Fase lanjut berlangsung setelah fase subakut hingga pasien sembuh. Penyulit pada fase ini adalah parut yang hipertrofik, keloid gangguan pigmentasi, deformitas dan timbulnya kontraktur.³⁴

2.3.4. Patofisiologi Luka Bakar

Luka bakar dapat menjadi nekrosis koagulatif pada berbagai lapisan kulit dan jaringan di bawahnya. Karena fungsi utamanya sebagai penghalang fisiologis yang melindungi jaringan di bawahnya, kulit biasanya membatasi penyebaran kerusakan ke lapisan yang lebih dalam, tetapi tingkat kerusakan ditentukan oleh suhu, energi yang ditransmisikan oleh agen penyebab, dan durasi paparan. Pada prinsipnya, lokasi luka bakar kulit dapat dibagi menjadi tiga zona:²



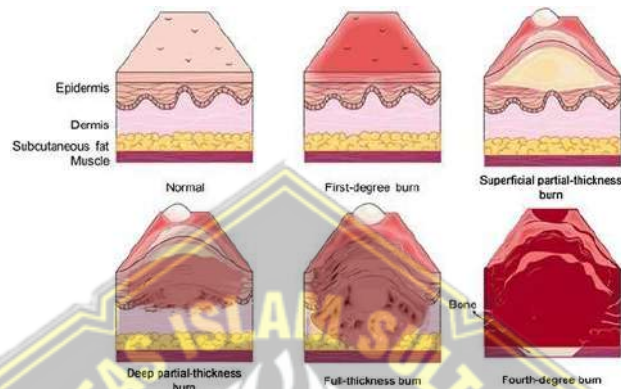
Gambar 2.1. Zona luka bakar¹⁸

- 1) Zona koagulasi, mewakili area nekrosis dengan kerusakan jaringan ireversibel yang terjadi pada saat cedera
- 2) Zona stasis, mengelilingi zona koagulasi dan mengalami kerusakan sedang akibat transudat vaskular, peningkatan faktor vasokonstriktor, serta reaksi inflamasi lokal, yang mengakibatkan gangguan perfusi jaringan. Bergantung pada lingkungan luka, zona tersebut dapat pulih atau berkembang menjadi nekrosis
- 3) Zona hiperemia, dengan pembuluh darah yang melebar akibat peradangan. Zona ini ditandai dengan peningkatan aliran darah ke jaringan sehat tanpa banyak risiko nekrosis, kecuali jika terjadi sepsis berat atau hipoperfusi berkepanjangan.

2.3.5. Klasifikasi Luka Bakar

Luka bakar dapat diklasifikasikan menurut sejumlah faktor, termasuk kedalamannya, etiologi, dan persentase luas permukaan tubuh yang terkena.² Untuk menentukan kedalaman luka bakar secara akurat, empat komponen penting harus dievaluasi yaitu

tampilan, pucat karena tekanan, nyeri, dan sensasi. Komponen-komponen ini mengklasifikasikan luka bakar ke dalam beberapa tingkatan berdasarkan ketebalannya menurut Kriteria Luka Bakar Amerika.³⁵



Gambar 2.2. Klasifikasi Luka Bakar³⁶

a. Luka bakar superfisial (*Superficial Burns*)

Luka bakar superfisial (derajat I) hanya melibatkan epidermis. Luka bakar ini bisa berwarna merah muda hingga merah, tanpa lepuh, kering, dan bisa terasa agak nyeri. Luka bakar superfisial sembuh tanpa meninggalkan jaringan parut dalam waktu 5 hingga 10 hari.¹⁸

b. Luka bakar ketebalan sebagian (*Partial-Thickness Burns*)

Luka bakar derajat II, juga dikenal sebagai luka bakar ketebalan parsial superfisial, memengaruhi lapisan superfisial dermis. Lepuh sering terjadi dan mungkin masih utuh saat pertama kali dievaluasi. Setelah lepuh terbuka, dasar luka di bawahnya berwarna merah atau merah muda secara homogen dan akan memucat jika ditekan. Luka bakar ini terasa nyeri.

Penyembuhan biasanya terjadi dalam 2 hingga 3 minggu dengan jaringan parut minimal.

Luka bakar parsial-ketebalan yang dalam melibatkan dermis retikuler yang lebih dalam. Mirip dengan luka bakar parsial-ketebalan yang dangkal, luka bakar ini juga dapat muncul dengan lepuh yang utuh. Setelah lepuh dibersihkan, dasar luka yang mendasarinya akan berbintik-bintik dan akan perlahan memucat dengan tekanan. Pasien dengan luka bakar parsial-ketebalan mengalami nyeri minimal, yang mungkin hanya muncul dengan tekanan yang dalam. Luka bakar ini dapat sembuh tanpa operasi, tetapi membutuhkan waktu lebih lama, dan jaringan parut tidak dapat dihindari.¹⁹

c. Luka bakar ketebalan penuh (*Full-Thickness Burns*)

Luka bakar derajat III, yang juga dikenal sebagai luka bakar menyeluruh, adalah luka bakar yang paling parah dan memengaruhi lapisan kulit epidermis dan dermis. Luka bakar ini juga meluas hingga ke jaringan subkutan. Luka bakar ini menyebabkan kulit tampak kasar, kaku, dan kering. Pada kedalaman ini, area yang terkena tidak memucat karena tekanan akibat suplai darah yang terganggu. Saraf pada kedalaman ini juga rusak, sehingga pasien tidak merasakan sensasi atau nyeri. Luka bakar ini membutuhkan waktu lebih dari 8 minggu untuk sembuh dan memerlukan perawatan bedah.¹⁹

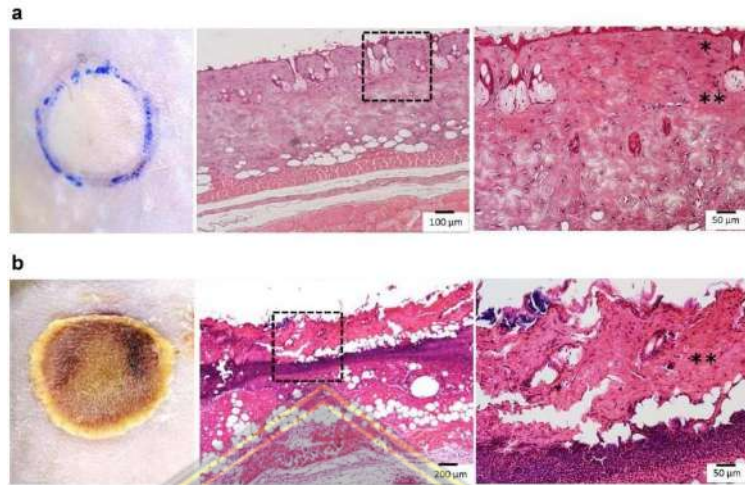
- d. Luka bakar meluas ke jaringan yang lebih dalam (*Charring Injury*)

Didefinisikan sebagai luka bakar derajat IV dan biasanya berwarna hitam dan seringkali mengakibatkan hilangnya jaringan yang terbakar, terjadi kerusakan seluruh kulit dan jaringan subkutan begitu juga pada tulang akan gosong.²

2.4. Luka bakar derajat III

Luka bakar derajat III meliputi destruksi total epidermis serta lapisan dermis dan jaringan yang ada di bawahnya. Warna luka bakar sangat bervariasi mulai dari warna putih hingga merah, coklat atau hitam. Daerah yang terbakar tidak terasa nyeri karena serabut sarafnya telah hancur.³⁷ Selain itu, luka bakar derajat III juga ditandai dengan adanya eskar.³⁸ Eskar merupakan sel-sel kulit mati yang mengelupas dan menutupi jaringan luka. Eskar yang tetap dipertahankan akan menghambat penyembuhan luka, pertumbuhan sel-sel yang baru, membuat bagian disekitar luka kehilangan protein dan membuat obat yang diberikan menjadi tidak efektif. Eskar memperlambat proses penyembuhan luka dikarenakan tidak terjadi epitelisasi secara spontan.³⁹ Berdasarkan alasan tersebut eskar harus dihilangkan atau dikelupas agar terjadi proses penyembuhan luka.⁴⁰

2.4.1. Gambaran histologis luka bakar derajat III⁴¹



Gambar 2.3. Makro dan mikroskopis luka bakar derajat tiga.⁴¹

a. Foto diambil segera setelah luka bakar tingkat tiga.

Kiri: foto lokasi luka di mana kulit yang terluka berubah menjadi putih. Tengah dan kanan: histologi area yang terluka. Lapisan epitelnya halus dan dermisnya seperti hialin. Gambar kanan menunjukkan pembesaran bingkai putus-putus memanjang di foto Tengah. Foto sebelah kanan menunjukkan edema jaringan, nekrosis, dan beberapa kehilangan pada epidermis; serat kolagen sulit dibedakan dari setiap serat karena degenerasi mirip hialin.

b. Gambar diambil 7 hari setelah luka bakar derajat tiga.

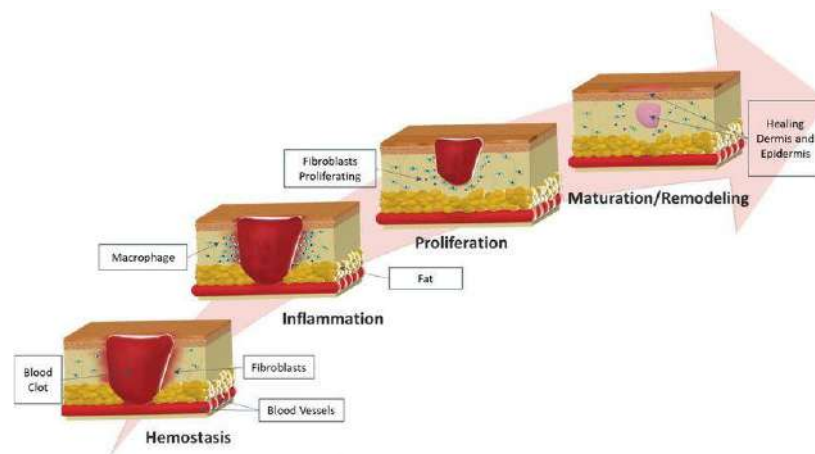
Kiri: bagian yang cedera ditutupi koreng. Tengah dan kanan: histologi area yang cedera. Area nekrosis pada dermis membesar. Gambar kanan menunjukkan pembesaran bingkai putus-putus memanjang di foto tengah. Tidak ada lapisan epitel

yang diamati; sebagian dermis hancur dan serpihan sel telah terkumpul.

2.5. Penyembuhan Luka Bakar

2.5.1. Definisi

Proses penyembuhan luka bakar adalah sejumlah proses yang berbeda yang harus dilakukan untuk memperbaiki kerusakan jaringan. Lingkungan yang optimal untuk proses penyembuhan luka bakar yang alami adalah lingkungan hangat, lembab dan tidak beracun. Proses penyembuhan luka bakar dibagi dalam tiga fase yaitu fase inflamasi, proliferasi dan maturasi atau remodeling yang merupakan perwujudan ulang jaringan. Ketika cedera terjadi, fase awal selalu berupa keluarnya cairan limfatik dan darah. Selama proses inilah hemostasis yang memadai tercapai. Baik jalur koagulasi ekstrinsik maupun intrinsik diaktifkan dan berperan dalam menghentikan kehilangan darah. Agregasi trombosit mengikuti vasokonstriksi arteri ke lapisan endotel yang rusak. Pelepasan adenosin 5' difosfat (ADP) mengakibatkan penggumpalan trombosit dan memulai proses trombosis. Vasokonstriksi ini merupakan proses jangka pendek yang segera diikuti oleh vasodilatasi, yang memungkinkan masuknya sel darah putih dan lebih banyak trombosit.⁴²



Gambar 2.4. Representasi skematis tahapan penyembuhan luka.⁴³

a. Fase inflamasi (*The inflammatory phase*)

Fase ini dimulai hemostasis dan kemotaksis. Baik sel darah putih maupun trombosit yang akan membuat percepatan inflamasi dengan melepaskan lebih banyak mediator dan sitokin. Selain faktor pertumbuhan yang berasal dari trombosit, faktor lain mendorong degradasi kolagen, transformasi fibroblas, pertumbuhan pembuluh darah baru, dan re-epitPCRsi. Semua proses tersebut terjadi pada saat yang sama tetapi secara tersinkronisasi. Mediator seperti serotonin dan histamin dilepaskan dari trombosit dan meningkatkan permeabilitas sel. Faktor pertumbuhan yang berasal dari trombosit menarik fibroblas dan, bersama dengan faktor pertumbuhan transformasi, meningkatkan pembelahan dan memperbanyak fibroblas. Fibroblas, pada gilirannya, mensintesis kolagen.

