

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL *STEM CELLS (EH-MSCs)* TERHADAP
EKSPRESI *PLATELET DERIVATED GROWTH FACTOR*
(PDGF) DAN *INTERLEUKIN 10 (IL-10)*
(Studi Eksperimental *in Vivo* pada Tikus Wistar Model Luka Bakar
derajat III)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Fanni Yuniar
MBK 24.23.010443

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

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL (EH-MSCs)* TERHADAP EKSPRESI *PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR (PDGF)* DAN *INTERLEUKIN 10 (IL-10)*

(Studi Eksperimental *In Vivo* pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Luka Bakar Derajat Tiga)

Disusun oleh:

Fanni Yuniar
MBK. 24.23.010443

Yang dipertahankan didepan Tim Penguji pada tanggal 20 Agustus 2025 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima Telah disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. dr. Eko Setiawan, SpB.FINACS
NIK. 210113160

Pembimbing II



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

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B.FINACS
NIK. 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, 4 Agustus 2025



(Fanni Yuniar)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Fanni Yuniar
Tempat/Tanggal Lahir : Blora, 4 November 1989
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Bina Patra Cepu : Lulus tahun 1995
2. SD.N.XIV Cepu : Lulus tahun 2001
3. SMP.N.3 Cepu : Lulus tahun 2004
4. SMA.Darul Ulum 2 Jombang : Lulus tahun 2007
5. S1 Fakultas Kedokteran Unissula : Lulus tahun 2010
6. Profesi Dokter Unissula : Lulus tahun 2013
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)
- 8.

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : dr.H.Mohamad Ihsan Akbar MPH
2. Nama Anak : Muhammad Fachri Hasnawie Akbar
Almeera Zettatsania Akbar
Alyssa Zarmina Athirah Akbar

KATA PENGANTAR



Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)* TERHADAP EKSPRESI *PLATELET DERIVED GROWTH FACTOR***

(PDGF) DAN *INTERLEUKIN 10 (IL-10)* (Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus Jantan Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat Tiga)". Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

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

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M. Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan pendidikan Magister Biomedik.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
4. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan tesis.
6. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

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

Semarang, 04 Agustus 2025

(Fanni Yuniar)

ABSTRAK

Latar Belakang: Luka bakar derajat 3 merupakan cedera kulit berat yang ditandai dengan kerusakan seluruh lapisan dermis hingga jaringan subkutan, disertai gangguan proses penyembuhan. Proses regenerasi jaringan melibatkan faktor pertumbuhan seperti Platelet Derived Growth Factor (PDGF) serta sitokin antiinflamasi seperti Interleukin 10 (IL-10). Exosome yang dihasilkan oleh Mesenchymal Stem Cells (MSC), khususnya yang dikondisikan dalam lingkungan hipoksia, mengandung biomolekul yang berpotensi meningkatkan penyembuhan luka melalui proses modulasi ekspresi growth factor dan sitokin. Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap ekspresi PDGF dan IL-10 pada kulit tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dipapar luka bakar derajat III.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan design *post-test only control grup* dengan rancang acak lengkap, melibatkan tikus jantan galur wistar yang dibagi dalam lima kelompok perlakuan (K1, K2, K3, K4, K5). Sebanyak 30 ekor tikus diberikan paparan luka bakar derajat III dengan plat besi yang dipanaskan selama 10 detik dan ditempelkan pada bagian dorsal tikus dengan ukuran 2cm x 2cm, selanjutnya diberikan perlakuan berdasarkan kelompok selama 5 hari. Setelah hari ke 5, sampel jaringan diambil menggunakan biopsi punch sekitar 10-30mg. Ekspresi PDGF dan IL-10 dianalisis dengan qRT-PCR, dan data diuji menggunakan One-Way ANOVA.

Hasil: Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat peningkatan yang signifikan ekspresi IL-10 pada kelompok yang diberi Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells dibanding dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Tidak ada perbedaan bermakna pada ekspresi PDGF dengan kelompok kontrol lain ($p > 0,05$), meskipun terdapat tren peningkatan pada kelompok dengan dosis exosome 200 μ g.

Kesimpulan: Pemberian EH-MSCs dosis 200 μ g berpengaruh terhadap peningkatan ekspresi IL-10 pada tikus model luka bakar derajat III. Efek terhadap ekspresi PDGF menunjukkan pola dosis yang perlu diteliti lebih lanjut.

Kata Kunci: *Exosome, Hypoxia Mesenchymal Stem Cells, luka bakar derajat 3, PDGF, IL-10*

ABSTRACT

Background: Third-degree burns are severe skin injuries characterized by damage to the entire dermal layer and underlying subcutaneous tissues, accompanied by impaired wound healing. The tissue regeneration process involves growth factors such as Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) and anti-inflammatory cytokines like Interleukin-10 (IL-10). Exosomes derived from Mesenchymal Stem Cells (MSCs), particularly those conditioned in hypoxic environments, contain biomolecules with the potential to enhance wound healing by modulating the expression of growth factors and cytokines. This study aimed to investigate the effect of Exosome Hypoxia-MSCs (EH-MSCs) on the expression of PDGF and IL-10 in Wistar rats with third-degree burn injuries.

Methods: This experimental study employed a post-test only control group design, involving 30 male Wistar rats divided into five treatment groups (K1, K2, K3, K4, K5). Third-degree burns were induced on the dorsal area using a heated metal plate (2 × 2 cm) applied for 10 seconds. Treatments were administered according to group allocation over 5 days. On day 5, tissue samples were collected using a punch biopsy (10–30 mg). PDGF and IL-10 expression levels were analyzed using qRT-PCR, and the data were tested with One-Way ANOVA.

Results: The results showed a significant increase in IL-10 expression in the group treated with 200µg of Exosome Hypoxia-MSCs compared to the control group ($p < 0.05$). There was no statistically significant difference in PDGF expression compared to the control groups ($p > 0.05$), although there was a trend of increased expression in the group receiving 200µg exosomes.

Conclusion: Administration of 200µg of EH-MSCs influences the upregulation of IL-10 expression in rats with third-degree burn wounds. The effect on PDGF expression showed an increasing trend, warranting further investigation.

Keywords: Exosome, Hypoxia Mesenchymal Stem Cells, Third-Degree Burns, PDGF, IL-10

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	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	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Manfaat penelitian	4
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Platelet <i>Derived Growth Factor</i> (PDGF)	8
2.1.1. Definisi	8
2.1.2. Peran PDGF pada luka bakar.....	9
2.2. <i>Interleukin-10</i> (IL-10)	10

2.2.1. Definisi	10
2.2.2. Peran IL-10 pada penyembuhan luka bakar	10
2.3. Luka Bakar	11
2.3.1. Definisi	11
2.3.2. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan luka bakar:	12
2.3.3. Etiopatogenesis Luka Bakar	13
2.3.4. Patofisiologi Luka Bakar	14
2.3.5. Klasifikasi Luka Bakar	15
2.4. Luka Bakar derajat III	18
2.5. Penyembuhan Luka	18
2.5.1. Peran Keseimbangan Kelembapan dalam Penyembuhan Luka	21
2.6. Terapi Standar Untuk Luka Bakar Derajat III Dengan <i>Silver Sulfadiazine</i> (Burnazine®)	22
2.7. Hipoksia.....	23
2.8. <i>Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells</i> (EH-MSC).....	23
2.8.1. Definisi	23
2.8.2. Kandungan Exosome MSC	23
2.8.3. Metode Isolasi Exosome MSC	24
2.9. Efek <i>Exosome Hypoxia Stem Cells</i> (EH-MSCs) Terhadap Ekspresi PDGF dan IL-10 pada Tikus Wistar model luka bakar derajat III	27
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	29
3.1. Kerangka Teori.....	29
3.2. Kerangka Konsep	33
3.3. Hipotesis	33

BAB IV METODE PENELITIAN	34
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	34
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	35
4.2.1. Variabel penelitian.....	35
4.2.2. Definisi Operasional	35
4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	36
4.3.1. Subyek penelitian	36
4.3.2. Sampel Penelitian	37
4.4. Teknik Sampling	37
4.5. Besar Sampel.....	37
4.6. Alat dan Bahan	38
4.6.1. Alat Penelitian	38
4.6.2. Bahan Penelitian	38
4.7. Cara Penelitian.....	39
4.7.1. <i>Ethical clearance</i>	39
4.7.2. Prosedur Isolasi <i>Mesenchymal Stem Cell</i> dari <i>Umbilical Cord</i> (Metode <i>Collagenase</i>)	39
4.7.3. Isolasi <i>Exosome MSC</i>	41
4.7.4. Aklimatisasi Hewan Uji.....	42
4.7.5. Randomisasi Hewan Uji	42
4.7.6. Pembuatan Luka Bakar	42
4.7.7. Pemberian Treatment.....	43
4.7.8. Koleksi Sampel dan Analisis RT-PCR.....	43
4.7. Tempat dan Waktu Penelitian	46
4.8. Analisa Data	46

4.9. Alur Penelitian.....	48
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	49
5.1. Hasil Penelitian.....	49
5.1.1 Hasil Validasi MSC (<i>Mesenchymal Stem Cell</i>).....	50
5.1.2. Hasil Validasi Luka Bakar Derajat Tiga	52
5.1.3. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen PDGF.....	54
5.1.4. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen IL-10.....	56
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	58
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	62
6.1 Kesimpulan.....	62
6.2 Saran.....	62
DAFTAR PUSTAKA.....	64
LAMPIRAN.....	71