Sel-sel inflamasi, seperti neutrofil, monosit, dan sel endotel, menempel pada perancah fibrin yang dibentuk oleh

aktivasi trombosit. Neutrofil memungkinkan fagositosis serpihan sel dan bakteri, sehingga memungkinkan dekontaminasi luka.⁴⁴

b. Fase proliferasi (*The proliferative*)

Fase proliferasi atau granulasi berlangsung secara terus-menerus. Pada hari ke-5 hingga ke-7, fibroblas mulai membentuk kolagen dan glikosaminoglikan baru. Proteoglikan ini membentuk inti luka dan membantu menstabilkan luka. Kemudian, reepitelialisasi mulai terjadi dengan migrasi sel dari tepi luka dan tepi yang berdekatan. Awalnya, hanya lapisan tipis sel epitel superfisial yang terbentuk, tetapi lapisan sel yang lebih tebal dan lebih tahan lama akan menjembatani luka seiring waktu. Selanjutnya, neovaskularisasi terjadi melalui angiogenesis, pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh yang ada, dan vaskulogenesis, yang merupakan pembentukan pembuluh darah baru dari sel progenitor endotel *endothelial progenitor cells* (EPC). Setelah serat kolagen terbentuk pada kerangka fibrin, luka mulai matang. Luka juga mulai berkontraksi dan difasilitasi oleh pengendapan fibroblas dan miofibroblas yang berkelanjutan.⁴²

c. Fase pematangan (*The maturational or remodeling*)

Fase pematangan atau remodeling dimulai sekitar minggu ke-3 dan dapat berlangsung hingga 12 bulan. Kolagen yang berlebih akan terdegradasi, dan kontraksi luka juga akan

mencapai puncaknya sekitar minggu ke-3. Kontraksi luka terjadi jauh lebih besar pada penyembuhan sekunder dibandingkan penyembuhan primer. Kekuatan tarik maksimal luka sayatan terjadi setelah sekitar 11 hingga 14 minggu. Bekas luka yang dihasilkan tidak akan pernah memiliki kekuatan 100% dari kekuatan awal luka dan hanya sekitar 80% dari kekuatan tarik.⁴⁵

2.5.2. Peran Keseimbangan Kelembapan dalam Penyembuhan Luka

Bakar

Dalam proses penyembuhan luka, sangat penting untuk menciptakan lingkungan yang lembap, hal tersebut akan mempercepat penyembuhan luka secara signifikan. Namun apabila sebaliknya yaitu ketika kelembapan berlebihan dalam kasus luka bakar dapat menyebabkan maserasi kulit di sekitar area luka. Di sisi lain, merawat luka dalam kondisi kering dapat menghambat proliferasi sel dan kolagen. Pendekatan perawatan luka yang berfokus pada menjaga tingkat kelembapan yang seimbang disebut sebagai pembalutan modern (*modern dressing*) Salah satu metode yang efektif untuk memastikan lingkungan luka yang lembap adalah penggunaan pembalutan primer, yang mematuhi prinsip pembalutan modern (*moisture balance*).⁴⁶ Perawatan luka dalam keadaan lembap akan memicu percepatan fibrinolisis, mempercepat angiogenesis, menurunkan risiko infeksi, memicu percepatan pembentukan *growth factor*, dan mempercepat pembentukan sel aktif. Penyembuhan luka

terbentuk dalam beberapa fase yaitu respon vaskular, inflamasi, proliferasi, pemulihan jaringan, dan diakhiri dengan fase remodeling.⁴⁷ Namun, ada beberapa faktor yang juga dapat membuat penyembuhan luka menjadi terhambat antara lain: sistem imun, usia, stres, dan beberapa jenis penyakit.⁴⁸

2.6. Terapi Standar Untuk Luka Bakar Derajat III Dengan *Silver Sulfadiazine* (Burnazine®)

Sulfadiazine perak topikal (SSD) merupakan terapi antimikroba efektif yang digunakan untuk mencegah infeksi luka bakar dan mempercepat penyembuhan. Silver sulphadiazine (SSD 1%), hingga saat ini, diperkenalkan oleh Charles Fox Jr. Memiliki efek antibakteri yang kuat, meningkatkan tingkat kelangsungan hidup pasien luka bakar parah dan dilaporkan kurang kaustik dibandingkan dengan perak nitrat. Silver sulphadiazine masih sering disebut sebagai 'the gold standard' dalam pengobatan luka bakar ketebalan parsial karena sifat antibakterinya yang sangat baik dan ketersediaannya yang luas. Keberhasilan SSD yang meluas terletak pada cara kerjanya. Perak mengikat asam amino, dinding sel bakteri, DNA dan mengganggu rantai pernapasan. Situs target yang berbeda ini menghasilkan efek antibakteri yang luas dan tingkat resistensi yang rendah. Sulphadiazine adalah antibiotik sulfonamida yang tidak benar-benar bertindak di sini sebagai agen antibakteri, tetapi dalam SSD telah dilaporkan menunjukkan efek sinergis spesifik dalam kombinasi dengan Ekspresi perak 'subinhibitor'.⁴⁹

2.7. Hipoksia

Hipoksia merupakan kondisi dimana tidak terdapat pasokan oksigen ke jaringan, dampak negatif dari berbagai tipe sel yang terpapar hipoksia yang berkepanjangan dapat menyebabkan apoptosis sel. Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa lingkungan hipoksia dapat mengakibatkan adhesi, proliferasi, dan pembaharuan dari MSCs. Lingkungan hipoksia menyebabkan sintesis molekul *Hypoxic Induce Factor* (HIF), yang membantu MSCs memproduksi lebih banyak sitokin.

2.8. *Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSC)

2.8.1. Definisi

Exosome dari *mesenchymal stem cell* (MSC) adalah vesikel ekstraseluler berukuran 30-150 nm yang berperan dalam komunikasi antar sel. Mereka memiliki marker permukaan spesifik seperti CD63, CD81, dan CD9, yang digunakan untuk identifikasi dan isolasi. *Exosome* dibagi berdasarkan ukuran menjadi tiga jenis utama: small *exosome* (30-50 nm), medium *exosome* (50-100 nm), dan large *exosome* (100-150 nm). *Exosome* MSC mengandung berbagai molekul bioaktif seperti miRNA, protein, dan lipida yang berkontribusi pada regenerasi jaringan, anti-inflamasi, dan modulasi imun, menjadikannya potensi besar dalam terapi medis.⁵⁰⁻

2.8.2. Kandungan *Exosome* MSC

Exosome dari *mesenchymal stem cell* (MSC) mengandung berbagai molekul bioaktif yang memainkan peran penting dalam mengatasi luka bakar. Berikut adalah beberapa komponen utama dari *exosome* MSC yang berkontribusi dalam mengatasi luka bakar:

a. miRNA (MicroRNA)

Exosome MSC mengandung sejumlah miRNA yang diketahui mengatur ekspresi gen dan memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel.^{53,54} Selain itu, miRNA-92a dan miRNA-146a memiliki sifat anti-inflamasi yang membantu mengurangi peradangan.^{55,56}

b. Protein dan Enzim

Exosome MSC mengandung berbagai protein dan enzim yang mendukung regenerasi jaringan dan pertumbuhan sel.^{57,58}

c. Lipida

Komponen lipida dalam *exosome* MSC juga memainkan peran dalam memodulasi respon seluler dan menjaga integritas membran sel. Lipida seperti *ceramide* dan *sphingomyelin* dapat berperan dalam proses penyembuhan luka dan perbaikan jaringan.⁵⁹

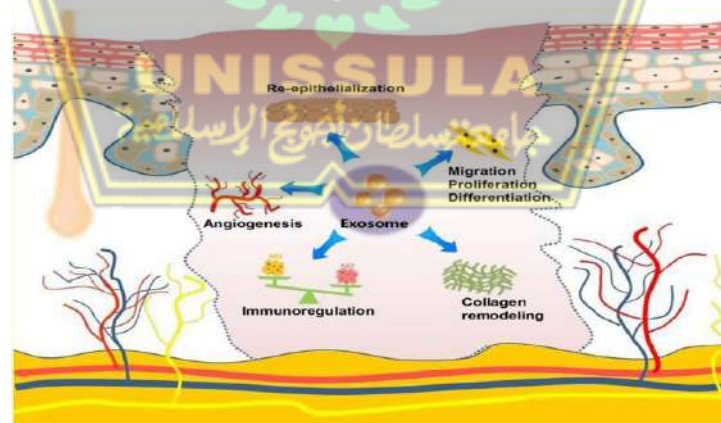
d. *Cytokine* dan *Growth Factors*

Exosome MSC mengandung berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan seperti PDGF, VEGF, dan IGF-1 yang berperan

dalam angiogenesis, proliferasi sel, dan penyembuhan luka.^{60,61}

2.9. Efek *Exosome hypoxia mesenchymal stem cell* (EH-MSCs) terhadap Ekspresi IL-1 β , TNF- α dan Perbaikan anatomi luka pada kondisi luka bakar derajat III

Luka bakar menyebabkan nekrosis koagulatif pada berbagai lapisan kulit dan jaringan di bawahnya. Karena fungsi utamanya sebagai penghalang fisiologis yang melindungi jaringan di bawahnya, kulit biasanya membatasi penyebaran kerusakan ke lapisan yang lebih dalam, tetapi tingkat kerusakan ditentukan oleh suhu, energi yang ditransmisikan oleh agen penyebab, dan durasi paparan.⁶⁴ Luka bakar menyebabkan berbagai proses patofisiologi lokal dan sistemik dalam tubuh. Seperti semua jenis luka, luka bakar memicu proses peradangan berkelanjutan yang terkait dengan pelepasan berbagai sitokin.⁶⁵

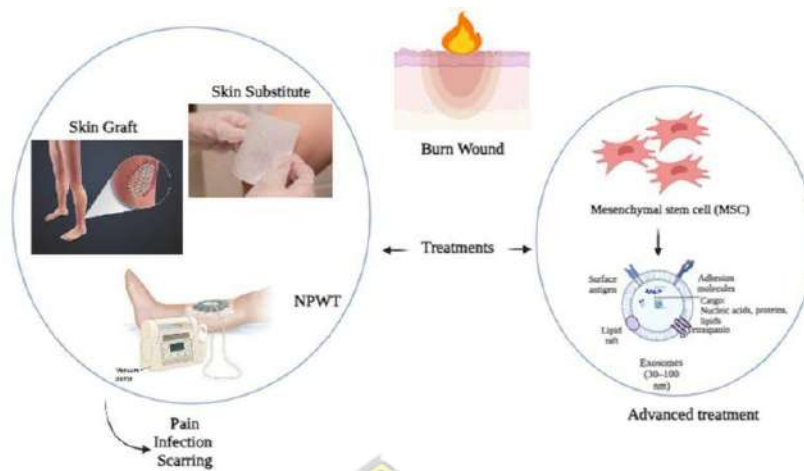


Gambar 2.5. Peran eksosom pada kulit dan penyembuhan luka.⁶⁶

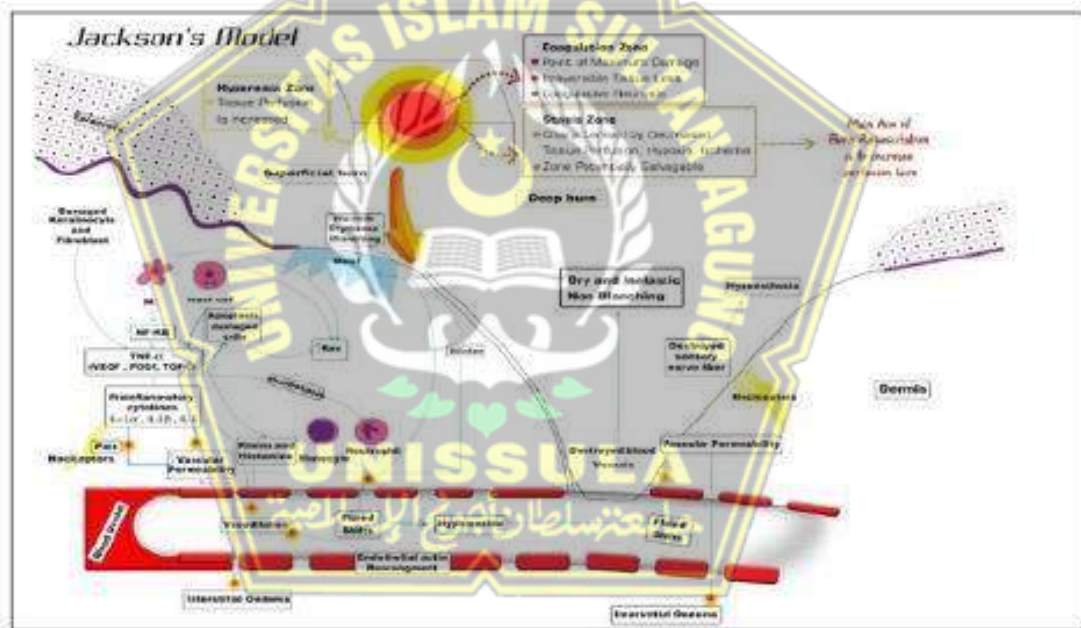
Eksosom turunan MSC diketahui memiliki efek positif pada penyembuhan luka bakar dan jaringan parut. Eksosom mengandung protein yang terlibat dalam aktivasi granulosit dan leukosit dan regulasi migrasi sel

yang terlibat dalam respon imun. Eksosom mendorong migrasi dan proliferasi sel, meningkatkan perkembangan pembuluh darah baru, dan mengurangi peradangan untuk membantu penyembuhan luka. Eksosom membawa RNA, lipid, dan protein yang memulai jalur pertumbuhan, mendorong pembentukan pembuluh darah baru, dan mengendalikan ekspresi gen tertentu. Eksosom juga berperan dalam perombakan matriks dan melindungi sel dari apoptosis, yang pada akhirnya mendorong penyembuhan jaringan yang efektif.⁶⁶

Eksresi mediator inflamasi (sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan) dalam area yang rusak sangat penting untuk proses penyembuhan luka.^{67,68} Eksosom dari berbagai jenis MSC dapat mengendalikan peradangan dengan menurunkan pro-inflamasi serta sitokin dan kemokin seperti faktor nekrosis tumor (TNF- α) dan interleukin-1 (IL-1).⁶⁸ IL-1 β dan TNF- α dapat mengendalikan berbagai proses di area luka, termasuk proliferasi keratinosit dan fibroblas proliferasi dan diferensiasi, sintesis dan penghancuran matriks ekstraseluler (ECM) protein, dan regulasi respon imun.^{67, 69, 70}



Gambar 2.6. Peran eksosom dalam penyembuhan luka bakar dan potensi kegunaannya dalam regenerasi dan perbaikan.⁶⁶



Gambar 2.7. Mekanisme patofisiologi luka bakar pada kulit menurut model Jackson.⁷¹

Pada kulit yang mengalami luka bakar derajat III menunjukkan kondisi kerusakan yang melibatkan seluruh lapisan epidermis dan dermis, termasuk hilangnya struktur penunjang kulit seperti folikel rambut, kelenjar keringat, dan ujung saraf sensorik, bahkan dapat mencapai kerusakan hingga jaringan subkutan, otot atau tulang. Kondisi makroskopis pada kulit yang

mengalami luka bakar derajat III akan menunjukkan warna coklat tua hingga menghitam dengan kondisi luka yang keras dan kaku akibat hilangnya serat kolagen dengan area sekitar menunjukkan kemerahan (zona hiperemia).¹⁸ Sementara itu, pada bagian tengah luka menunjukkan zona nekrosis yang lebih jelas ditandai dengan warna yang semakin menggelap. Selain itu, adanya inflamasi berlebihan, kondisi hipoksia, dan disorganisasi matriks akan berujung parut hipertrofik.

Exosome-MSC merupakan vesikel ekstraseluler berukuran 30–150 nm yang mengandung berbagai molekul bioaktif, termasuk protein, lipid, mRNA, dan mikroRNA, yang berperan dalam modulasi *micro-environment* luka. Pada luka bakar derajat III, exosome MSC dapat mengurangi inflamasi melalui induksi perubahan fenotipe makrofag dari M1 proinflamasi menjadi M2 antiinflamasi, merangsang angiogenesis melalui kargo pro-angiogenik seperti VEGF dan miR-126, serta meningkatkan proliferasi dan migrasi keratinosit dan fibroblas untuk membentuk jaringan granulasi yang kaya vaskularisasi pada area luka. Selain itu, exosome MSC berperan dalam remodeling matriks ekstraseluler dengan mengatur keseimbangan aktivitas protein MMP/TIMP, mengurangi diferensiasi myofibroblast, dan mengarahkan deposisi kolagen tipe I yang lebih teratur, sehingga membantu pembentukan jaringan kulit baru yang secara anatomi lebih mendekati struktur normal.⁷⁷

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Luka bakar mengaktifkan sel imun dan produksi sitokin yang diatur oleh pola molekuler terkait kerusakan (DAMP). Peran DAMPs dalam dua jenis respons terhadap cedera luka bakar dan syok hemoragik traumatis. DAMPs sebagai biomarker untuk kedua kondisi tersebut, serta kemungkinan perannya dalam memodulasi respons imun dan dalam membatasi respons inflamasi yang berlebihan. Sejumlah besar DAMP, atau “alarmin” telah dijelaskan untuk memulai dan mengabadikan respons inflamasi sistemik pasca-trauma dan/atau noninfeksi.²² Segala jenis kejadian traumatik/cedera jaringan yang dipicu oleh trauma mekanis, trauma termal, atau trauma metabolik, seperti yang dipromosikan oleh cedera iskemia/reperfusi, asidosis, dan hipoksia/hipoksemia, memicu pelepasan DAMP.^{22, 71} Respons steril ini berfungsi sebagai strategi pertahanan yang ditujukan untuk mempertahankan dan memulihkan homeostasis. Ketika DAMP dilepaskan di lingkungan ekstraseluler, mereka mampu mengaktifkan imunitas bawaan dan adaptif. Sel imunitas bawaan seperti sel penyaji antigen (APC), sel dendritik (DC), atau neutrofil (PMN) memiliki reseptor pengenalan pola (PRR) yang mampu mengenali DAMP. Setelah aktivasi PRR, PMN, dan APC, produksi sitokin, kemokin, dan faktor terlarut lainnya dimulai.¹⁸ Trauma memiliki respons imun terkait cedera yang serupa, di mana DAMP dilepaskan secara besar-besaran pada cedera muskuloskeletal dan menimbulkan peradangan sistemik

yang meluas. Pola molekuler terkait kerusakan (DAMPS) berperan dalam patofisiologi respons inflamasi sistemik pasca cedera yang dimulai segera setelah cedera.^{3, 22, 71} Respons ini terjadi pada pasien trauma, bedah, dan pasien sakit kritis, meskipun pada luka bakar, respons ini memiliki tingkat keparahan dan besarnya yang unik.^{72, 73} DAMP dikeluarkan setelah kerusakan jaringan, dan aktif secara imunologis dan relevan secara klinis.

Sensor adalah reseptor sel (reseptor pengenalan patogen-PPR) yang mengenali DAMP atau PAMP. Yang paling umum dikenal adalah reseptor tol-like-4 (TLR4) yang mengikat LPS dan memulai respons peradangan. Kerusakan yang terkait dengan DAMP yang ada di jaringan yang cedera mengaktifkan sel inflamasi melalui reseptor seperti tol (TLR) dan reseptor seperti NOD (NLR).³ Pada luka bakar, DAMP dihasilkan oleh kerusakan jaringan yang dimediasi oleh luka bakar dan dikenali melalui TLR dan reseptor mirip NOD (NLR).¹⁷ Jalur inflamasi hilir diaktifkan bersama dengan beberapa mediator inflamasi (IL-1, IL-6, IL-18, dan TNF) yang menyebabkan SIRS.^{17, 71} Jalur TLR yang bergantung pada MyD88 mendorong polarisasi M1 dan ekspresi sitokin pro-inflamasi. Reseptor mirip Toll sangat penting dalam regulasi proses polarisasi M1.²¹ Selama proses penyembuhan luka refrakter, fungsi makrofag tidak normal seperti ketidakseimbangan makrofag M1/M2.

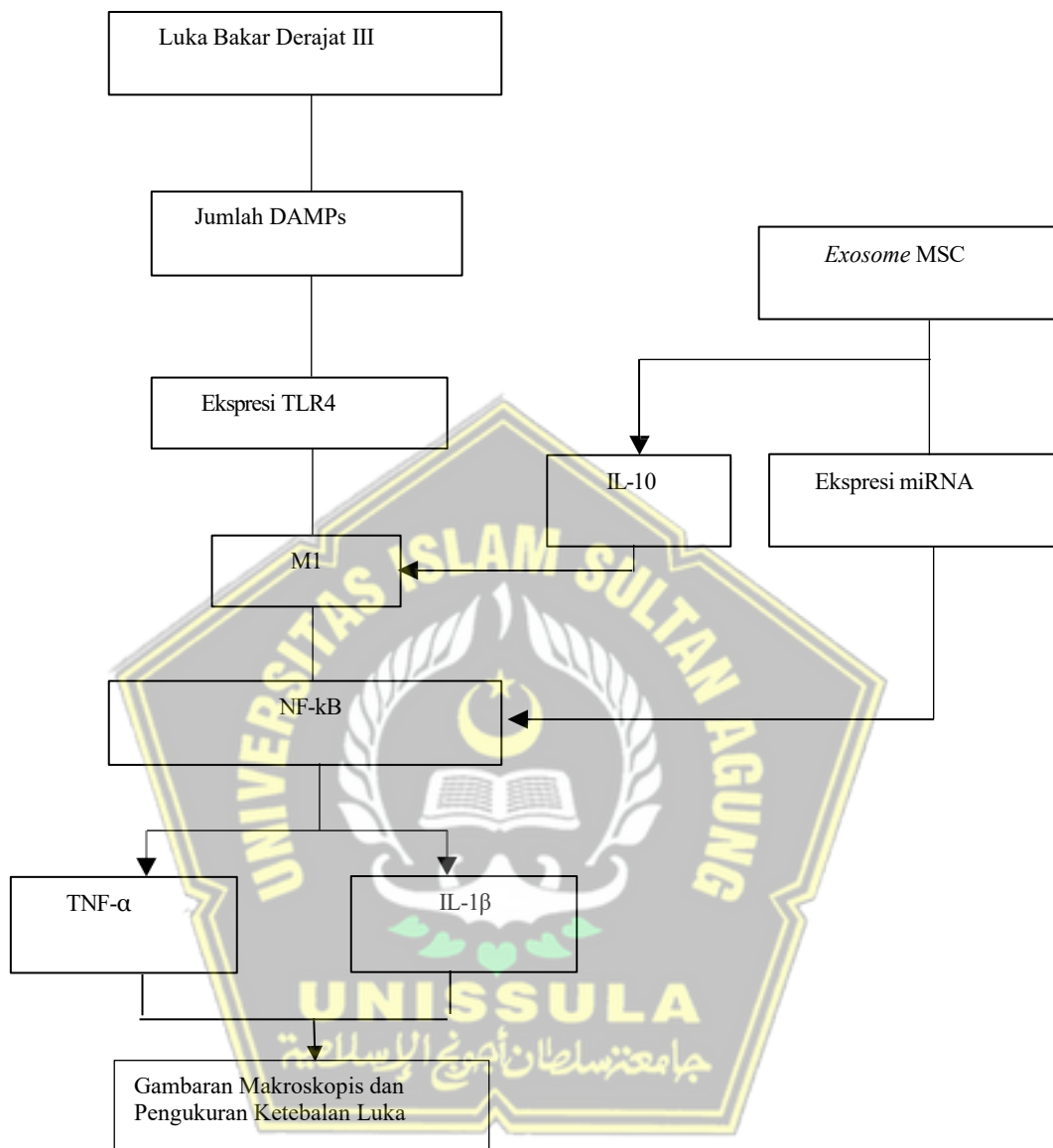
Eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal (MSC) memiliki beragam fungsi dalam mengatur penyembuhan luka dan peradangan; namun, mekanisme molekuler eksosom yang berasal dari MSC tali pusat manusia (hUCMSC) dalam mengatur peradangan yang disebabkan oleh luka bakar.

Ditemukan bahwa luka bakar secara signifikan meningkatkan reaksi peradangan tikus atau makrofag yang terpapar lipopolisakarida (LPS), meningkatkan Ekspresi faktor nekrosis tumor α (TNF- α) dan interleukin-1 β (IL-1 β) dan menurunkan Ekspresi IL-10. Pemberian eksosom hUCMSC berhasil membalikkan reaksi ini. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa miR-181c dalam eksosom memainkan peran penting dalam mengatur peradangan. Dibandingkan dengan eksosom hUCMSC kontrol, eksosom hUCMSC yang mengekspresikan miR-181c secara berlebihan lebih efektif menekan jalur pensinyalan TLR4 dan meredakan peradangan pada tikus yang terbakar. Pemberian hUCMSC-eksosom yang mengekspresikan miR-181c atau pengurangan TLR4 secara signifikan mengurangi ekspresi TLR4 yang diinduksi LPS oleh makrofag dan reaksi inflamasi. Singkatnya, ekspresi miR-181c dalam hUCMSC-eksosom mengurangi inflamasi yang disebabkan oleh luka bakar dengan menurunkan regulasi jalur pensinyalan TLR4.⁹

Mekanisme Aktivasi NF- κ B jalur kanonik Inisiasi mekanisme ini dipromosikan oleh aksi beberapa sinyal: sitokin, seperti TNF α , dan interleukin (IL-1 β), yang mengikat reseptornya (reseptor TNF-R1 dan IL-1 β R); pola molekuler terkait patogen (PAMPS) dan molekul terkait yang dilepaskan oleh sel inang yang dikenali oleh TLR (reseptor mirip tol); sinyal stres, dan reseptor sel T dan B.^{1, 52} NF- κ B kemudian mendorong induksi sejumlah besar gen inflamasi (TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-12p40) dan siklooksigenase.^{21, 11} NF- κ B dalam sel imun bawaan, NF- κ B memainkan peran penting dalam induksi dan fungsi gen pro-inflamasi baik dalam sistem

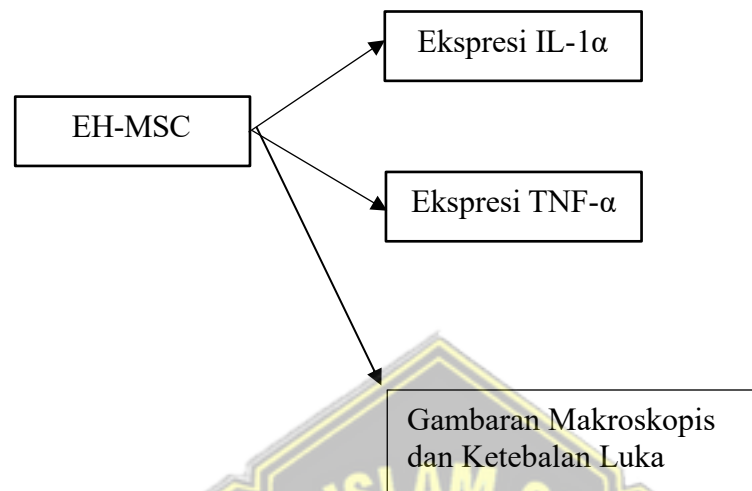
imun bawaan maupun adaptif, di mana sel-sel seperti makrofag, sel dendritik, dan neutrofil terlibat secara aktif. Sel-sel ini mengekspresikan reseptor pengenalan pola (PRR), yang mengenali berbagai komponen mikroba sebagai (PAMP). Setelah distimulasi oleh PAMP dan DAMP, monosit diaktifkan menjadi makrofag, yang menghasilkan molekul antimikroba dan melepaskan sitokin dan kemokin. Kemudian, makrofag yang diaktifkan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis makrofag dengan fenotip yang berbeda, yang dinamakan M1 dan M2.^{12, 21} Jenis-jenis ini dikarakterisasi berdasarkan fungsi dan ekspresi sitokin. Makrofag M1 menghasilkan sitokin pro-inflamasi, termasuk IL-1, IL-6, dan TNF α , bersama dengan kemokin. Selain itu, M1 memobilisasi neutrofil, yang mendorong respons bawaan terhadap patogen. Lebih jauh lagi, makrofag M1 menstimulasi diferensiasi sel T, seperti sel Th1 dan Th17, yang secara berturut-turut memediasi inflamasi.⁶⁹

NF-kB mengatur keseimbangan proinflamasi dan antiinflamasi, pada IL-1 β yang diproduksi dari kratinosit, neutrofill, makrofag berperan dalam menyembuhkan luka, mencegah infeksi luka dan menginduksi fibroblas tetapi pada luka bakar IL-1 β bisa menyebabkan jaringan parut, dan pada TNF-a sebagai indikator proses penyembuhan luka.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