DAFTAR SINGKATAN

DAMPS	= <i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
EH-MSCs	= <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells</i>
IL-10	= <i>Interleukin-10</i>
kDA	= Kilo dalton
MSC	= <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
NF- κ B	= <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
PAMPS	= <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i>
PDGF	= <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PGE2	= Prostaglandin E2
PI3-K	= <i>Phosphoinositide 3-Kinase</i>
TNF- α	= <i>Tumor Necrosis Factor- α</i>
VEGF	= <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1.	Hasil Uji Deskriptif rata-rata ekspresi gen PDGF dan Uji <i>One way Anova</i>	54
Tabel 5.3.	Hasil Uji Deskriptif rata-rata ekspresi gen IL-10 dan Uji <i>One way Anova</i>	56
Tabel 5.4.	Hasil Uji <i>Post Hoc</i> LSD ekspresi gen IL-10.....	57



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Zona luka bakar	14
Gambar 2.2.	Klasifikasi Luka Bakar	16
Gambar 2.3.	Representasi skematis tahapan penyembuhan luka.....	19
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	32
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	33
Gambar 4.3	Alur Penelitian.....	48
Gambar 5.1	Morfologi MSCs. (A) morfologi MSC MSCs Passage 7 konfluensi 80% pada perbesaran 40x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi penanda permukaan spesifik MSC seperti CD45, CD31, CD90, dan CD29.	50
Gambar 5.2.	(A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteoblast pada pewarna alizarin red s dan (B) adiposit pada pewarna oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x)	51
Gambar 5.3.	Hasil Analisis Kadar Exosome menggunakan marker CD63 dan CD9	52
Gambar 5.4.	Validasi Makroskopi Tikus Luka Bakar	53
Gambar 5.5	Hasil validasi mikroskopik.....	53
Gambar 5.6.	Grafik rata-rata ekspresi gen PDGF setiap kelompok perlakuan ...	55
Gambar 5.7.	Grafik rata-rata ekspresi relatif gen IL-10 pada kelompok perlakuan	58

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Izin Etik Penelitian.....	71
Lampiran 2.	Surat Keterangan Hasil Penelitian.....	72
Lampiran 3.	Dokumentasi Penelitian.....	75
Lampiran 4.	Statistik eskpresi PDGF dan IL-10.....	77



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Luka bakar derajat 3 merupakan cedera jaringan yang berat, ditandai dengan kerusakan menyeluruh pada lapisan epidermis hingga dermis dan bahkan menembus jaringan subkutan.¹ Kondisi ini tidak hanya menyebabkan gangguan estetika, tetapi juga memicu proses inflamasi sistemik dan berisiko tinggi terhadap infeksi, syok, dan kematian jaringan permanen. Proses penyembuhan luka bakar derajat 3 berjalan lambat dan seringkali tidak optimal tanpa intervensi medis yang tepat. Dalam proses regenerasi jaringan, keterlibatan molekul biologis seperti Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dan Interleukin-10 (IL-10) sangat krusial dalam mempercepat proliferasi sel dan mengendalikan inflamasi yang berlebihan.

Urgensi penelitian ini terletak pada kebutuhan akan terapi yang tidak hanya menutup luka secara cepat, tetapi juga mampu memperbaiki struktur jaringan secara fungsional dan estetik. Luka bakar derajat 3, masih menjadi masalah kesehatan masyarakat yang signifikan, dengan angka kejadian yang cukup tinggi di negara berkembang. Menurut WHO, sekitar 180.000 kematian setiap tahun disebabkan oleh luka bakar, dan sebagian besar terjadi di negara berpendapatan rendah hingga menengah.³ Di Indonesia sendiri, berdasarkan data Riskesdas dan data rumah sakit nasional, kasus luka bakar terus dilaporkan dengan prevalensi cukup tinggi, terutama pada kelompok usia produktif dan anak-anak.³ Terapi konvensional pada luka bakar berat

umumnya berfokus pada perawatan topikal dan pembedahan, namun belum sepenuhnya mengatasi kerusakan jaringan pada tingkat seluler. Oleh karena itu, pendekatan biologis berbasis regenerative medicine seperti penggunaan exosome dari Mesenchymal Stem Cells (MSC) menjadi sangat menjanjikan. Exosome membawa muatan biomolekul aktif yang mampu memodulasi mikro lingkungan luka, mendukung regenerasi sel, dan menekan inflamasi berlebihan.

Secara kronologis, studi mengenai MSC dan sekresinya dalam bentuk exosome telah menunjukkan hasil menjanjikan pada berbagai model luka, baik in vitro maupun in vivo. Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Jiang Hongxia, *et al* menyoroti bahwa hipoksia dapat menginduksi perubahan pada muatan eksosom, yang selanjutnya mempengaruhi respon imun dan proses inflamasi. Namun tidak secara spesifik meneliti luka bakar derajat III, penelitian ini menunjukkan bahwa eksosom dari MSC yang dipreparasi dalam kondisi hipoksia berpotensi memodulasi Ekspresi PDGF dan IL-10, yang berperan penting dalam penyembuhan luka dan regulasi inflamasi.⁴ Luka bakar derajat 3 memicu kerusakan jaringan yang luas sehingga memicu pelepasan *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs). Molekul-molekul ini kemudian menstimulasi pembentukan Reactive Oxygen Species (ROS), yang akan mengaktivasi reseptor imun seperti *Toll-Like Receptor 4* (TLR-4). Aktivasi TLR-4 berlanjut pada aktivasi jalur transduksi sinyal *NF- κ B*, yang akan menginduksi respon inflamasi akut melalui aktivasi makrofag M1. Aktivasi M1 menghasilkan sitokin proinflamasi, memperburuk

kerusakan jaringan dan memperlambat penyembuhan luka. Untuk mengembalikan keseimbangan, sistem imun akan memicu transisi makrofag dari fenotipe M1 ke fenotipe M2, yang bersifat antiinflamasi dan pro-regeneratif. Makrofag M2 berperan penting dalam produksi Interleukin-10 (IL-10), sebuah sitokin antiinflamasi yang dapat menekan aktivitas inflamasi berlebihan dan mendukung proses perbaikan jaringan. Di sisi lain, aktivasi platelet selama proses penyembuhan juga menghasilkan Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), yang berperan dalam rekrutmen fibroblas, angiogenesis, dan regenerasi jaringan.

Dalam konteks terapi regeneratif, pemberian Exosome dari Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs) telah terbukti mampu menekan jalur inflamasi berlebih dan mendorong peningkatan makrofag M2, sehingga meningkatkan kadar IL-10. Selain itu, EH-MSCs juga dapat menstimulasi aktivitas platelet, sehingga meningkatkan produksi PDGF. Dengan kata lain, exosome hypoxia-MSCs bekerja pada dua jalur sekaligus: menekan inflamasi dan merangsang regenerasi, menjadikannya agen terapi yang potensial dalam mempercepat penyembuhan luka bakar derajat 3. *Exosome* MSC yang menghasilkan IL-10 melalui NF- κ B, IL 10 menghambat produksi beberapa sitokin PDGF. NF- κ B diharapkan dapat mengatur keseimbangan PDGF dan IL-10 Maka dari itu Studi ini bermaksud guna membuktikan pengaruh *Exosome hypoxia* MSC pada ekspresi PDGF dan IL-10 tikus model luka bakar derajat III.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin 10* (IL-10) pada tikus model luka bakar derajat III?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap Ekspresi *Platelet Derivated Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin 10* (IL-10) pada tikus model luka bakar derajat III.

2. Tujuan Khusus

- a. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB terhadap ekspresi *Platelet Derivated Growth Factor* (PDGF) pada Tikus model luka bakar derajat III.
- b. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB terhadap ekspresi *Interleukin 10* (IL-10) pada Tikus model luka bakar derajat III.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap

Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin 10* (IL-10) pada Tikus Wistar model luka bakar derajat III.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Hasil penelitian ini dapat memberikan pengetahuan yang berguna bagi masyarakat mengenai kegunaan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* untuk memperbaiki luka bakar derajat III.
- b. Bagi praktisi kesehatan, temuan ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru terkait potensi terapi dengan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* sebagai agen antiinflamasi.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Variabel Bebas	Hasil
1	Bayu Tirta, et al 2024	<i>Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic Mesenchymal Stem Cells Secretome: IL-10 Upregulation and TNF-α/PGE2 Suppression</i>	Pemberian sekretom hipoksia yang berasal dari Mesenchymal Stem Cells (MSC)	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, et al 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.
3	Rayanne Lisboa Mesquita, et al 2016	<i>Effect of low-intensity therapeutic ultrasound on wound healing in rats subjected to third-degree burns</i>	Pemberian low- intensity therapeutic ultrasound (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, et al 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

kontrol dan kelompok yang diberi perawatan lainnya. Studi histologis menunjukkan peningkatan signifikan pada ketebalan total lapisan dermal dan epidermis kulit pada kelompok eksperimen ini 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 *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin 10* (IL- 10) untuk penyembuhan luka bakar derajat III pada tikus wistar sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Platelet Derived Growth Factor (PDGF)

2.1.1. Definisi

Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) adalah sekelompok faktor pertumbuhan protein yang memainkan peran penting dalam berbagai proses biologis, termasuk proliferasi sel, penyembuhan luka, dan angiogenesis.¹⁰ PDGF terdiri dari empat polipeptida yang berbeda, yaitu PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C, dan PDGF-D. Polipeptida ini dapat berikatan membentuk dimer yang aktif secara biologis, baik sebagai homodimer (seperti PDGF-AA, PDGF-BB) maupun heterodimer (seperti PDGF-AB).¹¹⁻¹⁵