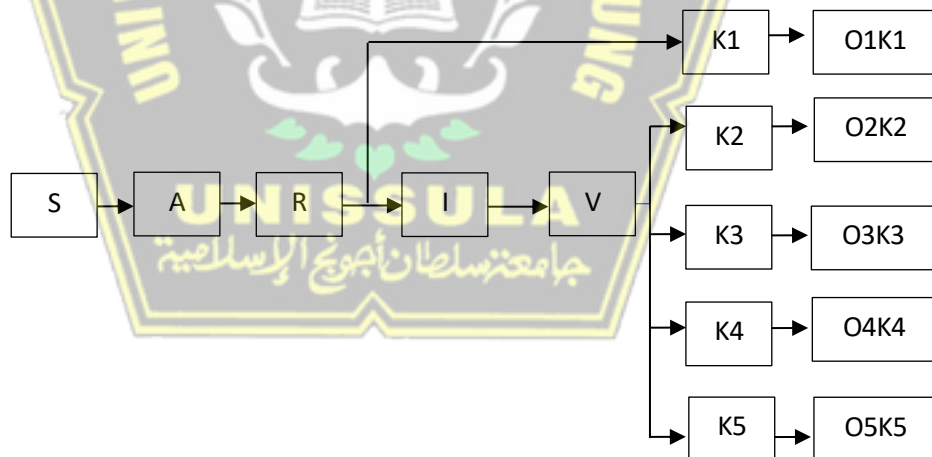
1. Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi IL-1 β pada Tikus model Wistar dengan luka bakar derajat III.
2. Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi TNF- α pada Tikus model Wistar dengan luka bakar derajat III.
3. Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap perbaikan anatomi luka pada Tikus Wistar model luka bakar derajat III.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental in vivo secara “*Post Test only Control Group Design*” dengan metode rancangan acak untuk setiap perlakuan. Dengan desain ini dapat memungkinkan evaluasi efek perlakuan pada kelompok eksperimen serta membandingkan langsung dengan kelompok kontrol. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara menggunakan prinsip non probability sampling. Sampel kulit yang digunakan berasal dari tikus model yang mengalami luka bakar derajat tiga. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok dengan rincian sebagai berikut :



Gambar 4.1. Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S = Sampel
- A = Aklimatisasi
- R = Random
- I = Induksi luka bakar derajat tiga

- V = Validasi luka bakar derajat tiga
- K1 = Tikus sehat tidak diberi perlakuan
- K2 = Tikus dengan luka bakar derajat dua diberi injeksi NaCl
- K3 = Tikus dengan luka bakar derajat tiga diberi *Silver Sulfadiazine* secara oles
- K4 = Tikus dengan luka bakar derajat tiga diberi EH-MSCs dosis 100 μg
- K5 = Tikus dengan luka bakar derajat tiga diberi EH-MSCs dosis 200 μg
- O1K1 = Observasi Ekspresi Gen IL-1 β dan Ekspresi Gen TNF- α K1
- O2K2 = Observasi Ekspresi Gen IL-1 β dan Ekspresi Gen TNF- α K2
- O3K3 = Observasi Ekspresi Gen IL-1 β dan Ekspresi Gen TNF- α K3
- O4K4 = Observasi Ekspresi Gen IL-1 β dan Ekspresi Gen TNF- α K4
- O5K5 = Observasi Ekspresi Gen IL-1 β dan Ekspresi Gen TNF- α K5

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel penelitian

4.2.1.1. Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Exosome Mesenchymal stem cell* dengan dosis 100 μg dan 200 μg .

4.2.1.2. Variabel Terikat

Variabel Terikat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi Gen IL-1 β , TNF- α , dan Perbaikan Anatomi Luka..

4.2.1.3. Variabel Prakondisi

Variabel Prakondisi dalam penelitian ini adalah paparan plat besi menjadi luka bakar derajat tiga.

4.2.1.4. Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah strain tikus Wistar, umur, jenis kelamin, berat badan, nutrisi / pakan tikus, dan kondisi lingkungan tempat pemeliharaan hewan coba.

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. *Exosome* dari *mesenchymal stem cell* (MSC)

Exosome dari *mesenchymal stem cell* (MSC) adalah mikrovesikel ekstraseluler yang mengandung berbagai molekul bioaktif seperti miRNA, protein, dan lipida yang berkontribusi pada regenerasi jaringan, anti- inflamasi, dan modulasi imun. *Exosome* MSC diisolasi dengan metode TFF. Media kultur disaring menggunakan filter 100 kDa dan 500 kDa. Validasi dilakukan dengan *flow cytometry* menggunakan penanda CD81, CD63, dan CD9. *Exosome hypoxia* MSC yang tervalidasi disimpan di tabung 2,5 mL pada suhu 2-8 °C.

Skala: Ordinal

4.2.2.2. Ekspresi Gen IL-1 β

Ekspresi IL-1 β adalah jumlah mRNA protein IL-1 β yang dianalisis dari sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke 5 setelah pemberian perlakuan luka bakar. Sampel jaringan kulit tikus seberat 5mg disimpan dalam RNA later dan kemudian diekstraksi mRNA. Analisis dilakukan dengan metode *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) yang disajikan dalam bentuk presentase.

Skala: Rasio

4.2.2.3. Ekspresi TNF- α

Ekspresi TNF- α merupakan ekspresi TNF- α yang dianalisis dari sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke 5 setelah pemberian perlakuan luka bakar. Sampel jaringan kulit tikus seberat 5mg disimpan dalam RNA later dan kemudian diekstraksi mRNA. Analisis dilakukan dengan metode *Reverse Transcriptase – Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) yang disajikan dalam bentuk presentase.

Skala: Rasio

4.2.2.4. Perbaikan Anatomi Luka

Gambaran makroskopis dan ketebalan perbaikan jaringan luka bakar pada hari ke-3 dan 5 setelah pemberian

E-MSC.

Skala : Ordinal

4.2.2.5. Pembuatan Luka Bakar

Pembuatan luka bakar pada tikus dilakukan dengan mencukur rambut dibagian dorsal tikus dengan menggunakan pisau cukur. Setelah itu, dilakukan anestesi menggunakan eter sampai tikus terlihat pingsan. Setelah itu dilakukan prosedur antiseptik dengan mengoleskan *polyvinylpyrrolidone ioine 1%* pada area yang akan dilakukan perlakuan yaitu di bagian proksimal punggung tikus. Luka bakar dibuat menggunakan plat logam tembaga dengan ukuran 2 x 2 cm². Plat logam dengan tebal 3mm, dipanaskan hingga menyala, lalu ditempelkan pada daerah yang sudah dibersihkan selama 15 detik.

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

Hewan percobaan yang digunakan dalam studi ini adalah tikus jantan galur wistar berusia 6-8 minggu dengan berat 200–250 gram dipilih untuk penelitian ini setelah dianggap layak oleh staf dokter hewan dari Laboratorium SCCR (*Stem Cell and Cancer Research*) Semarang. Tikus dipelihara di lab berventilasi cukup dan suhu ruangan 20-28°C dengan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria inklusi

1. Tikus galur Wistar
2. Jenis kelamin jantan
3. Usia 6-8 minggu
4. Berat badan 200-250 g
5. Tidak memiliki kelainan anatomis
6. Tikus bergerak secara aktif.

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Tikus menunjukkan tidak dapat menyesuaikan selama aklimatisasi.
2. Tikus yang sakit selama masa penelitian.
3. Tikus gagal induksi perlakuan.

4.3.2.3. Kriteria *Drop Out*

1. Tikus mengalami infeksi atau
2. Tikus mati selama penelitian.
3. Tikus tidak memenuhi kriteria Luka Bakar derajat III.

4.4. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan besaran sampel dihitung menggunakan rumus Federer , yaitu $(n-1) (t-1) \geq 15$, Dimana t adalah jumlah kelompok perlakuan dan n adalah jumlah sampel per kelompok. Penelitian ini melibatkan lima perlakuan, tikus sehat tanpa luka bakar derajat tiga (K1), luka bakar dengan injeksi water for injection (K2),

luka bakar dengan dioleskan *Silver Sulfadiazine* (K3), luka bakar yang menerima injeksi exosome dengan dosis 100 µg (K4) dan 200 µg (K5), masing2 satu kali.

Dengan rumus tersebut, perhitungannya sebagai berikut:

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

$$(n - 1) (5 - 1) \geq 15$$

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 = 5 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan 5 ekor sampel per perlakuan. Untukantisipasi kemungkinan drop out selama penelitian, ditambahkan 1 ekor per kelompok sebagai cadangan. Dengan demikian, jumlah total sampel yang digunakan adalah 30 ekor.

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk kultur antara lain meliputi *Micropipette with tip (blue tip, yellow tip, pink tip)*, *Pippete Filler*, *Conical Tube (15ml, 50ml)*, *Cryotube 1ml*, *Haemocytometer*, *Inverted Microscope* *CO2 Cylinder*, *Scissor*, *Pinset*, *Scalpel* dan *Bisturi*, *Thermostirrer*, *Sentrifuge*, *Beaker glass*, *Aluminium Foil*. Alat yang digunakan untuk Kultur Vessel antara lain meliputi *Dish*, *flask*, *12 well plate*, *96 well plate*. Alat yang digunakan untuk

Testing Instrumen antara lain meliputi PCR reader, MACS, Immunocytochemistry, Antibody Monoclonal, Western Blot. Alat yang digunakan untuk *Incubation and Working Culture Area* antara lain meliputi *Biosafety Cabinet* dan CO2 Inkubator. Peralatan lain yang digunakan antara lain *Inverted microscope*, *Hotplate stirrer*, *Disposable pipet*, *Heparin tube*, *Conical tube*, *Cryo tube*, *Haemocytometer*, *Cell counter*

4.5.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang dipakai dalam penelitian meliputi bahan kultur yang terdiri dari *Cell Storage: Mesenchymal stem cell* Isolasi Mice Umbilical Cord, Antibodi Monoclonal: CD 90⁺, CD 105⁺, CD 34⁺, Growth Factor: Fetal Bovine Serum (FBS), Substance: Medium Alpha Mem, penstrep, tripsin, fungizin, 70% alcohol, Immunostaining: Blocking serum, universal link, Streptavidin, DAB. Reagen terdiri dari Phospat Buffer Saline (PBS), HEPES, Tripsin, Penstrep, Fungizone, Kolagenase tipe I, Kolagenase tipe IV, Triptofan Blue, DMSO, MTT, Stropper.

Bahan penelitian yang dipakai dalam penelitian meliputi Teknik isolasi Bahan-bahan yang diperlukan untuk analisis PCR antara lain PCR Kit IL1- β dan TNF- α

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. *Ethical clearance*

Penelitian akan dimulai dengan membuat permohonan persetujuan etik yang tertuju pada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan

Agung Semarang yang akan diajukan setelah mendapatkan persetujuan dari pembimbing dan penguji. Permohonan ini digunakan untuk memastikan bahwa penelitian akan dilakukan sesuai dengan prinsip – prinsip etika dalam penggunaan hewan percobaan, Persetujuan etik juga akan menjamin bahwa perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan dengan memperhatikan kesejahteraan dan hak hewan, serta meminimalkan rasa sakit yang tidak diperlukan.

4.6.2. Pembuatan luka bakar derajat III dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan

- a. Sebelum dilakukan luka bakar, bulu di sekitar punggung dicukur
- b. Kemudian tikus di anestesi dengan eter sampai tikus terlihat pingsan.
- c. Luka bakar dibuat menggunakan lempeng besi yang sudah dipanasi dengan api supaya kedalaman luka sama, luas luka sebesar area $2 \times 2 \text{ cm}^2$.
- d. Kemudian kepala paku ditempelkan pada kulit punggung tikus selama 15 detik sampai terbentuk luka bakar derajat III.

4.6.3. Perlakuan (Pemberian *Exosome* MSC pada luka bakar)

Kelompok I : Sebagai kontrol sehat tanpa perlakuan luka bakar.

Kelompok II : Sebagai kontrol punggung tikus di buat luka bakar dan dibersihkan dengan NaCl, biarkan sembuh secara alami.

Kelompok III : Punggung tikus diberi luka bakar lalu di berikan *Silver Sulfadiazine* secara oles disekeliling luka.

Kelompok IV : Punggung tikus diberi luka bakar lalu di berikan injeksi *Exosome Mesenchymal Stem Cell* dosis 100 µg/kgBB secara intradermal disekeliling luka.

Kelompok V : Punggung tikus diberi luka bakar lalu di berikan injeksi *Exosome Mesenchymal Stem Cell* 200 µg/kgBB sel secara intradermal disekeliling luka.

Selama perlakuan semua tikus mendapat diet standar selama 5 hari. Pada hari ke 5 setelah perlakuan tikus dikorbankan dengan cara dibius menggunakan eter dan di ambil jaringan kulit yang lukanya untuk dibuat sediaan preparat parafin (untuk melihat tampilan kolagen). Pada hari ke 5 neovaskularisasi mencapai puncaknya karena jaringan granulasi mengisi ruang luka. Serabut kolagen menjadi lebih berlimpah dan mulai menjembatani luka. Preparat di ambil dari luka bakar tikus di dalam area luka bakar sebesar 2x2 cm² pada semua tikus percobaan baik tikus kelompok kontrol maupun tikus kelompok perlakuan.

4.6.4. Pembuatan preparat

Membuat sediaan paraffin

a. Memfikasi

Jaringan biopsi eksisi dimasukkan ke dalam larutan formalin buffer 10 selama 2 jam

b. Mendehidrasi

Potogan jaringan dimasukkan kedalam alcohol konsentrasu bertingkat.