Setiap dimer memiliki spesifisitas dan fungsi biologis yang unik. Ukuran molekul dari PDGF bervariasi tergantung pada jenisnya; PDGF-A dan PDGF-B memiliki berat molekul sekitar 14-17 kDa per monomer, sementara PDGF-C dan PDGF-D lebih besar, dengan berat molekul sekitar 23-24 kDa per monomer. PDGF-C dan PDGF-D, meskipun masih belum banyak dipahami dibandingkan PDGF-A dan PDGF-B, protein ini juga berperan dalam proses angiogenesis dan penyembuhan luka. PDGF terutama disekresikan dari α -granula trombosit, tetapi juga diproduksi oleh berbagai sel yang muncul pada tahap awal penyembuhan luka, termasuk trombosit, makrofag, keratinosit, fibroblas, dan sel endotel vascular.¹⁶

2.1.2. Peran PDGF pada luka bakar

PDGF memainkan peran penting dalam mendorong penyembuhan luka karena merupakan mitogen paling kuat dalam serum untuk sel-sel asal mesenkim termasuk fibroblas, sel glia, dan sel otot polos. *PDGF* mempercepat penyembuhan luka dengan menstimulasi kemotaksis dan proliferasi fibroblas, sel otot polos, monosit, dan neutrofil. *PDGF* berperan penting dalam modifikasi matriks ekstraseluler dengan menstimulasi sintesis kolagen, kolagenase, dan glikosaminoglikan.¹⁶

Penyembuhan luka bakar dimulai dari fase inflamasi yang dapat dibagi menjadi respon seluler dan respon vaskular. Migrasi dari sel neutrofil akan diikuti dengan peningkatan jumlah monosit pada daerah yang terinflamasi. Monosit lalu akan berubah menjadi makrofag dan membantu proses fagositosis dengan membersihkan jaringan nekrosis dan toksik pada jaringan luka. Makrofag berperan pada jaringan luka dari awal fase inflamasi hingga fase maturasi dan pembentukan skar. Makrofag mengeluarkan faktor pertumbuhan seperti *PDGF* yang juga menginisiasi respon inflamasi pada situs luka. Monosit diubah menjadi makrofag teraktivasi yang terakumulasi di lokasi luka untuk menghasilkan berbagai *Growth Factor* seperti *PDGF* untuk merangsang proliferasi dan migrasi sel.

Penghambatan jalur sinyal *PDGF* mengakibatkan hilangnya perisit dan penurunan kepadatan pembuluh darah pada kornea yang mengalami neovaskularisasi yang berkorelasi dengan penurunan ekspresi mRNA *PDGF*, *ang1/2*, dan *VEGF*. *PI3-K* diketahui terlibat dalam regulasi *VEGF*, *ang1*, dan

PDGF, karena inhibitor PI3-K wortmannin atau LY294002 memiliki efek yang serupa. Karena PDGF merupakan stimulus yang diketahui untuk aktivasi PI3-K, penurunan Ekspresi mRNA VEGF, ang1/2, dan PDGF pada pemberian inhibitor PDGF disebabkan oleh penurunan aktivasi kaskade pensinyalan PI3-K.¹⁷

2.2. Interleukin-10 (IL-10)

2.2.1. Definisi

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin anti-inflamasi poten yang memainkan peran penting, dan seringkali esensial, dalam mencegah patologi inflamasi dan autoimun. IL-10 awalnya dideskripsikan sebagai sitokin turunan T helper 2, namun, secara luas diterima bahwa IL-10 tidak terbatas pada subset sel T tertentu tetapi diproduksi di hampir semua leukosit. In vivo, sumber utama IL- 10 meliputi sel T helper, monosit, makrofag, dan sel dendritik, namun berbagai jenis sel efektor imun mampu memproduksi IL-10 dalam konteks tertentu termasuk sel B, sel T sitotoksik, sel NK, sel mast, dan granulosit seperti neutrofil dan eosinofil. Selain itu, jenis efektor non-imun seperti sel epitel dan keratinosit juga mampu memproduksi IL-10 sebagai respons terhadap infeksi atau kerusakan jaringan serta sel tumor.¹⁸

2.2.2. Peran IL-10 pada penyembuhan luka bakar

Interleukin-10 (IL-10), juga dikenal sebagai 'faktor penghambat sintesis sitokin' (CSIF), adalah sitokin pleiotropik dengan fungsi imunoregulasi penting. Ia memiliki sifat anti-inflamasi dan memengaruhi

aktivitas *beberapa* jenis sel sistem imun. IL-10 terutama disekresikan oleh sel-T aktif, *monosit*, makrofag, sel dendritik, sel pembunuh alami (NK) dan sel- B.¹⁹

Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin yang telah diteliti dengan baik yang *diproduksi* oleh banyak sel dalam sistem imun bawaan dan adaptif. IL-10 *memainkan* peran utama dalam pengaturan respons sel inflamasi dan sitokin yang dapat memengaruhi penyembuhan luka kulit. Sistem imun bawaan adalah yang pertama kali diaktifkan setelah cedera kulit, Pola molekuler terkait kerusakan (DAMPs) dan pola molekuler terkait patogen (PAMPs) memicu aktivasi dan pelepasan histamin dari sel mast, yang menyebabkan perekrutan monosit dan neutrofil ke luka.¹⁹

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 (*electric*), zat kimia (*chemycal*), atau radiasi (*radiation*).²⁰ 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.²¹

Luka bakar dibedakan menjadi tiga yaitu derajat pertama, kedua superfisial, kedua dalam, dan derajat ketiga. Luka bakar derajat satu hanya mengenai epidermis yang disertai eritema dan nyeri. Luka bakar derajat

kedua superfisial meluas ke epidermis dan sebagian lapisan dermis yang disertai *lepuh* dan sangat nyeri. Luka bakar derajat kedua dalam meluas ke seluruh dermis. Luka bakar derajat ketiga meluas ke epidermis, dermis, dan jaringan subkutis, seringkali kapiler dan vena hangus dan darah ke jaringan tersebut berkurang. Penanganan dalam penyembuhan luka bakar antara lain mencegah infeksi dan memberi kesempatan sisa-sisa sel epitel untuk berproliferasi dan menutup permukaan luka. Luka bakar mungkin tampak putih, hitam, atau hangus. Seringkali, hal ini menyebabkan mati rasa akibat kerusakan saraf.^{20,22}

2.3.2. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan luka bakar:²⁰

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

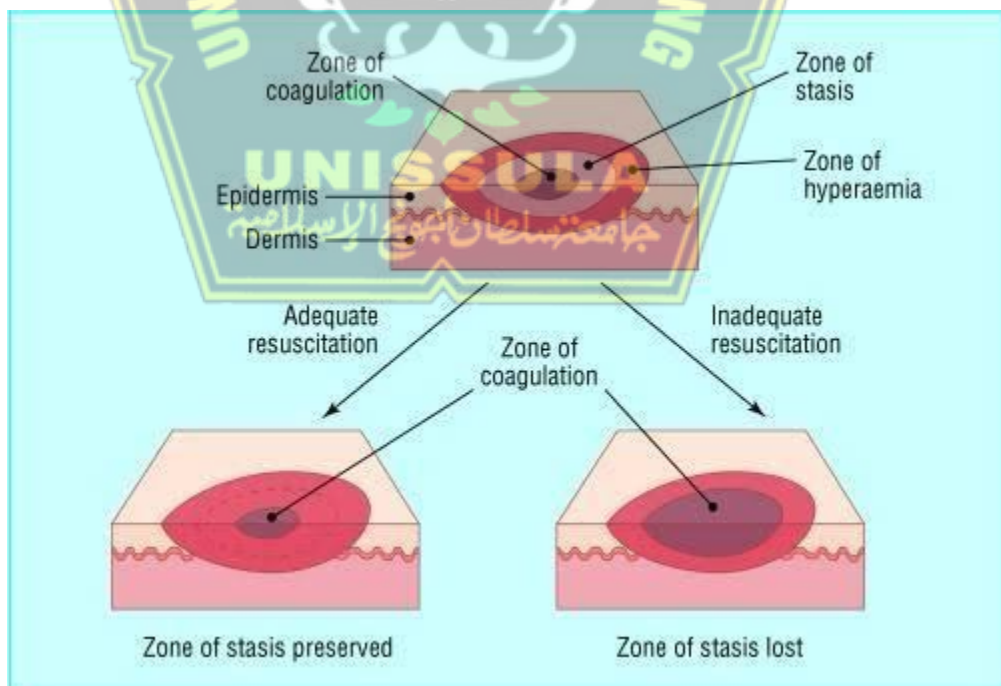
Berdasarkan perjalanan penyakitnya, luka bakar dibagi menjadi fase akut, fase subakut dan fase lanjut. Pada fase akut terjadi gangguan keseimbangan sirkulasi cairan dan elektrolit akibat cedera termis bersifat sistemik yang dapat mengakibatkan terjadinya syok hipovolemik. Fase sub akut berlangsung setelah syok berakhir yang ditandai dengan keadaan hipermetabolisme, infeksi hingga sepsis serta inflamasi dalam bentuk SIRS (*Systemic Inflammatory Respon Syndrome*). Luka terbuka akibat kerusakan jaringan (kulit dan jaringan di bawahnya) menimbulkan inflamasi, sepsis dan penguapan cairan tubuh disertai panas atau energi.²³ 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.^{23,24}

Fase lanjut berlangsung setelah fase subakut hingga pasien sembuh. Penyulit pada fase ini adalah parut yang hipertrofik, keloid gangguan pigmentasi, deformitas dan timbulnya kontraktur.²⁴

2.3.4. Patofisiologi Luka Bakar

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. Pada prinsipnya, lokasi luka bakar kulit dapat dibagi menjadi tiga zona.²¹

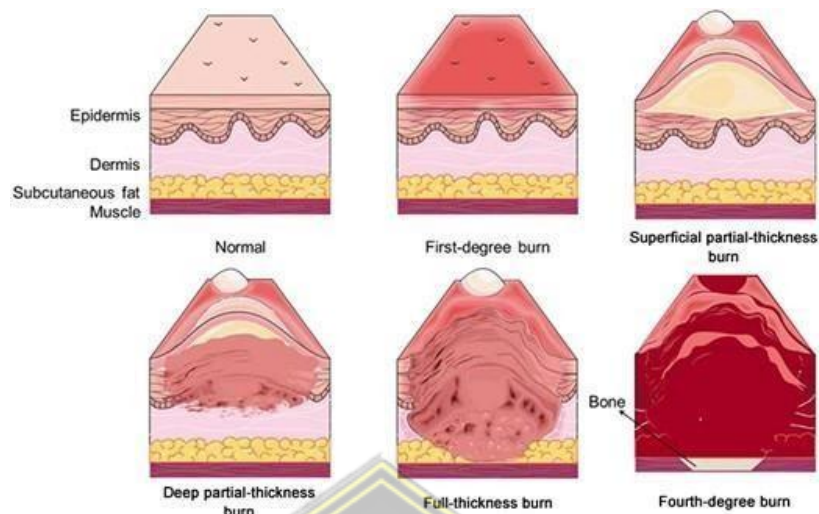


Gambar 2.1. Zona luka bakar²⁵

- 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.²¹ 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.²⁶



Gambar 2.2. Klasifikasi Luka Bakar²³

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.²⁷

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.²⁸

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.²⁸

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.²¹

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.²⁹ Selain itu, luka bakar derajat III juga ditandai dengan adanya eskar.³⁰ 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.³¹ Berdasarkan alasan tersebut eskar harus dihilangkan atau dikelupas agar terjadi proses penyembuhan luka.³²

2.5. Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka melibatkan sejumlah proses yang berbeda yang harus dilakukan untuk memperbaiki kerusakan jaringan. Lingkungan yang optimal untuk proses penyembuhan luka yang alami adalah lingkungan hangat, lembab dan tidak beracun. Proses penyembuhan luka 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 trombusis. Vasokonstriksi ini merupakan proses jangka pendek yang segera diikuti oleh vasodilatasi, yang memungkinkan masuknya sel darah putih dan lebih banyak trombosit.³⁴



Gambar 2.3. Representasi skematis tahapan penyembuhan luka.³⁵

a. Fase inflamasi (*The inflammatory phase*)

Dimulai dengan hemostasis dan kemotaksis. Baik sel darah putih maupun trombosit mempercepat proses inflamasi dengan melepaskan lebih banyak mediator dan sitokin. Selain faktor pertumbuhan yang berasal dari trombosit, faktor-faktor lain mendorong degradasi kolagen, transformasi fibroblas, pertumbuhan pembuluh darah baru, dan re-epitPCRs. 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.³⁶

b. Fase proliferasi (*The proliferative*)

Fase proliferasi atau granulasi tidak terjadi pada suatu waktu tertentu, tetapi berlangsung terus-menerus di latar belakang. 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.³⁷

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.³⁷

2.5.1. Peran Keseimbangan Kelembapan dalam Penyembuhan Luka

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*).³⁸ 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.³⁹ Namun, ada beberapa faktor yang juga dapat membuat penyembuhan luka menjadi terhambat antara lain: sistem imun, usia, stres, dan beberapa jenis penyakit.⁴⁰

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'.⁴¹

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 Cells (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.⁴²⁻⁴⁴

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.^{45,46} Selain itu, miRNA-92a dan miRNA-146a memiliki sifat anti- inflamasi yang membantu mengurangi peradangan.^{47,48}

b. Protein dan Enzim

Exosome MSC mengandung berbagai protein dan enzim yang mendukung regenerasi jaringan dan pertumbuhan sel.^{49,50}

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.⁵¹

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.^{52,53}

2.8.3. Metode Isolasi Exosome MSC

Isolasi *exosome* dari *mesenchymal stem cell* (MSC) dari medium kultur adalah proses penting untuk mempelajari fungsi dan aplikasi terapinya. Beberapa metode isolasi telah dikembangkan untuk memastikan kemurnian dan integritas *exosome* yang diisolasi. Berikut adalah beberapa metode yang umum digunakan:

a. Ultrasentrifugasi Diferensial

Metode ini adalah yang paling umum digunakan untuk isolasi *exosome*. Proses ini melibatkan beberapa tahap centrifugasi pada kecepatan yang berbeda untuk menghilangkan sel, debris seluler, dan partikel-partikel yang lebih besar. Pertama, medium kultur disentrifugasi pada kecepatan rendah untuk menghilangkan sel-sel dan debris besar. Supernatan kemudian disentrifugasi pada kecepatan lebih tinggi untuk mengendapkan mikrovesikel dan partikel yang lebih besar dari *exosome*. Akhirnya, supernatan disentrifugasi pada kecepatan sangat tinggi (100,000-120,000 x g) untuk mengendapkan *exosome*. *Pellet exosome* kemudian dicuci dan disentrifugasi ulang untuk meningkatkan kemurnian.⁵³

b. *Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells In Scalable Microcarrier- Based Threedimensional (3D) Culture.*

Metode ini dikombinasi dengan ultracentrifugasi diferensial konvensional, kultur 3D menghasilkan 20 kali lipat lebih banyak eksosom (3D-UC-eksosom) daripada kultur dua dimensi (2D-UC eksosom). *Tangential flow filtration* (TFF) yang dikombinasikan dengan kultur sel punca mesenkimal 3D semakin meningkatkan hasil eksosom (eksosom 3D-TFF) sebanyak 7 kali lipat dibandingkan eksosom 3D-UC. Eksosom 3D-TFF tujuh kali lebih kuat dalam transfer siRNA (*small interfering RNA*) ke neuron dibandingkan dengan eksosom 2D-UC. Kultur 3D berbasis mikrokarrier dan TFF memungkinkan produksi

eksosom aktif biologis yang dapat diskalakan dari sel punca mesenkimal.⁵⁴

c. Ultrafiltrasi

Metode ini menggunakan membran filter dengan ukuran pori tertentu untuk memisahkan *exosome* berdasarkan ukuran. Medium kultur difiltrasi melalui membran untuk menghilangkan partikel yang lebih besar dan molekul kecil, sementara *exosome* tertahan di membran. Ultrafiltrasi sering digunakan sebagai langkah tambahan setelah ultracentrifugasi untuk meningkatkan kemurnian *exosome*.⁵³

d. Kromatografi Afinitas

Metode ini memanfaatkan interaksi spesifik antara molekul di permukaan *exosome* dengan ligan yang terikat pada matriks kromatografi. Antibodi yang spesifik terhadap marker permukaan *exosome* seperti CD63, CD81, dan CD9 sering digunakan. Medium kultur dilewatkan melalui kolom yang mengandung ligan ini, sehingga *exosome* yang mengandung marker permukaan yang sesuai akan terperangkap dan kemudian dielusi.⁵³

e. Presipitasi Polimer

Metode ini melibatkan penggunaan polimer, seperti *polyethylene glycol* (PEG), yang menginduksi presipitasi *exosome* dari medium kultur. Polimer ini ditambahkan ke medium kultur dan diinkubasi, kemudian campuran disentrifugasi pada kecepatan rendah untuk mengendapkan *exosome*. Metode ini relatif cepat dan sederhana, namun bisa

menghasilkan eksosom dengan kemurnian yang lebih rendah dibandingkan metode lain.⁵³

f. Isolasi Berdasarkan Densitas

Metode ini melibatkan penggunaan gradien densitas, seperti *gradien sucrose* atau *iodixanol*, untuk memisahkan *exosome* berdasarkan densitas mereka. Medium kultur ditempatkan pada gradien densitas dan disentrifugasi pada kecepatan tinggi. *Exosome* akan terpisah pada lapisan yang sesuai dengan densitas mereka, yang kemudian dapat diambil secara terpisah.⁵³

2.9. Efek *Exosome Hypoxia Stem Cells* (EH-MSCs) Terhadap Ekspresi PDGF dan IL-10 pada Tikus Wistar model luka bakar derajat III

Exosome dari *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) telah banyak diteliti sebagai terapi regeneratif, termasuk untuk penyembuhan luka bakar. Salah satu mekanismenya adalah dengan memodulasi kadar faktor pertumbuhan dan sitokin pro- maupun anti-inflamasi. Berikut adalah efek utama *exosome* MSC terhadap *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin-10* (IL-10) pada model tikus dengan luka bakar:

1. *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF)

PDGF berperan dalam stimulasi migrasi dan proliferasi fibroblas serta angiogenesis, yang esensial dalam proses penyembuhan luka. Pemberian *exosome* MSC dapat meningkatkan ekspresi PDGF, yang mempercepat pembentukan jaringan granulasi dan re-epitelisasi luka. Beberapa studi menunjukkan bahwa *exosome* MSC mengandung

microRNA dan protein yang mengaktivasi jalur sinyal PDGF, mempercepat regenerasi jaringan.

2. *Interleukin 10* (IL-10)

IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi yang berfungsi mengurangi respons inflamasi berlebihan, yang umum terjadi pada luka bakar. Exosome MSC dapat meningkatkan ekspresi IL-10, yang membantu menekan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, sehingga mengurangi peradangan dan mencegah fibrosis berlebihan. Peningkatan IL-10 juga berkontribusi pada pengurangan apoptosis sel dan peningkatan remodeling jaringan. Exosome MSC memiliki efek pro-regeneratif dan anti-inflamasi yang signifikan pada luka bakar. Peningkatan PDGF membantu mempercepat perbaikan jaringan, sementara peningkatan IL-10 mengurangi peradangan dan mendukung proses penyembuhan yang lebih optimal.