- Alkohol 70% selama 1,5 jam

- Alkohol 80% selama 1,5 jam
- Alkohol 95% selama 1,5 jam
- Alkohol absolute I selama 1,5 jam
- Alkohol absolute II selama 1,5 jam
- Alkohol absolute III selama 1,5 jam

c. Membersihkan(*clearing*):

- Xylol I 1 jam
- Xylol II 1,5 jam
- Xylol III 1,5 jam

d. Menginfiltrasi paraffin

- Paraffin cair I 1,5 jam
- Paraffin cair II 2 jam

e. Membuat block paraffin

Paraffin cair, pinset dan penutup cetakan dihangatkan, paraffin cair dituang dalam cetakan kemudian jaringan yang sudah di processing dimasukkan dalam cetakan berisi paraffin, tutup cetakan diambil diletakkan diatas cetakan dan ditekan, tunggu hingga membeku lalu keluarkan dari cetakan. Rapikan sisi-sisi block kemudian potong dengan mikrotom

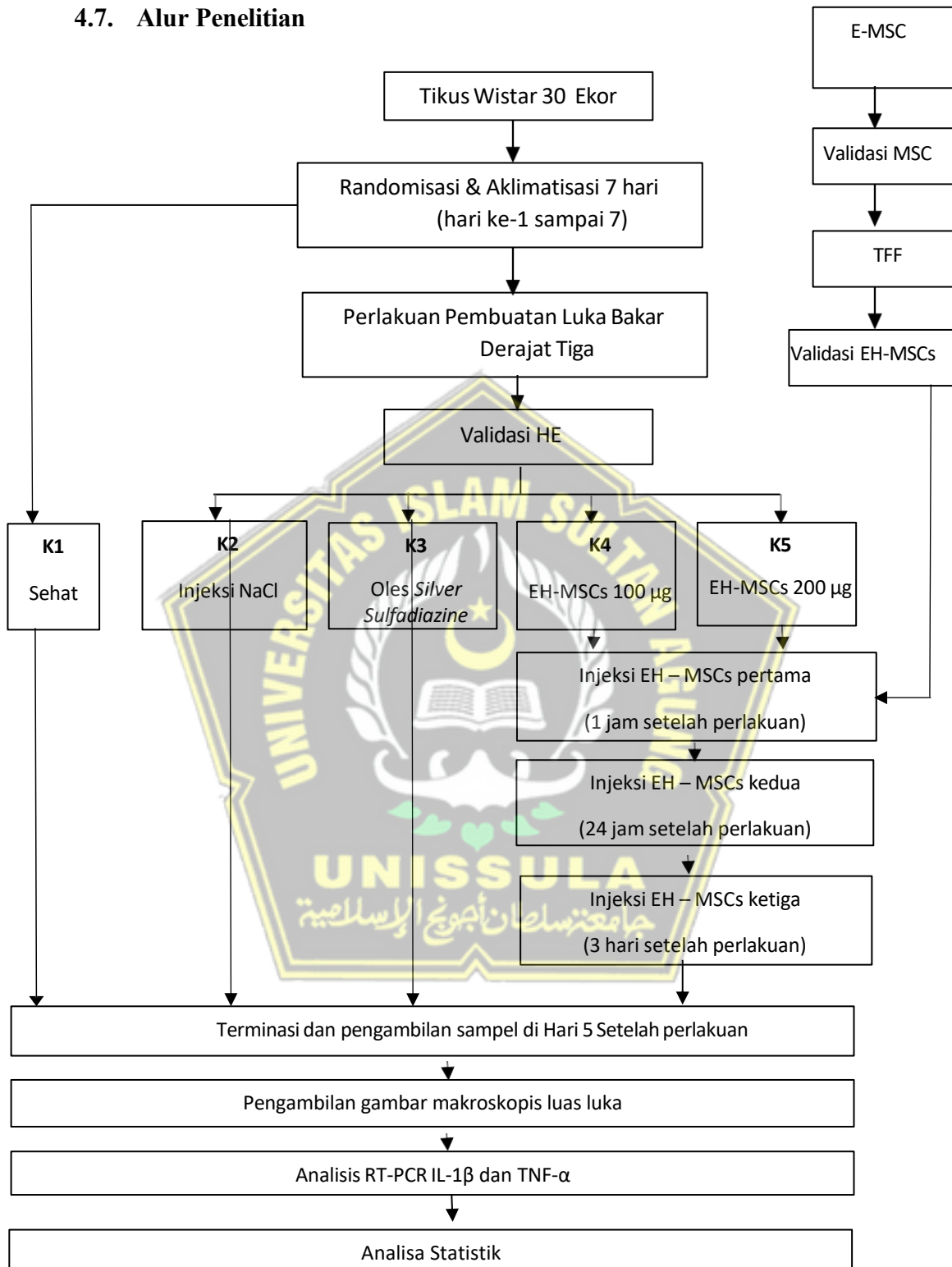
f. Mengecat dengan pewarnaan HE

4.6.5. Analisis PCR

Sampel kulit diambil pada hari ke-15 dan sampel dimasukkan ke dalam RNA later dan disimpan di-20 hingga proses analisis. Kemudian jaringan diambil 10 mg untuk proses ekstraksi RNA. Hasil RNA kemudian dibuat menjadi cDNA sintesis dan direplikasi menggunakan RT-PCR. Hasil pembacaan kemudian dibandingkan dengan hasil tikus sehat untuk menghitung *Fold Change*.



4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

4.8. Analisa Data

Selanjutnya, dilakukan analisis normalitas dan variasi data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene's Test. Hasil menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji One-Way ANOVA akan dilaksanakan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara semua kelompok penelitian setelah uji One-Way ANOVA, maka uji Post Hoc LSD akan diterapkan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Data menunjukkan distribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji One-Way ANOVA. Dan Hasilnya menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terdapat pada semua kelompok penelitian setelah uji One-Way ANOVA, akan dilanjutkan dengan uji Post Hoc Tamhane akan digunakan. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Data dengan distribusi tidak normal ($p < 0,05$), maka uji Kruskal-Wallis akan dilakukan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok penelitian setelah uji Kruskal-Wallis, dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney akan diaplikasikan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

4.9. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian yang meliputi pembuatan *Exosome hypoxia* MSC, perlakuan hewan coba hingga analisis variabel terikat ini dilakukan di Laboratorium SCCR (*Stem Cell and Cancer Research*) Semarang, pada Bulan Mei 2025.



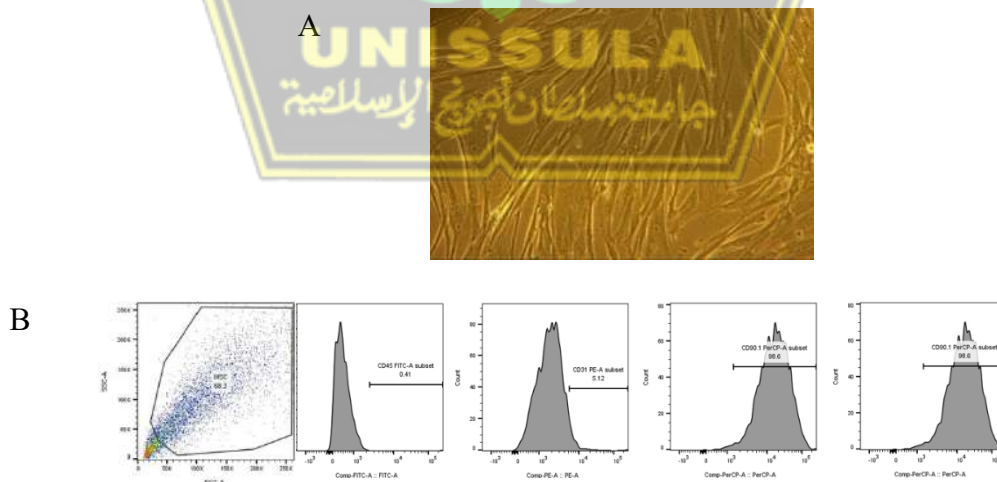
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Hasil Validasi EH-MSC (*Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell*)

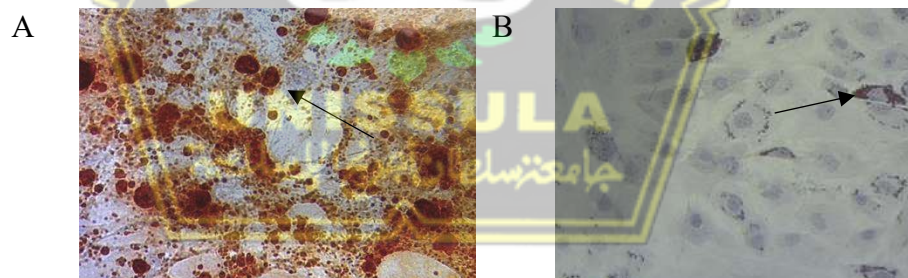
Mesenchymal stem cell dibuat dan diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat tikus pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah melewati proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media Medium Alpha Mem. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi sel, menunjukkan terdapat sel yang menyerupai *spindle* saat diamati dengan mikroskop dan melekat di atas permukaan flask (Gambar 5.1A).



Gambar 5.1. Morfologi MSC. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like pada pembesaran 40x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD45, CD31, dan CD 90.

Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (98,6%) , dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,41%) dan CD31 (5,12%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

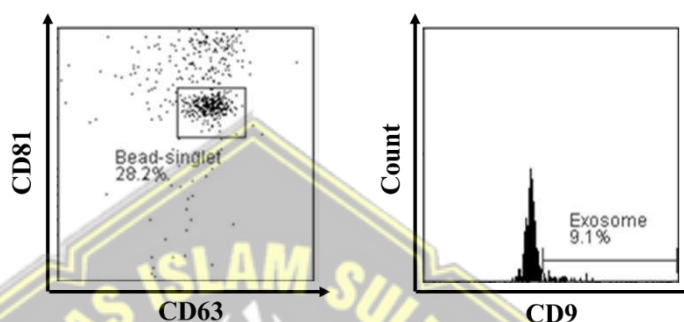
Penelitian ini juga memastikan kapasitas MSC dalam diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa seperti sel osteosit dan sel adiposity yaitu dengan cara memberi medium spesifik menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun adiposit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan adiposity yang terlihat oleh Alizarin Red S dan oil Red O. (Gambar 5.2 A dan B).



Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red s dan (B) Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 40x).

Setelah tervalidasi, MSC kemudian diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box hipoksia. Setelah itu, medium kultur MSC yang mengandung sekretom MSC dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode

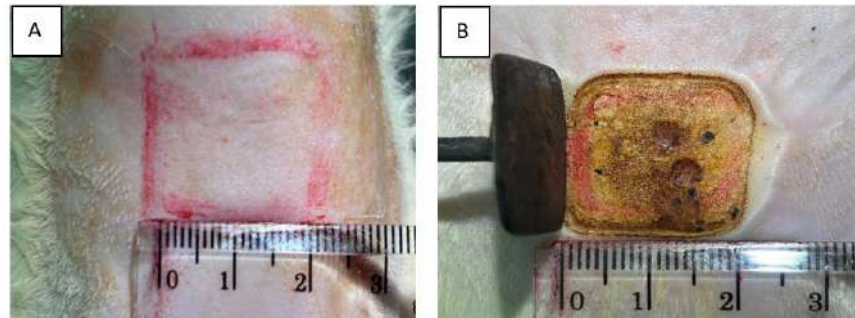
TFF dengan ukuran 100-500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-
MSC. Setelah diisolasi kadar *exosome* dianalisis menggunakan
metode *flowcytometry* dan didapatkan bahwa kadar *exosome* yang
didapatkan $0.75 \text{ ug}/100 \text{ uL} = 7.5 \text{ ug/mL}$ (Gambar 5.3).



Gambar 5.3. Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker
CD63 dan CD9

5.1.2. Hasil Validasi Luka Bakar Derajat III

Validasi pembentukan model luka bakar derajat III pada tikus dilakukan secara visual dengan membandingkan kondisi permukaan kulit hewan yang telah dicukur dan diberi penandaan area luka berbentuk persegi berukuran sekitar $2 \times 2 \text{ cm}$. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tikus sehat menggambarkan struktur jaringan kulit normal, di mana epidermis, dermis, serta jaringan subkutan tersusun rapi, tanpa indikasi inflamasi atau kerusakan jaringan, sedangkan tikus yang diberika luka bakar hasilnya tampak perubahan warna menjadi coklat tua hingga kehitaman, yang menunjukkan kerusakan termal mendalam dan nekrosis koagulatif, khas luka bakar derajat III. sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.4.



Gambar 5.4. Validasi dan Hasil Makroskopis Luka Bakar

(A) menggambarkan struktur jaringan kulit normal, di mana epidermis, dermis, serta jaringan subkutan tersusun rapi, tanpa indikasi inflamasi atau kerusakan jaringan, sedangkan tikus yang induksi luka menggunakan besi panas yang ditempelkan pada kulit hasilnya tampak perubahan warna menjadi coklat tua hingga kehitaman, yang menunjukkan kerusakan termal mendalam dan nekrosis koagulatif, khas luka bakar derajat III (B)



Sehat

Luka Bakar

Gambar 5.5. Hasil mikroskopis pasca pemberian EH-MSCs

(C) menggambarkan struktur jaringan kulit normal, di mana epidermis, dermis, serta jaringan subkutan tersusun rapi, tanpa indikasi inflamasi atau kerusakan jaringan. (D) menunjukkan jaringan pasca-luka bakar dengan tanda-tanda nekrosis koagulatif,

kerusakan menyeluruh pada epidermis dan dermis, terbentuknya vakuolisasi, dan hilangnya struktur jaringan normal. Tampak pula keterlibatan jaringan subkutan hingga mendekati otot, yang merupakan ciri khas luka bakar derajat 3.

Tikus yang tanpa diberi perlakuan digunakan sebagai kontrol sehat (K1), sedangkan tikus yang mengalami Luka Bakar Derajat III dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (tikus luka bakar derajat III dengan injeksi NaCl), K3 (tikus luka bakar derajat III dengan perlakuan olesan *Silver Sulfadiazine* di sekeliling luka), K3 dan K4 (tikus luka bakar derajat III dengan injeksi subkutan exosome dengan dosis masing-masing 100 uL dan 200 uL).

Validasi luka bakar derajat III dilakukan pada hari pertama setelah induksi besi panas dengan memastikan adanya perubahan warna menjadi coklat tua hingga kehitaman, yang menunjukkan kerusakan termal mendalam nekrosis koagulatif, kerusakan menyeluruh pada epidermis dan dermis, terbentuknya vakuolisasi, khas luka bakar derajat 3. Setelah validasi, hewan uji dibagi ke dalam kelompok perlakuan dan diberikan injeksi Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cell (EH-MSc) sesuai dosis yang telah ditentukan. Pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke 5 pasca perlakuan. Jaringan kulit yang diperoleh kemudian dihomogenisasi menggunakan RIPA buffer yang telah ditambahkan inhibitor proteinase untuk mencegah degradasi protein. Homogenat

yang dihasilkan selanjutnya disentrifugasi, dan supernatan yang diperoleh digunakan untuk analisis ekspresi IL-1 β dan TNF- α menggunakan metode RT-PCR.