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. Saran untuk penggunaan DAMPs sebagai biomarker untuk kedua kondisi tersebut dilaporkan, 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.⁵⁵ 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.^{55,56} 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.²⁵ 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.^{22,55,56} Respons ini terjadi pada pasien trauma, bedah, dan pasien sakit kritis, meskipun pada luka bakar, respons ini memiliki tingkat keparahan dan besarnya yang unik.^{57,58} 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).²² Pada luka bakar, DAMP dihasilkan oleh kerusakan jaringan yang dimediasi oleh luka bakar dan dikenali melalui TLR dan reseptor mirip NOD (NLR).⁵⁹ Jalur TLR yang bergantung pada MyD88 mendorong polarisasi M1 dan ekspresi sitokin pro- inflamasi. Reseptor mirip Toll sangat penting dalam regulasi proses polarisasi M1.⁶⁰ Selama proses penyembuhan luka refrakter, fungsi makrofag tidak normal seperti ketidakseimbangan makrofag M1/M2.

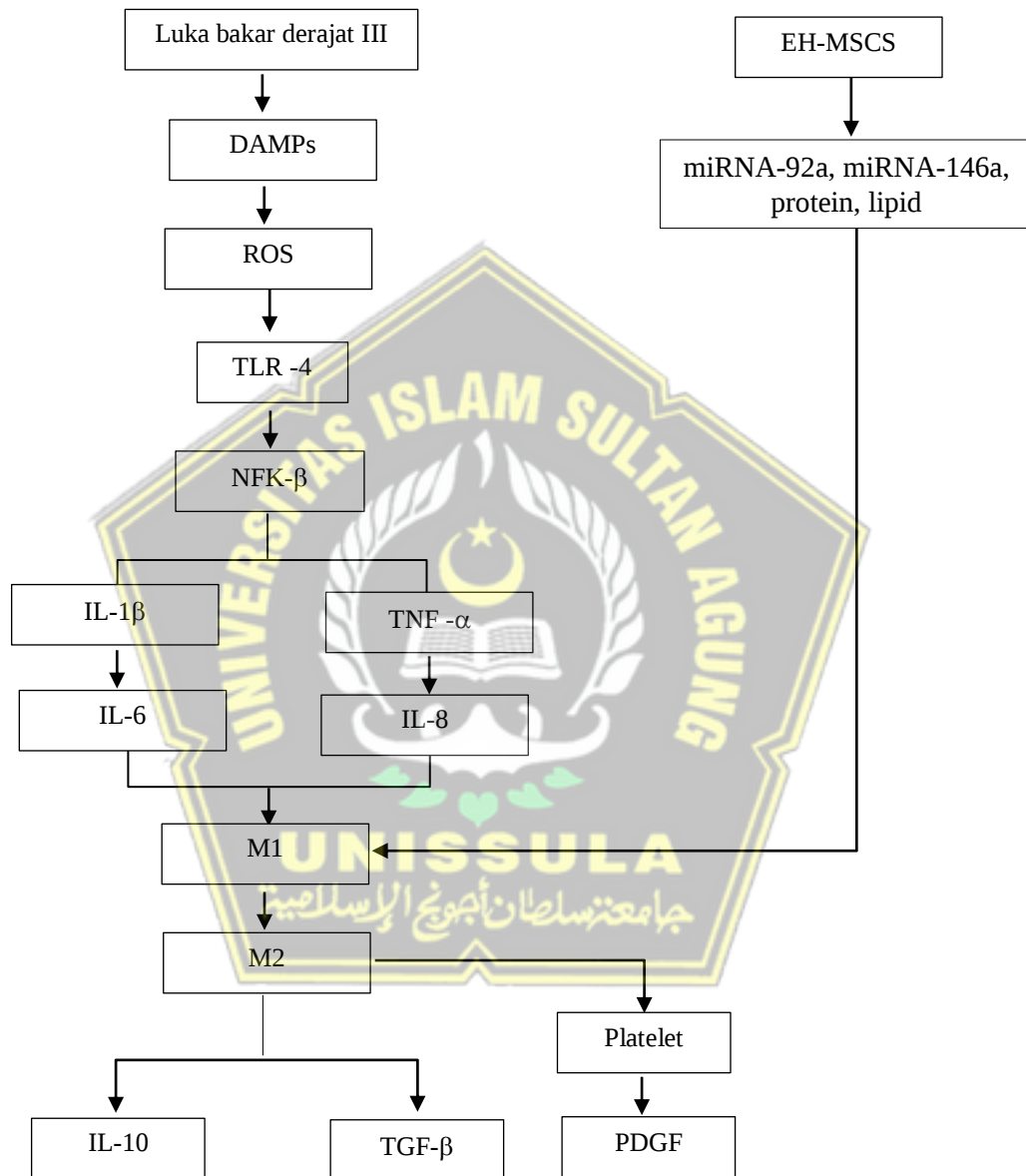
Eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal (MSC) memiliki beragam fungsi dalam mengatur penyembuhan luka dan peradangan; namun, mekanisme molekuler eksosom yang berasal dari MSC tali pusat manusia (hUCMSC) dalam mengatur peradangan yang disebabkan oleh luka bakar. Ditemukan bahwa luka bakar secara signifikan meningkatkan reaksi peradangan atau makrofag, dengan meningkatkan Ekspresi *Platelet-derived growth factor* (PDGF) dan menurunkan ekspresi *Interleukin-10* (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 TLR4.⁶¹

Mekanisme Aktivasi NF- κ B jalur kanonik Inisiasi mekanisme ini dipromosikan oleh aksi beberapa sinyal sitokin, seperti PDGF, dan IL-10, 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.^{62,63} NF-Kb 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.^{60,64}

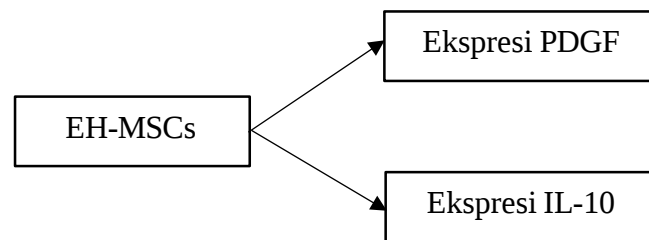
Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) adalah faktor survival utama yang menghambat apoptosis dan mendorong proliferasi, transkripsi NF-kappaB penting dalam pensinyalan PDGF.⁶⁵ Jalur pensinyalan faktor

transkripsi NF- κ B mengatur berbagai proses dalam sel imun bawaan dan adaptif,⁶⁸ sehingga diharapkan dapat mengatur keseimbangan PDGF dan IL-10.



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 Cells* terhadap Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin 10* (IL-10) pada Tikus Wistar dengan luka bakar derajat III.



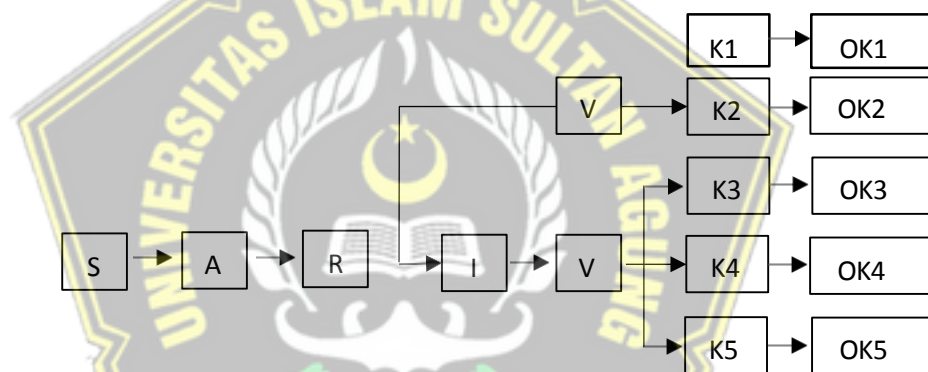
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian studi eksperimental ini dilakukan secara *in vivo* dengan desain *Post- test Only Control Group* dan menggunakan metode rancangan acak lengkap untuk setiap perlakuan.

Berikut merupakan rancangan penelitian yang akan dilakukan. Penelitian ini menggunakan lima kelompok dengan rincian sebagai berikut :



Gambar 4.1. Rancangan Penelitian

Keterangan :

- S : Sampel
- A : Aklimatisasi
- R : Randomisasi
- I : Induksi Luka Bakar Derajat Tiga
- V : Validasi Luka Bakar Derajat Tiga menggunakan *HE*
- K1 : Tikus Sehat yang tidak diberikan perlakuan
- K2 : Tikus dengan Luka Bakar Derajat Tiga diberi Nacl
- K3 : Tikus dengan Luka Bakar Derajat Tiga diberi Burnazine
- K4 : Tikus dengan Luka Bakar Derajat Tiga diberi E-MSC dosis 100 uL
- K5 : Tikus dengan Luka Bakar Derajat Tiga diberi E-MSC dosis 200 uL
- OK1 : Observasi Ekspresi PDGF dan Ekspresi IL 10
- OK2 : Observasi Ekspresi PDGF dan Ekspresi IL-10
- OK3 : Observasi Ekspresi PDGF dan Ekspresi IL-10
- OK4 : Observasi Ekspresi PDGF dan Ekspresi IL-10
- OK5 : Observasi Ekspresi PDGF dan Ekspresi IL-10

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel penelitian

- a. Variabel Bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Exosome Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dengan dosis 100ug dan 200ug.
- b. Variabel Tergantung penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) dan *Interleukin* 10 (IL- 10).
- c. Variabel Prakondisi penelitian ini adalah paparan lempeng besi.

4.2.2. Definisi Operasional

- a. *Exosome Mesenchymal Stem Cell* (EMSCs)
Exosome MSC adalah eksosome hasil isolasi dari kultur MSC hipoksia yang diberikan secara subcutan dalam dosis 100µg dan 200µg di 1jam, 24jam, 3hari setelah luka bakar derajat tiga.

Satuan : µg

Skala : Rasio

- b. Ekspresi PDGF

Ekspresi PDGF merupakan ekspresi gen PDGF dari jaringan kulit dengan luka bakar derajat 3 pada hari ke 5 setelah pemberian E-MSC yang diukur menggunakan metode RT PCR.

Satuan : fold change

Skala : Rasio

c. Ekspresi IL-10

Ekspresi IL-10 merupakan ekspresi gen IL-10 dari jaringan kulit dengan luka bakar derajat 3 pada hari ke 5 setelah pemberian E-MSC yang diukur menggunakan metode RT PCR.

Satuan : fold change

Skala : Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

4.3.1.1. Kriteria inklusi

- a. Tikus galur Wistar jantan
- b. Usia 6-8 minggu
- c. Berat badan 200-250 g
- d. Tidak memiliki kelainan anatomis
- e. Tikus bergerak secara aktif.

4.3.1.2. Kriteria Eksklusi

- a. Reaksi alergi terhadap exosome.
- b. Kondisi stres ekstrem yang mengganggu prosedur injeksi.
- c. Tikus yang sakit selama masa penelitian.

4.3.1.3. Kriteria *drop out*

- a. Tidak menerima terapi sesuai protokol
- b. Tikus mati selama penelitian.

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) galur wistar dewasa dengan berat 200-250 gram $\pm$ 10gr (cv=5%) yang termasuk kriteria inklusi. Semua sampel tikus yang dipilih untuk penelitian ini setelah dinyatakan sehat dan layak oleh 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 linitum.

4.4. Teknik Sampling

Sampling adalah strategi yang digunakan untuk memilih elemen dari populasi untuk diteliti. Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling* dimana pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana karena anggota populasi tikus putih jantan disediakan dengan cara yang sama dan memiliki karakteristik yang homogen.

4.5. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan besaran sampel dihitung menggunakan rumus Federer, dimana t adalah jumlah kelompok perlakuan, dan n adalah jumlah sampel perkelompoknya. Sehingga diperoleh perhitungan besaran sampel:

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

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

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan 5 ekor sampel perkelompok perlakuan. Sebagai antisipasi kemungkinan terjadinya *drop out*, maka ditambahkan 1 ekor sampel perkelompok perlakuan, sehingga jumlah total sampel yang digunakan adalah $(5 \times 5) + 5$ ekor, yakni 30 ekor tikus.

4.6. Alat dan Bahan

4.6.1. 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 *Invereted microscope*, *Hotplate stirrer*, *Dissposable pipet*, *Heparin tube*, *Conical tune*, *Cryo tube*, *Haemocytometer*, *Cell counter*.

4.6.2. 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*, *trypsin*,

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 PDGF dan IL-10.

4.7. Cara Penelitian

4.7.1. *Ethical clearance*

Penelitian dimulai dengan mengajukan permohonan persetujuan etik kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang setelah mendapatkan persetujuan proposal penelitian dari pembimbing dan penguji. Permohonan ini diperlukan untuk memastikan bahwa penelitian dilakukan sesuai dengan prinsip-prinsip etika dalam penggunaan hewan percobaan. Persetujuan etik juga menjamin bahwa perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan dengan memperhatikan kesejahteraan dan hak-hak hewan, serta meminimalkan penderitaan yang tidak perlu.

4.7.2. Prosedur Isolasi *Mesenchymal Stem Cell* dari *Umbilical Cord* (Metode *Collagenase*)

Seluruh prosedur dilakukan di kabinet biosafety kelas 2 dengan tingkat sterilitas dan peralatan steril yang tinggi.

1. Kumpulkan tali pusat segera setelah tikus melahirkan.

2. Simpan tali pusat dalam medium transportasi dengan FBS 2% dan simpan pada suhu 4°C.
3. Cuci tali pusat beberapa kali dengan PBS (phosphate-buffered saline) yang mengandung antibiotik-antimycotic untuk menghilangkan darah dan kontaminan.
4. Potong tali pusat menjadi segmen-segmen kecil (1-2 cm).
5. Buang pembuluh darah dari segmen tali pusat untuk memperoleh Wharton's Jelly.
6. Wharton's Jelly dipisahkan dari membran luar dan dibagi menjadi potongan-potongan kecil.
7. Inkubasi potongan Wharton's Jelly dalam larutan enzim kolagenase tipe I (0,1%- 0,2%) dan dispase (0,1%) pada suhu 37°C selama 30-60 menit dengan pengadukan lembut.
8. Setelah inkubasi, tambahkan medium kultur untuk menghentikan aktivitas enzim.
9. Resuspensi pellet sel dalam medium kultur MSC (seperti DMEM dengan 10- 20% FBS).
10. Tanam sel dalam flask T75 kultur dan inkubasi pada 37°C dengan 5% CO₂.
11. Ganti medium setiap 2-3 hari sekali.
12. Sel MSC biasanya menempel pada permukaan cawan dalam 7-14 hari dan membentuk koloni fibroblastoid.
13. Setelah mencapai konfluensi 70-80%, sel dapat dipanen dengan tripsinisasi untuk subkultur atau karakterisasi lebih lanjut.

14. Uji ekspresi penanda permukaan spesifik MSC seperti CD73, CD90, dan CD105 dengan *flow cytometry*.

4.7.3. Isolasi *Exosome* MSC

Isolasi E-MSC menggunakan metode tangential flow filtration (TFF) adalah sebagai berikut :

1. Kultur sel MSC hingga mencapai 70-80% konfluensi dalam media kultur yang sesuai
2. Ganti media dengan serum-free media untuk menghindari kontaminasi eksosom dari serum hewan.
3. Inkubasi sel MSC dengan serum free media selama 48-72 jam untuk menghasilkan eksosom.
4. Kumpulkan media yang telah dikondisikan oleh MSC untuk proses filtrasi.
5. Lakukan sentrifugasi media kondisioning pada 300g selama 10 menit untuk menghilangkan sel sel yang tersisa.
6. Sengtrifugasi supernatan pada 2000g selama 20 menit untuk menghilangkan debris seluler dan apoptotic bodies.
7. Gunakan filtrasi dengan pori 0,22 μm untuk menghilangkan partikel yang lebih besar dari eksosom.
8. Siapkan sistem TFF dengan filter 200-500kDa
9. Transfer medis yang telah difiltrasi mikro kedalam sistem TFF.
10. Jalankan media melalui filter TFF untuk memusatkan eksosom dengan ukuran 200-500kDa.

11. Kumpulkan retentat (yang mengandung eksosom) dan buang filtrat.
12. Tambahkan buffer PBS atau saline kedalam retentat dan lakukan proses TFF kembali untuk membersihkan eksosom dari komponen media.
13. Konsentrasikan eksosom hingga volume yang diinginkan menggunakan TFF.
14. Aliquot eksosom yang telah dikumpulkan dan disimpan pada suhu -80C hingga digunakan.
15. Lakukan analisis eksosom flow cytometri menggunakan CD9, CD63 dan CD81 untuk verifikasi kualitas dan kuantitas eksosom.

4.7.4. Aklimatisasi Hewan Uji

Aklimatisasi adalah suatu proses penyesuaian diri dengan iklim, lingkungan, kondisi, atau suasana baru. Sebelum diberi perlakuan pada tikus percobaan, dilakukan pengadaptasian pada semua tikus SCCR selama satu minggu. Tikus diadaptasikan dengan tempat tinggal baru, lingkungan baru, serta makanan dan minuman yang sesuai dengan standar kebutuhan.

4.7.5. Randomisasi Hewan Uji

Randomisasi hewan uji bertujuan untuk mengelompokkan hewan uji sesuai kelompok perlakuan. Selanjutnya pada bagian punggung dari masing-masing hewan uji akan diberi nomor yang berbeda. Hal ini bertujuan untuk menghindari kesalahan pengukuran pada setiap hewan uji.

4.7.6. Pembuatan Luka Bakar

Sebelum pembuatan luka bakar pada tikus dilakukan, daerah yang akan dibuat perlukaan dibebaskan terlebih dahulu dari bulu menggunakan pisau cukur. Setelah itu, lakukan anestesi dengan menggunakan ketamin

dengan dosis 7 mg/kgBB subkutan untuk mengurangi rasa sakit pada tikus dan menghindari gerakan tikus yang berlebihan. Setelah itu lakukan prosedur antiseptik dengan mengoleskan *polyvinylpyrrolidone iodine 1%* pada area yang akan dibuat perlukaan yaitu bagian dorsal punggung tikus. Luka bakar dibuat menggunakan lempeng besi yang sudah dipanasi dengan api supaya kedalaman luka sama, luas luka $2 \times 2 \text{ cm}^2$. Kemudian lempeng paku ditempelkan pada kulit punggung tikus selama 10 detik, dengan suhu 350°C sampai terbentuk luka bakar derajat III.