5.1.3. Ekspresi IL-1 β

Terdapat penurunan ekspresi IL-1 β dari K2 hingga K5, menunjukkan bahwa perlakuan (K4 dan terutama K5) memiliki efek anti-inflamasi. K5 adalah kelompok dengan efek paling kuat dalam menurunkan ekspresi IL-1 β dibandingkan kelompok lainnya.

Hasil analisis rata-rata ekspresi IL-1 β pada masing-masing kelompok subjek penelitian ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut:

Tabel 5.1. Hasil deskripsi rerata Ekspresi IL-1 β dan uji One way ANOVA

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	<i>p value</i>
Ekspresi IL-1 β						
Mean	0.800	4.062	3.224	2.238	1.658	
SD	0.445	2.201	1.798	1.278	0.782	
Shapiro-Wilk	0.201	0.737	0.832	0.897	0.572	
Levene Test						0.068
One way anova						0.017

Keterangan: Shapiro-Wilk : Normal ($p>0,05$)

Levene's Test : Homogen ($p>0,05$)

One way anova : Signifikan ($p<0,05$)

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah normal ($p>0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test mengonfirmasi bahwa data ekspresi IL-1 β pada kelima kelompok memiliki varians yang homogen ($p>0,05$).

Analisis perbedaan ekspresi IL-1 β antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai normal ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Dengan kata lain, perlakuan atau kondisi pada setiap kelompok memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi IL-1 β .

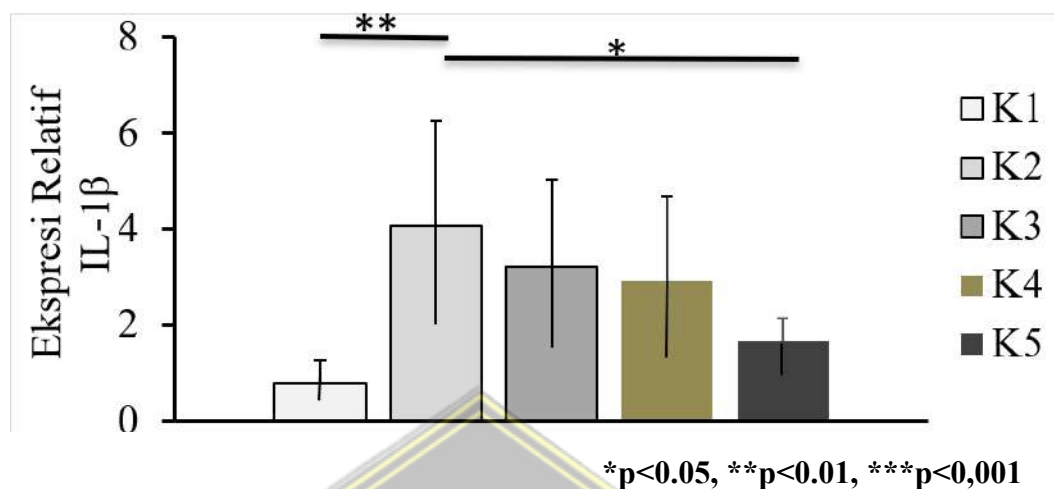
Berdasarkan data ekspresi IL-1 β yang memiliki beda nyata setelah menggunakan uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji post hoc LSD, karena data bersifat normal dan homogen, dan di dapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 5.2. Uji Post Hoc LSD Ekspresi IL-1 β

Kelompok	Kelompok Perbandingan	<i>p</i> (value)
K1	K2	0.002
	K3	0.016
	K4	0.133
	K5	0.361
K2	K3	0.372
	K4	0.061
	K5	0.016
K3	K4	0.295
	K5	0.103
K4	K5	0.535

Berdasarkan hasil analisis data IL-1 β K5 menunjukkan penurunan ekspresi IL-1 β yang signifikan ($P < 0.05$), dibandingkan K2 dan K3, menandakan efek anti-inflamasi yang kuat. K4 juga menurunkan IL-1 β , namun tidak signifikan secara statistik

dibanding K2 atau K3.



Gambar 5.6. Grafik ekspresi IL-1 β

Terjadi penurunan ekspresi IL-1 β dari K2 ke K5. Perlakuan K5 paling efektif menurunkan ekspresi IL-1 β secara signifikan.

5.1.4. Ekspresi TNF- α

Terjadi penurunan ekspresi TNF- α dari K2 ke K5, yang menunjukkan perlakuan mampu mengurangi peradangan. K5 adalah yang paling efektif dalam menekan ekspresi TNF- α dibanding kelompok lainnya.

Tabel 5.3. Hasil deskripsi rerata Ekspresi TNF- α dan uji One way ANOVA

Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	<i>p value</i>
Ekspresi TNF- α						
Mean	1.068	2.656	2.174	1.254	0.970	
SD	1.062	1.296	1.331	0.611	0.446	
Shapiro-Wilk	0.063	0.598	0.702	0.708	0.998	
Levene's Test						2.134
One way anova						0.059

Keterangan:

Shapiro-Wilk : Normal ($p > 0,05$)

Levene's Test : Homogen ($p > 0,05$)

One way Anova : Signifikan ($p < 0,05$)

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah normal ($p > 0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test mengonfirmasi bahwa data ekspresi TNF- α pada kelima kelompok memiliki varians yang homogen ($p > 0,05$).

Analisis perbedaan ekspresi TNF- α antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai normal ($p < 0,05$). Namun pada hasil ini menunjukkan tidak ada nya perbedaan signifikan terhadap ekspresi TNF- α .

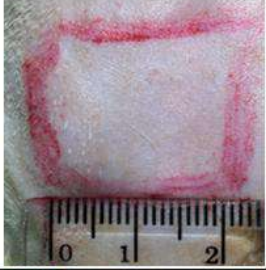
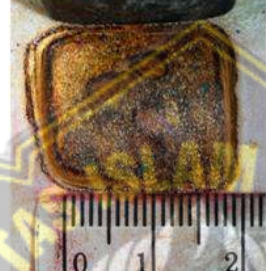
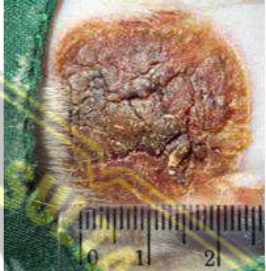
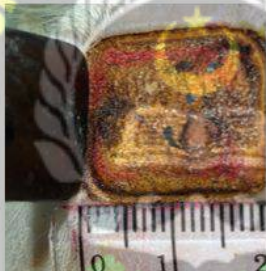
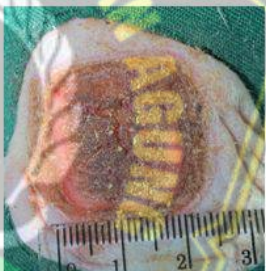
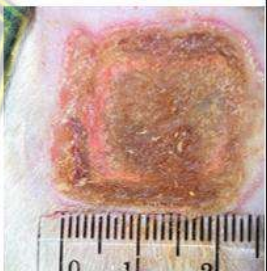
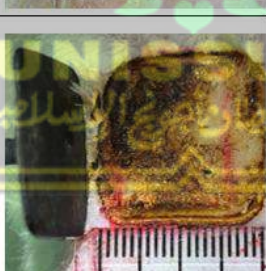
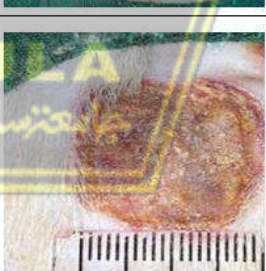
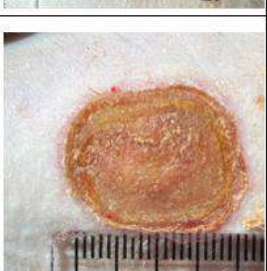
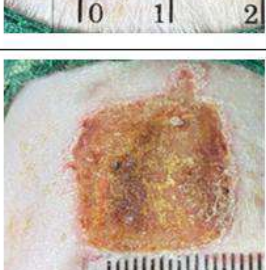
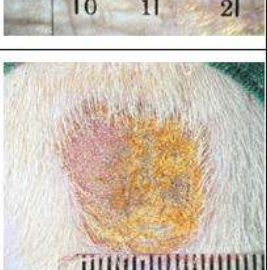
5.1.5. Hasil Perbaikan Anatomi Luka Bakar Derajat III melalui Pengukuran Luas Luka dan Pengamatan Makroskopik Luka

Kondisi perbaikan anatomi luka bakar derajat III pada penelitian ini diamati secara makroskopik dan dilakukan pengukuran luas luka pada setiap kelompok perlakuan. Pengamatan luka bakar

derajat III pada hewan coba ini dilakukan secara keseluruhan pada hari ke-0, 3 dan 5. Hasil pengamatan makroskopik menunjukkan adanya perubahan gambaran kondisi luka pada setiap kelompok perlakuan (Tabel 5.5). Kelompok K1 merupakan gambaran kulit dalam kondisi normal yang tidak diberikan induksi luka bakar, sehingga permukaan kulit tampak rata tanpa adanya perubahan pigmentasi dan memperlihatkan elastisitas kulit yang baik tanpa edema. kondisi kulit mencerminkan keadaan anatomi dan fisiologis normal, tanpa indikasi trauma, infeksi, maupun respon inflamasi.



Tabel 5.4. Hasil Pengamatan Makroskopis Luka Bakar Derajat III pada masing- masing Kelompok Perlakuan

KELOMPOK	HARI 0	HARI-3	HARI-5
K1			
K2			
K3			
K4			
K5			

Kelompok K2, K3 dan K4 merupakan kelompok yang diinduksi luka bakar derajat III dengan pemberian induksi yang seragam sehingga secara keseluruhan pengukuran luas luka hasil induksi luka bakar makroskopis hari ke-0 menunjukkan luas luka yang sama yaitu $\pm 2 \times 2$ cm (Gambar 5.12) sesuai dengan ukuran plat yang digunakan. Pada pengamatan makroskopis hari ke 0 pada seluruh kelompok yang diberikan induksi luka bakar menunjukkan kondisi permukaan kulit berwarna coklat kehitaman terbakar dengan memperlihatkan jaringan rusak atau mengalami nekrosis (Tabel 5.5). Kelompok K2 sebagai kelompok yang diberikan induksi luka bakar tanpa pemberian treatment menunjuka hasil pengamatan makroskopis dimana Permukaan luka ditutupi jaringan nekrotik (*eschar*) berwarna coklat tua hingga kehitaman dengan area pusat yang lebih gelap dan kering, menunjukkan destruksi jaringan secara penuh (*full-thickness*). Tekstur tampak keras dan tidak elastis. Di sekitar lesi terlihat zona hiperemia (kemerahan), menunjukkan area jaringan yang masih vital namun mengalami inflamasi akibat panas.

Pengamatan hari ke-3 penampakan luka terlihat mulai mengering, bersisik, berkerak dan menunjukkan adanya perbedaan luas luka pada masing-masing kelompok, kelompok kontrol negative (K2) dan kontrol positif (K3) memperlihatkan adanya pelebaran luka (*wound expansion*) hingga hasil pengukuran luka lebih luas dari 2×2 cm. Luka yang meluas ini bisa terjadi disebabkan karena iskemia

lokal dimana suplai darah ke area luka terganggu serta inflamasi aktif yang berkelanjutan, sehingga mebabkan nekrotik jaringan disekitar area luka dan tampak menebal. Sementara, pada kelompok K4 dan K5 tepi luka atau zona hiperimia tidak mengalami perluasan, bahkan pemberian exosome dengan dosis yang lebih tinggi menunjukkan pengamatan makroskopis luka yang terlihat mulai mengecil. Hal ini menandakan kondisi inflamasi sekitar luka menjadi minimal dan adanya stimulus perbaikan jaringan pada kelompok yang diberikan treatment exosome.

Pengamatan hari ke-5 menunjukkan adanya proses penyembuhan pada kelompok K4 dan K5 yang diberikan treatment exosome. Pada kelompok K4 menunjukkan warna luka cenderung merata dengan kondisi inflamasi minimal. Meskipun pengukuran luka pada kelompok K4 belum menunjukkan adanya pengecilan (Gambar 5.12), namun setidaknya luka tidak meluas dan terlihat sudah ada proses epitelisasi, namun luka belum menutup secara sempurna. Sementara itu, luka pada kelompok K5 yang diberikan dosis exosome lebih tinggi menunjukkan penyembuhan yang lebih baik, yang mana area luka mengecil drastis, jaringan tampak lebih merah muda hingga pertumbuhan bulu mulai terlihat di sekitar luka (Tabel 5.5).

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok luka bakar tanpa terapi EH-MSC memiliki ekspresi IL-1 β tertinggi, menandakan adanya respons inflamasi akut yang kuat pada jaringan kulit yang mengalami kerusakan berat. Pemberian EH-MSC pada dosis 100 μ g menurunkan ekspresi IL-1 β secara signifikan, sedangkan dosis 200 μ g menunjukkan penurunan yang lebih besar, dengan perbedaan signifikan dibanding kelompok 100 μ g ($p < 0,05$). Penurunan ekspresi ini menunjukkan bahwa EH-MSC memiliki efek antiinflamasi yang nyata, yang semakin kuat seiring peningkatan dosis.