4.7.7. Pemberian Treatment

Setelah luka bakar selesai dibuat pada bagian dorsal tikus, selanjutnya perawatan luka bakar disesuaikan dengan kelompok perlakuan yang sudah ditentukan. Luka bakar dengan injeksi WFI 100 uL secara subcutan (K1), Luka bakar dengan olesan *Silver Sulfadiazine* di sekeliling luka (K2), luka bakar dengan injeksi subcutan exosome 100 uL (K3) dan 200 uL (K4) diberikan sebanyak 1 kali. Tikus diterminasi pada hari ke-5 setelah penyuntikan perlakuan.

4.7.8. Koleksi Sampel dan Analisis RT-PCR

1. Koleksi dan Homogenisasi Sampel

Koleksi sampel diambil pada hari ke-5, tikus diterminasi dan diambil biopsy jaringan kulit yang mengalami luka bakar Derajat Dua untuk pemeriksaan RT-PCR dan dihomogenisasi dengan cara berikut :

- a. Diseksi jaringan yang diinginkan menggunakan peralatan yang steril, di atas es jika memungkinkan, dan segera setelahnya untuk mencegah kerusakan oleh protease.

- b. Masukkan jaringan ke dalam tabung mikrofuge berbentuk bulat dan rendam dalam nitrogen cair untuk melakukan "*snap freeze*" untuk mengawetkan protein karena tidak langsung dianalisis.
- c. Simpan sampel pada suhu -80 derajat Celcius untuk digunakan nanti atau di atas es untuk homogenisasi segera.
- d. Sampel kulit sebanyak 50 mg kemudian dimasukan ke dalam tubeberisi 1 μ L Trizol, kemudian dilakukan proses homogenisasi menggunakan ultrasonikator dan diinkubasi selama 5 menit padasuhu ruang.
- e. Sampel kemudian ditambahkan dengan 0.2 μ L kloroform dan diinkubasi selama 2-3 menit pada suhu ruang.
- f. Sampel kemudian disentrifugasi pada kecepatan 12000xg selama 15 menit dengan suhu 4 °C.
- g. Sampel akan membentuk tiga lapis larutan, sisi bawah berwarna merah muda berisi protein, sisi tengah berwarna putih asap berisi DNA dan sisi atas berwarna bening berisi RNA (aqueous phase).
- h. Pisahkan aquoeus phase di sisi atas ke tube yang berbeda.
- i. Sampel aqueous phase kemudian ditambahkan 0.5 μ L isopropanol, kemudian diresuspensi, diinkubasi selama 10 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000xg pada suhu 4 °C selama 10 menit.
- j. Supernatant kemudian dibuang dan pellet ditambahkan dengan 1 μ L 75% ethanol lalu diresuspensi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7500 xg di suhu 4 °C selama 5 menit.

- k. Supernatant kemudian dibuang dan pellet RNA ditambahkan dengan 50 μ L Nuclease-Free Water (NFW).
 - l. Konsentrasi sampel RNA kemudian dikuantifikasi menggunakan udrop microplate reader.
 - m. Sampel RNA sebanyak 0,1 μ g dalam 1 μ L kemudian ditambahkan 5 μ L NFW dan dilakukan proses denaturasi dengan inkubasi pada suhu 65 °C selama 5 menit menggunakan thermal cycler.
 - n. Sampel RNA kemudian ditambahkan 2 μ L 4x DN Master Mix dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit menggunakan thermal cycler.
 - o. Proses reverse transcription kemudian dilakukan dengan menambahkan 2 μ L 5x RT Master Mix dan diinkubasi pada 37 °C selama 15 menit, 50°C selama 5 menit dan 98 °C selama 5 menit menggunakan thermal cycler.
 - p. Sampel cDNA kemudian disimpan pada suhu -20°C.
2. Pembacaan Ekspresi Gen PDGF dan IL-10 dengan RT-PCR
- a. Ekspresi gen dari PDGF dan IL-10 dianalisis menggunakan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR).
 - b. Campuran dari 1 μ L cDNA sampel, 2x SensiFAST SYBR No- ROX Mix sebanyak 10 μ L, forward primer 0,8 μ L, reverse primer 0,8 μ L dan NFW 7,4 μ L.
 - c. Proses qRT-PCR dilakukan menggunakan suhu 95°C selama 2 menit, 95°C selama 5 detik dan 56°C selama 20 detik sebanyak 50 siklus. Proses qRT-PCR dilakukan dengan menganalisis

probeterhidrolisis pada panjang gelombang 520 nm.

- d. Kuantifikasi data qRT-PCR dilakukan menggunakan Software EcoStudy.

4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan 24 april – 7 Mei 2025. Perlakuan dilakukan di laboratorium *Stem Cell & Cancer Research* (SCCR) Indonesia dan Animal Model Research Center SCCR Indonesia selama 14 hari.

4.8. Analisa Data

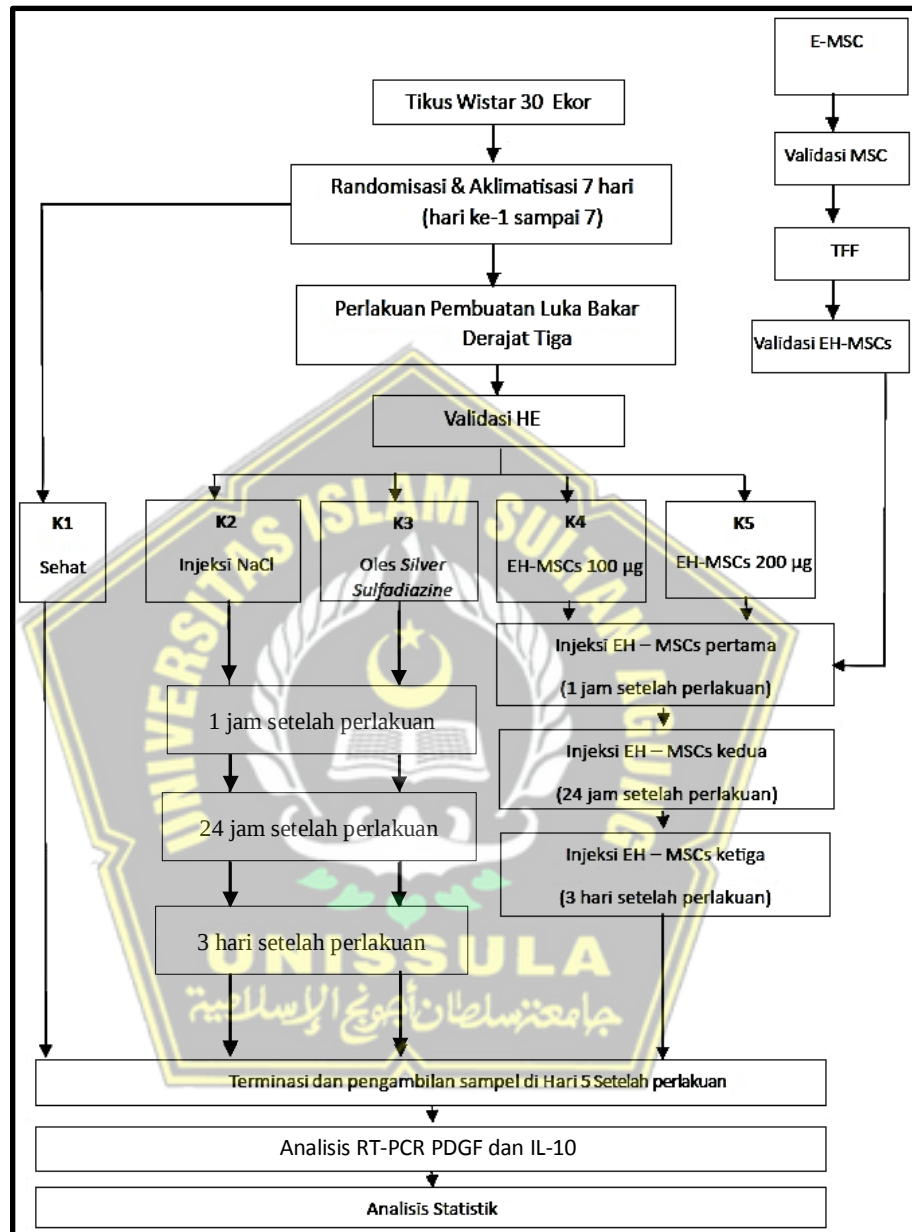
Selanjutnya, dilakukan analisis normalitas dan variasi data menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene's Test. Jika hasil menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji One-Way ANOVA akan dilaksanakan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara semua 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.