Penurunan IL-1 β ini diduga berkaitan dengan kemampuan MSC dalam menghambat aktivasi makrofag M1 dan mempromosikan diferensiasi ke arah makrofag M2, yang bersifat antiinflamasi. Selain itu, MSC diketahui dapat menekan jalur sinyal NF- κ B, yang merupakan regulator utama dalam produksi IL-1 β .⁷⁵⁻⁷⁶

Polanya sejalan dengan IL-1 β . Kelompok luka bakar menunjukkan ekspresi TNF- α paling tinggi, sementara kelompok yang diberi EH-MSC menunjukkan penurunan signifikan, baik pada dosis 100 μ g maupun 200 μ g. Dosis 200 μ g kembali menunjukkan efek penurunan yang lebih besar dan signifikan secara statistik. TNF- α merupakan sitokin utama dalam fase inflamasi awal, dan peningkatannya sering dihubungkan dengan kerusakan jaringan lanjutan, edema, dan aktivasi neutrofil.⁷⁵⁻⁷⁶

Exosome MSC mengandung berbagai molekul bioaktif seperti miRNA, protein, dan lipida yang berkontribusi pada regenerasi jaringan,

anti-inflamasi, dan modulasi imun, menjadikannya potensi besar dalam terapi medis.⁵⁰⁻⁵² Eksosom yang berasal dari *mesenchymal stem cells* (MSC) yang mengalami *hipoksia* (Hypoxia MSC-derived Exosomes) menunjukkan potensi besar dalam mempercepat penyembuhan luka bakar dengan mempromosikan regenerasi jaringan melalui berbagai mekanisme seperti angiogenesis, proliferasi sel, dan regulasi inflamasi.

Eksresi mediator inflamasi (sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan) dalam area yang rusak sangat penting untuk proses penyembuhan luka.^{67,68} Eksosom dari berbagai jenis MSC dapat mengendalikan peradangan dengan menurunkan enzim pro-inflamasi serta sitokin dan kemokin seperti faktor nekrosis tumor (TNF- α) dan interleukin-1 (IL-1).⁶⁸ IL-1 β dan TNF- α dapat mengendalikan berbagai proses di area luka, termasuk proliferasi keratinosit dan fibroblas proliferasi dan diferensiasi, sintesis dan penghancuran matriks ekstraseluler (ECM) protein, dan regulasi respon imun.^{67, 69, 70}

Kadar mediator pro-inflamasi yang abnormal, seperti faktor nekrosis interleukin-1 β (IL-1 β) telah dilaporkan baik secara sistemik maupun lokal pada pasien luka bakar, yang menunjukkan bahwa mediator ini terlibat secara sentral dalam pembentukan lingkungan patofisiologis luka bakar. IL-1 β terlibat secara sentral dalam respons inflamasi, menjadikannya penanda yang baik untuk keseluruhan keadaan inflamasi setelah cedera luka bakar.²⁵

Pada penelitian ini, pemberian EH-MSC dengan dosis 100 μ g dan 200 μ g pada tikus model luka bakar derajat III bertujuan untuk mengevaluasi

efeknya terhadap ekspresi IL-1 β dan TNF- α serta hubungan kedua parameter ini dengan regenerasi jaringan, peradangan dan perkembangan luka bakar derajat III. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cell (EH-MSC) pada tikus dengan luka bakar derajat III memberikan pengaruh yang bermakna terhadap ekspresi IL-1 β dan TNF- α pada jaringan luka.

Pemberian EH-MSC dengan dosis 100 μ g dan 200 μ g secara signifikan berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar derajat III dengan cara menurunkan ekspresi IL-1 β dan TNF- α . Penurunan ini bersifat dosis-dependent, di mana dosis 200 μ g memberikan efek lebih signifikan dibanding 100 μ g dalam menekan inflamasi lokal.

TNF- α , salah satu jenis TNF, berperan penting dalam fase inflamasi penyembuhan luka. TNF- α tidak hanya menstimulasi respons imun tubuh tetapi juga merekrut sel imun ke lokasi luka. Selain itu, TNF- α mengaktifkan proliferasi fibroblas dan pembuluh darah baru, pembentukan keratinosit, dan ekspresi faktor pertumbuhan.²⁸ Sebagai sitokin inflamasi, TNF-alfa memiliki dampak besar pada pengaturan respons inflamasi dan penyembuhan jaringan. Meskipun TNF-alfa bermanfaat pada tahap awal penyembuhan luka, Ekspresi yang terlalu tinggi atau respons inflamasi yang berkepanjangan dapat menyebabkan masalah, seperti pembentukan jaringan parut yang berlebihan, yang menghambat proses penyembuhan luka.^{29,30}

Penurunan ekspresi TNF- α oleh EH-MSC mendukung temuan sebelumnya bahwa MSC (dan ekstraknya) mengeluarkan faktor parakrin

seperti TGF- β , PGE2, dan TSG-6 yang berperan dalam menekan produksi TNF- α dan mempercepat transisi dari fase inflamasi ke fase proliferaatif dalam penyembuhan luka.⁷⁵⁻⁷⁶

Pemberian EH-MSK pada luka bakar derajat III menurunkan ekspresi IL-1 β , TNF- α , dan perbaikan anatomi luka secara makroskopis yang menyangkut luas luka dan ketebalan luka secara signifikan, dengan efek yang lebih kuat pada dosis 200 μ g. Hal ini memperkuat potensi terapeutik EH-MSK dalam menekan inflamasi dan mempercepat regenerasi jaringan kulit pasca luka bakar berat.

Mekanisme EH-MSK dalam memperbaiki anatomi luka salah satunya dengan cara mengatur respon inflamasi pada luka. Pemberian EH-MSK terbukti pada penelitian ini mampu menekan aktivitas proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β , penekanan respons tersebut berkontribusi pada percepatan proses perbaikan luka. EH-MSK dapat menekan inflamasi dengan meningkatkan aktivitas anti-inflamasi IL-10. Mekanisme lain EH-MSK dalam meningkatkan respon anti-inflamasi dengan cara memicu intraseluler signaling untuk polarisasi makrofag dari M1 ke M2.⁷⁸

Exosome dari MSC juga memiliki komponen faktor-faktor *growth factor* seperti VEGF, FGF-2, HGF, PDGF, yang merangsang pertumbuhan dan migrasi fibroblas, keratinosit, serta sel endotel.⁷⁹ Adanya growth factor tersebut juga berperan dalam meningkatkan deposisi kolagen, pembentukan granulasi dan reepitelisasi pada luka. Selain itu, EH-MSK dilaporkan memiliki komponen miRNA seperti miR-126 dan miR-132 yang

berkontribusi dalam pembentukan kapiler baru, sehingga memperbaiki suplai oksigen ke jaringan luka, yang berujung mempercepat fase proliferasi.

5.3. Keterbatasan Penelitian

1. Model hewan percobaan

Penelitian menggunakan tikus Wistar sebagai model luka bakar derajat III. Hasil yang diperoleh mungkin tidak sepenuhnya merepresentasikan respons biologis pada manusia karena adanya perbedaan fisiologi kulit, ketebalan dermis, dan kapasitas regenerasi jaringan.

2. Durasi pengamatan terbatas

Evaluasi hanya dilakukan pada periode tertentu pasca luka. Penelitian ini belum menilai efek jangka panjang pemberian EH-MSCs terhadap perbaikan jaringan.

3. Tidak menilai interaksi dengan terapi standar

Penelitian ini belum membandingkan efek kombinasi EH-MSCs dengan terapi luka bakar konvensional seperti balutan modern, atau skin graft, sehingga belum diketahui potensi sinergi atau antagonis.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi EH-MSC secara subcutan terhadap penurunan ekspresi IL-1 β dan TNF- α pada tikus jantan galur Wistar model luka bakar derajat III menunjukkan hal-hal berikut:

- a. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 μ g dan 200 μ g yang lebih baik terhadap penurunan ekspresi IL-1 β pada tikus model luka bakar derajat III dibandingkan dengan kelompok kontrol, yang menunjukkan dosis dependen, yaitu dosis 200 μ g lebih menurunkan kadar ekspresi IL-1 β lebih besar.
- b. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 μ g dan 200 μ g terhadap penurunan ekspresi TNF- α pada tikus model luka bakar derajat III dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- c. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 μ g dan 200 μ g terhadap perbaikan anatomi luka secara makroskopis dan ketebalan nekrosis pada tikus model luka bakar derajat III dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

a. Translasi ke model manusia

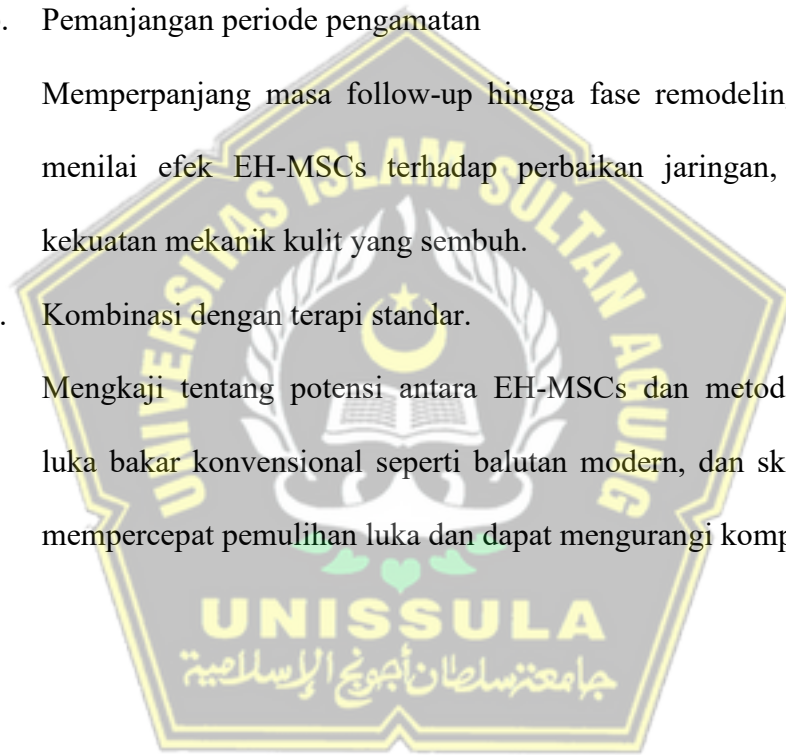
Melakukan tahap uji klinis pada manusia untuk evaluasi meliputi keamanan, besarnya dosis yang optimal, dan efektivitas EH-MSCs pada pasien luka bakar derajat III, mengingat perbedaan fisiologi kulit antara hewan coba dan manusia.

b. Pemanjangan periode pengamatan

Memperpanjang masa follow-up hingga fase remodeling akhir untuk menilai efek EH-MSCs terhadap perbaikan jaringan, termasuk uji kekuatan mekanik kulit yang sembuh.

c. Kombinasi dengan terapi standar.

Mengkaji tentang potensi antara EH-MSCs dan metode penanganan luka bakar konvensional seperti balutan modern, dan skin graft untuk mempercepat pemulihan luka dan dapat mengurangi komplikasi.



DAFTAR PUSTAKA

1. Radzikowska-Büchner E, Łopuszyńska I, Flieger W, Tobiasz M, Maciejewski R, Flieger J. Gambaran Umum Perkembangan Terkini dalam Penatalaksanaan Cedera Luka Bakar. Jurnal Internasional Ilmu Molekuler . 2023; 24(22):16357. <https://doi.org/10.3390/ijms242216357>
2. Żwieręło W, Piorun K, Skórka-Majewicz M, Maruszewska A, Antoniewski J, Gutowska I. Luka Bakar: Klasifikasi, Patofisiologi, dan Pengobatan: Tinjauan. Jurnal Internasional Ilmu Molekuler. 2023; 24(4):3749. <https://doi.org/10.3390/ijms24043749>
3. A., Ruiz & C., Bracamontes-Gutierrez & A., Acosta & E., Leiva-Rodríguez & S., Siordia-Cruz & Alicia, Guerrero-Andrade & R., Banuelos-Castro & D., Romero-Rodríguez & J., Zavala-Mejía & Ericel, Hernández-Olivera. (2024). Comprehensive Care for Burn Patients. International Journal of Medical Science and Clinical Research Studies. 04. <http://dx.doi.org/10.47191/ijmscrs/v4-i08-07>
4. Stokes MAR, Johnson WD. Burns in the Third World: an unmet need. Ann Burns Fire Disasters. 2017 Dec 31;30(4):243-246. PMID: 29983673; PMCID: PMC6033471.
5. Gee Kee EL, Kimble RM, Cuttle L, Stockton KA. Scar outcome of children with partial thickness burns: A 3 and 6 month follow up. Burns. 2016 Feb;42(1):97-103. doi: 10.1016/j.burns.2015.06.019. Epub 2015 Nov 3. PMID: 26546385.
6. González-Cubero E, González-Fernández ML, Gutiérrez-Velasco L, Navarro-Ramírez E, Villar-Suárez V. Isolation and characterization of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. J Anat. 2021;238(5):1203–17.
7. Prihartini Widiyanti, Firza, Siswanto; Methylcellulose-AgNPs-oat hydrogel as a wound dressing for burn wound. AIP Conf. Proc. 29 January 2024; 3047 (1): 050004. <https://doi.org/10.1063/5.0193673>
8. Timby, Barbara and Smith, Nancy E. 2014. Introductory MedicalSurgical

Nursing Eleventh Edition. China: Lippincott William & Wilkins.

9. Yang G, Waheed S, Wang C, Shekh M, Li Z, Wu J. Exosomes and Their Bioengineering Strategies in the Cutaneous Wound Healing and Related Complications: Current Knowledge and Future Perspectives. *Int J Biol Sci*. 2023 Feb 27;19(5):1430-1454. doi: 10.7150/ijbs.80430. PMID: 37056923; PMCID: PMC10086759.
10. Liu G, Zhou Y, Zhang X, Guo S. Advances in hydrogels for stem cell therapy: regulation mechanisms and tissue engineering applications. *J Mater Chem B*. 2022;10:5520–36
11. Zhang W, Hu J, Huang Y, Wu C, Xie H. Urine-derived stem cells: applications in skin, bone and articular cartilage repair. *Burns Trauma*. 2021;9:tkab039.
12. Zhao B, Zhang Y, Han S, Zhang W, Zhou Q, Guan H. et al. Exosomes derived from human amniotic epithelial cells accelerate wound healing and inhibit scar formation. *J Mol Histol*. 2017;48:121–32
13. Manzoor T, Farooq N, Sharma A, Shiekh PA, Hassan A, Dar LA, Nazir J, Godha M, Sheikh FA, Gugjoo MB, Saleem S, Ahmad SM. Exosomes in nanomedicine: a promising cell-free therapeutic intervention in burn wounds. *Stem Cell Res Ther*. 2024 Oct 9;15(1):355. doi: 10.1186/s13287-024-03970-3. PMID: 39385310; PMCID: PMC11462792.
14. Kementerian Kesehatan dan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar, Riskesdas; 2018
15. Gupta S, Rawat S, Krishnakumar V, Rao EP, Mohanty S. Hypoxia preconditioning elicit differential response in tissue-specific MSCs via immunomodulation and exosomal secretion. *Cell Tissue Res*. 2022 Jun;388(3):535-548. doi: 10.1007/s00441-022-03615-y. Epub 2022 Mar 22. PMID: 35316374.
16. Zhou C, Zhang B, Yang Y, Jiang Q, Li T, Gong J, Tang H, Zhang Q. Stem cell- derived exosomes: emerging therapeutic opportunities for wound healing. *Stem Cell Res Ther*. 2023 Apr 26;14(1):107. doi: 10.1186/s13287-023-03345-0. PMID: 37101197; PMCID: PMC10134577.

17. Abazari, Morteza & Ghaffari, Azadeh & Rashidzadeh, Hamid & Badeleh, Safa & Maleki, Yaser. (2020). A Systematic Review on Classification, Identification, and Healing Process of Burn Wound Healing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*. 21. 153473462092485. 10.1177/1534734620924857.
18. Warby R, Maani CV. Klasifikasi Luka Bakar. [Diperbarui 26 September 2023]. Dalam: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539773/>
19. Surowiecka A, Chrapusta A, Klimeczek-Chrapusta M, Korzeniowski T, Drukała J, Strużyna J. Mesenchymal Stem Cells in Burn Wound Management. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 5;23(23):15339. doi: 10.3390/ijms232315339. PMID: 36499664; PMCID: PMC9737138.
20. Shi H, Wang M, Sun Y, Yang D, Xu W, Qian H. Exosomes: Emerging Cell-Free Based Therapeutics in Dermatologic Diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:736022.
21. Wibowo, Erwin, et al. "Pengaruh Kombinasi Suplementasi Omega 3 dengan Kalori Restriksi terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Tikus Sprague Dawley Kajian pada: Tumor Nekrosis Faktor - Alfa dan Perbaikan Luas Luka Bakar." *Medica Hospitalia*, vol. 7, no. 1, 18 May. 2020, pp. 75-81, doi:10.36408/mhjcm.V7i1.432.
22. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996 Mar 15;87(6):2095-147. PMID: 8630372.
23. Sun LT, Friedrich E, Heuslein JL, Pferdehirt RE, Dangelo NM, Natesan S, Christy RJ, Washburn NR. Reduction of burn progression with topical delivery of (antitumor necrosis factor- α)-hyaluronic acid conjugates. *Wound Repair Regen*. 2012 Jul-Aug;20(4):563-72. doi: 10.1111/j.1524-475X.2012.00813.x. Epub 2012 Jun 19. PMID: 22712482; PMCID: PMC3389270.
24. Ishida, Yuko & Mukaida, Naofumi & Kondo, Toshikazu. (2008). The roles of IL1 receptor antagonist in skin wound healing. *Inflammation and Regeneration*.

25. Van Loo, G., Bertrand, MJM Kematian akibat TNF: jalan menuju peradangan. *Nat Rev Immunol* 23, 289–303 (2023).
<https://doi.org/10.1038/s41577-022-00792-3>
26. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) in Autoimmune Disease and Current TNF- α
27. Han YP, Tuan TL, Wu H, Hughes M, Garner WL. TNF-alpha stimulates activation of pro-MMP2 in human skin through NF-(kappa) B mediated induction of MT1-MMP. *J Cell Sci.* 2001 Jan;114(Pt 1):131-139. doi: 10.1242/jcs.114.1.131. PMID: 11112697; PMCID: PMC2435089.
28. Haagsma JA, Graetz N, Bolliger I, Naghavi M, Higashi, Mullany EC, et al. The global burden of injury: Incidence, mortality, disability-adjusted life years and time trends from the global burden of disease study 2013. *Inj Prev.* 2016;22(1):3–18
29. Heyneman A, Hoeksema H, Vandekerckhove D, Pirayesh A, Monstrey S. The role of silver sulphadiazine in the conservative treatment of partial thickness burn wounds: A systematic review. *Burns.* 2016 Nov;42(7):1377-1386. doi: 10.1016/j.burns.2016.03.029. Epub 2016 Apr 26. PMID: 27126813.
30. Zhang P, Zou B, Liou YC, Huang C. The pathogenesis and diagnosis of sepsis post burn injury. *Burns Trauma.* 2021 Feb 4;9: tkaa047. doi: 10.1093/burnst/tkaa047. PMID: 33654698; PMCID: PMC7901709.
31. Haraszti RA, Miller R, Stoppato M, Sere YY, Coles A, Didiot MC, Wollacott R, Sapp E, Dubuke ML, Li X, Shaffer SA, DiFiglia M, Wang Y, Aronin N, Khvorova A. Exosomes Produced from 3D Cultures of MSCs by Tangential Flow Filtration Show Higher Yield and Improved Activity. *Mol Ther.* 2018 Dec 5;26(12):2838-2847. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.09.015. Epub 2018 Sep 22. PMID: 30341012; PMCID: PMC6277553.
32. Farreell, Maureen. 2016. *Smeltzer & Bare Textbook of MedicalSurgical Nursing.* New Zealand: Wolters Kluwer.
33. Anggowarsito, Jose L. 2014. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *Jurnal*

Widya Medika Surabaya. 2(2): 115-120.

34. Moenadjat, Yefta. 2009. Luka Bakar: Masalah dan Tatalaksana. Jakarta: FKUI.
35. Wallace HA, Basehore BM, Zito PM. Fase Penyembuhan Luka. [Diperbarui 12 Juni 2023]. Dalam: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024, Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443/>
36. G. Bernardes, Beatriz & Del Gaudio, Pasquale & Alves, Paulo & Costa, Raquel & García-González, C.A. & Oliveira, Ana. (2021). Bioaerogels: Promising Nanostructured Materials in Fluid Management, Healing and Regeneration of Wounds. *Molecules*. 26. 3834. 10.3390/molecules26133834.
37. Ninan N, Thomas S, Grohens Y. Penyembuhan luka dalam urologi. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015 Mar; 82-83 :93-105.
38. Bowden LG, Byrne HM, Maini PK, Moulton DE. Model morfoelastis untuk menutup luka dermal. *Mekanobiol Model Biomekan*. Juni 2016; 15 (3):663-81.
39. Rahmi, Nofita R. (2017) Pembuatan Film Balutan Primer Yang Mengandung Kolagen Kulit Ikan Gabus (*Channa Striata*) Dan Pengaruh Film Terhadap Penyembuhan Luka Bakar. Doctoral Thesis, Universitas Andalas. <http://scholar.unand.ac.id/id/eprint/26120>
40. Mathen, C., Mrunal, G.S., Raghubansh, G., Wilfrid, D., and Shilpa, G.K, 2021. Evaluation of potential application of Wharton's jelly-derived human mesenchymal stromal cells and its conditioned media for dermal regeneration using rat wound healing model. *Cells Tiss. Org*, 210(1), pp. 31–44.
41. Oba, Jiro & Okabe, Motonori & Yoshida, Toshiko & Soko, Chika & Fathy, Moustafa & Amano, Koji & Kobashi, Daisuke & Wakasugi, Masahiro & Okudera, Hiroshi. (2020). Hyperdry human amniotic membrane application as a wound dressing for a full-thickness skin excision after a third-degree burn injury. *Burns & trauma*. 8. tkaa014. 10.1093/burnst/tkaa014.
42. Xu F, Zhang C, Graves DT. Abnormal cell responses and role of TNF- α in impaired diabetic wound healing. *Biomed Res Int*. 2013;2013:754802. doi:

- 10.1155/2013/754802. Epub 2013 Jan 20. PMID: 23484152; PMCID: PMC3581278.
43. An T, Chen Y, Tu Y, Lin P. Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles in the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: Application and Challenges. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2021.
 44. Novello S, Pellen-Mussi P, Jeanne S. Mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles as cell-free therapy: Perspectives in periodontal regeneration. *J Periodontal Res* [Internet]. 2021 Jun;56(3):433–42. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jre.12866>
 45. Casado-Díaz A, Quesada-Gómez JM, Dorado G. Extracellular Vesicles Derived From Mesenchymal Stem Cells (MSC) in Regenerative Medicine: Applications in Skin Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(March):1–19.
 46. Kazi T, Nagata A, Nakagawa T, Matsuzaki T, Inui S. Dermal Papilla Cell-Derived Extracellular Vesicles Increase Hair Inductive Gene Expression in Adipose Stem Cells via β -Catenin Activation. *Cells*. 2022;11(2).
 47. Zhang X, Bao P, Zheng Q, Chu M, Liang C, Guo X, et al. Comparative Analysis of mRNA and miRNA Expression between Dermal Papilla Cells and Hair Matrix Cells of Hair Follicles in Yak. *Cells*. 2022;11(24).
 48. Winkler I, Engler JB, Vieira V, Bauer S, Liu YH, Di Liberto G, et al. MicroRNA-92a-CPEB3 axis protects neurons against inflammatory neurodegeneration. *Sci Adv*. 2023;9(47).
 49. Liao Z, Zheng R, Shao G. Mechanisms and application strategies of miRNA-146a regulating inflammation and fibrosis at molecular and cellular levels (Review). Vol. 51, *International Journal of Molecular Medicine*. 2023.
 50. Choi JS, Yoon HI, Lee KS, Choi YC, Yang SH, Kim IS, et al. Exosomes from differentiating human skeletal muscle cells trigger myogenesis of stem cells and provide biochemical cues for skeletal muscle regeneration. *J Control Release*. 2016;
 51. Ruvolo PP, Jacamo R, Ruvolo VR, Burks JK, Battula VL, McQueen T, et al. Exosomes Mediate Communication Between the Microenvironment and

- Leukemic Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Blood*. 2012;120(21):3469–3469.
52. Qu Q, Pang Y, Zhang C, Liu L, Bi Y. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit vein graft intimal hyperplasia and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1).
 53. Kang K, Ma R, Cai W, Huang W, Paul C, Liang J, et al. Exosomes Secreted from CXCR4 Overexpressing Mesenchymal Stem Cells Promote Cardioprotection via Akt Signaling Pathway following Myocardial Infarction. *Stem Cells Int*. 2015;2015.
 54. Roshangar L, Soleimani Rad J, Kheirjou R, Reza Ranjkesh M, Ferdowsi Khosroshahi A. Skin Burns: Review of Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches. *Wounds*. 2019 Dec;31(12):308-315. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31730513.
 55. Li X, et al. Exosome derived from human umbilical cord mesenchymal stem cell mediates MiR-181c attenuating burn-induced excessive inflammation. *EBioMedicine*. 2016;8:72–82.
 56. Hettiaratchy S., Dziewulski P. Pathophysiology and Types of Burns. *BMJ*. 2004;328:1427–1429.
 57. Berda-Haddad Y, Robert S, Salers P, et al. Sterile inflammation of endothelial cell-derived apoptotic bodies is mediated by interleukin-1 α . *Proceedings of the National Academy of Sciences*.
 58. Guo S, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219–229.
 59. Behm B, Babilas P, Landthaler M, Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2012 Jul;26(7):812-20. doi: 10.1111/j.1468-3083.2011.04415.x. Epub 2011 Dec 26. PMID: 22211801.
 60. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen*. 2008 Sep-Oct;16(5):585-601. doi: 10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x. PMID: 19128254.

61. Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai J, Duan H, Chu W, Zhang H, Hu Q, Du J. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation promotes cutaneous wound healing of severe burned rats. *PLoS One*. 2014 Feb 20;9(2): e88348. doi: 10.1371/journal.pone.0088348. PMID: 24586314; PMCID: PMC3930522.
62. Jara CP, Wang O, Paulino do Prado T, et al. Novel fibrin-fibronectin matrix accelerates mice skin wound healing[J]. *Bioact Mater*, 2020,5(4):949-962
63. Leong M, Phillips LG, 2012. Wound Healing. Dalam: Sabiston Textbook of Surgery. Edisi ke-19. Amsterdam: Elsevier Saunders; h. 984-92
64. Wang A, Guo B, Jia Q, Chen YU, Gao X, Xu S. S100A9-containing serum exosomes of burn injury patients promote permeability of pulmonary microvascular endothelial cells. *J Biosci*. 2021. 46.
65. Aghayan, AH, Mohammadi, D., Atashi, A. *dkk*. Efek sinergis sel punca mesenkimal dan sekretomnya dengan perancah dalam penyembuhan luka bakar: tinjauan sistematis dan meta-analisis studi praklinis. *J Transl Med* **23**, 708 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12967-025-06712-y>
66. Eldaly AS, Mashaly SM, Fouda E, Emam OS, Aglan A, Abuasbeh J, Khurana A, Hamdar H, Fath AR. Systemic anti-inflammatory effects of mesenchymal stem cells in burn: A systematic review of animal studies. *J Clin Transl Res*. 2022 Jul 18;8(4):276-291. PMID: 35991083; PMCID: PMC9389574.
67. Li S, Li Y, Zhu K, He W, Guo X, Wang T, Gong S, Zhu Z. Exosomes from mesenchymal stem cells: Potential applications in wound healing. *Life Sci*. 2024 Nov 15;357:123066. doi: 10.1016/j.lfs.2024.123066. Epub 2024 Sep 19. PMID: 39306326.
68. Yang, G., Waheed, S., Wang, C., Shekh, M., Li, Z., & Wu, J. (2023). Exosomes and Their Bioengineering Strategies in the Cutaneous Wound Healing and Related Complications: Current Knowledge and Future Perspectives. *International journal of biological sciences*, 19(5), 1430–1454. <https://doi.org/10.7150/ijbs.80430>

69. Zhou, C., Zhang, B., Yang, Y. *et al.* Stem cell-derived exosomes: emerging therapeutic opportunities for wound healing. *Stem Cell Res Ther* **14**, 107 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03345-0>