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

Jika distribusi data 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, maka 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. Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

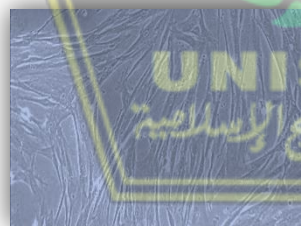
Hasil penelitian ini merupakan penelitian eksperimental secara *in vivo* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *exosome hypoxia mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) terhadap kadar ekspresi PDGF dan IL-10 pada tikus wistar dengan luka bakar derajat III. Design penelitian yang digunakan adalah *post-test only control group* dengan metode rancang acak lengkap, yang melibatkan lima kelompok perlakuan. Subjek penelitian ini adalah tikus Jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), dengan sampel sebanyak 30 ekor berusia 6-8 minggu dan memiliki berat badan 200-250g. Tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi diadaptasi selama 7 hari, kemudian dibagi secara acak menjadi lima kelompok : kelompok 1 (tikus sehat tanpa paparan luka bakar derajat III), kelompok 2 (control negatif) (tikus yang dipapar luka bakar derajat III dan diberikan injeksi NaCl pada 1 jam, 24jam, 3 hari setelah perlakuan), kelompok 3 kontrol positif (tikus yang dipapar luka bakar derajat III dan diberikan cream *Silver Sulfadiazine* pada 1 jam, 24jam, 3 hari setelah perlakuan), kelompok 4 (tikus yang dipapar luka bakar derajat III dan diberikan injeksi EH-MSCs 100µg pada 1jam, 24jam, 3hari setelah perlakuan). Kelompok 5 (tikus yang dipapar luka bakar derajat III dan diberikan injeksi EH-MSCs 100µg pada 1jam, 24jam, 3hari setelah perlakuan). Bulu rambut pada setiap tikus di bagian punggung dicukur hingga bersih dengan ukuran 3-5cm, lalu dilakukan anestesi pada kulit dengan menggunakan ketamine, selanjutnya didiinfeksi dengan alcohol 70% dan

diberikan paparan plat besi ukuran 2x2cm yang dipanaskan mencapai suhu 350°C kemudian ditempelkan pada punggung tikus selama 10 detik sehingga terbentuk luka bakar derajat III lalu diberikan perlakuan sesuai kelompok. Exosome yang dipakai dalam penelitian ini dari SCCR, sedangkan perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di animal model research center SCCR Semarang menggunakan deteksi ekspresi PDGF dan IL-10 memakai *Polymerase Chain Reaction (PCR)*.

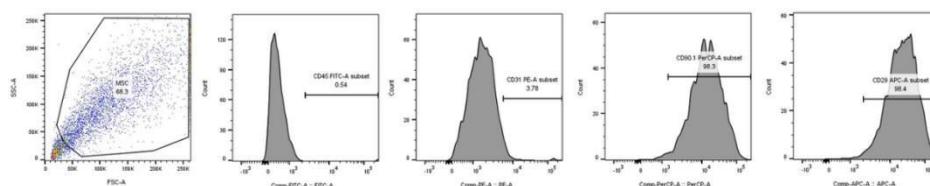
5.1.1 Hasil Validasi MSC (*Mesenchymal Stem Cell*)

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

A.



B.

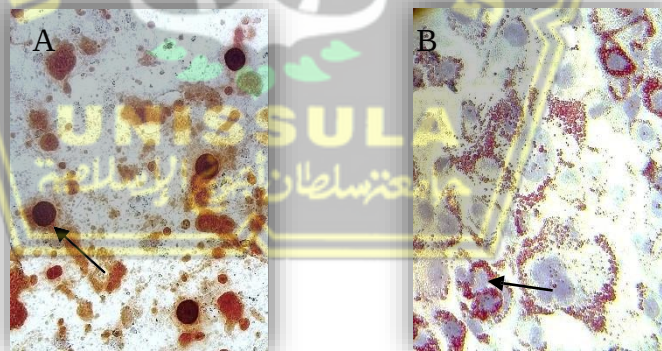


Gambar 5.1 Morfologi MSCs. (A) morfologi MSC MSCs Passage 7 konfluensi 80% pada perbesaran 40x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi penanda permukaan spesifik MSC seperti CD45, CD31, CD90, dan CD29.

Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD29 (98,4%) dan CD90 (98,3%) dan hanya sedikit mengekspresikan CD31 (3,78%) dan CD45 (0,54%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

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

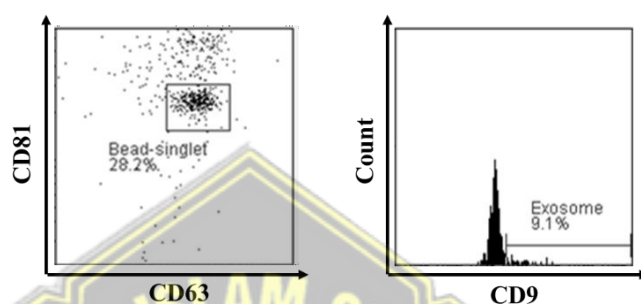
(Gambar 5.2 A dan B)



Gambar 5.2. (A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteoblast pada pewarna alizarin red s dan (B) adiposit pada pewarna oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x)

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

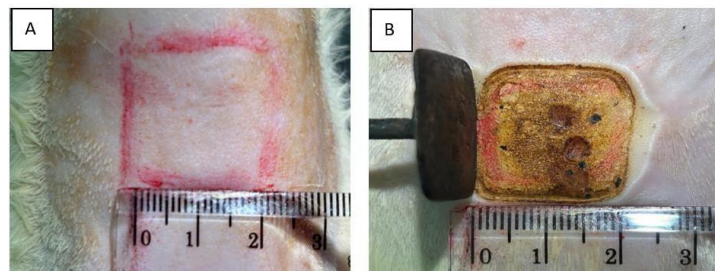
difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 100- 500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-MS. Setelah diisolasi kadar *exosome* dianalisis menggunakan metode *flowcytometry* dan didapatkan bahwa kadar *exosome* yang didapatkan sebesar 0.75 ug/mL (Gambar 5.3)



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

5.1.2. Hasil Validasi Luka Bakar Derajat Tiga

Validasi pembentukan model Luka Bakar pada tikus dilakukan secara pemodelan dibuat menggunakan plat logam dengan ukuran 2 x 2 cm² dan tebal 3mm, dipanaskan hingga menyala, lalu ditempelkan pada daerah yang sudah dibersihkan selama 10 detik. Kondisi luka bakar derajat III ini divalidasi dengan kenampakan luka dan pemeriksaan histologis dengan menggunakan pengecatan Hematoxyline-Eosin (HE). 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 diinduksi luka bakar menunjukkan jaringan pasca-luka bakar dengan tanda-tanda nekrosis koagulatif, kerusakan menyeluruh pada epidermis dan dermis, terbentuknya vakuolisasi, dan hilangnya struktur jaringan normal, sebagaimana terlihat dalam gambar 5.4



Sehat

Luka Bakar

Gambar 5.4. Validasi Makroskopi Tikus Luka Bakar**Gambar 5.5** Hasil validasi mikroskopik

- (A) memperlihatkan permukaan kulit hewan yang telah dicukur dan diberi penandaan area luka berbentuk persegi berukuran sekitar 2×2 cm. Penandaan ini bertujuan untuk menjamin keseragaman lokasi dan luas luka antar individu, sedangkan tikus yang diinduksi Luka Bakar menunjukkan tahapan induksi luka menggunakan besi panas yang ditempelkan pada kulit.
- (B) Hasilnya tampak perubahan warna menjadi coklat tua hingga kehitaman, yang menunjukkan kerusakan termal mendalam dan nekrosis koagulatif, khas luka bakar derajat 3. Secara makroskopis, luka tampak kering, berbatas tegas, dan mengalami kerusakan menyeluruh hingga ke lapisan subkutan.

Setelah tikus tervalidasi mengalami luka bakar derajat tiga, tikus yang tanpa perlakuan digunakan sebagai kontrol sehat (K1), sedangkan tikus yang mengalami luka bakar derajat tiga dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (tikus luka bakar derajat tiga dengan diberi injeksi NaCl secara subcutan di sekeliling luka), K3 (tikus luka bakar derajat tiga dengan diberikan Silver Sulfadiazine secara oles di sekeliling luka), K4 dan K5 (tikus luka bakar derajat tiga dengan injeksi EH-MSD dengan dosis masing-masing 100 µg dan 200 µg secara subcutan di sekeliling luka).

5.1.3. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen PDGF

Hasil analisis rata-rata ekspresi gen PDGF pada masing-masing kelompok subjek penelitian ditunjukkan pada tabel 5.1 sebagai berikut :

Tabel 5.1. Hasil Uji Deskriptif rata-rata ekspresi gen PDGF dan Uji *One way Anova*

Kelompok	K1 Rerata±SD	K2 Rerata±SD	K3 Rerata±SD	K4 Rerata±SD	K5	P
Ekspresi PDGF	1,4±0,9	1,6±0,6	1,7±0,5	2,0±0,6	2,9±1,2	
<i>Shapiro wilk</i>	0,22	0,67	0,78	0,61	0,65	
<i>Levene test</i>						0,55
<i>Oneway Anova</i>						0,094

Keterangan: **Shapiro-Wilk* = Normal ($p > 0,05$)
 **Levene Test* = Homogen ($p > 0,05$)
 **Oneway Anova* = Tidak Signifikan ($p > 0,05$)

Uji normalitas data menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa semua kelompok memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menghasilkan nilai $p = 0,55$ ($p > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa variasi antar kelompok bersifat homogen. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, dilakukan uji statistik parametrik menggunakan *One-Way ANOVA*. Hasil uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,094$ ($p > 0,05$), yang mengindikasikan tidak ada

perbedaan ekspresi PDGF yang signifikan secara statistik antarkelompok perlakuan. Selanjutnya, uji lanjutan dilakukan menggunakan *Post Hoc LSD* untuk mengetahui perbedaan signifikansi antar pasangan kelompok (Tabel 5.2).

Berdasarkan hasil perbandingan antar dua kelompok, pasangan kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna statistik yaitu K1 dengan K5, K2 dengan K5, K3 dengan K5, K5 dengan K1, K5 dengan K2, K5 dengan K3 sedangkan pasangan kelompok yang tidak berbeda signifikan secara statistik adalah kelompok K1 dengan K2, K1 dengan K3, K1 dengan K4.



Gambar 5.6. Grafik rata-rata ekspresi gen PDGF setiap kelompok perlakuan

Berdasarkan grafik ekspresi relatif gen PDGF pada masing-masing kelompok perlakuan, terlihat bahwa:

- Kelompok K1 menunjukkan ekspresi terendah dengan nilai rata-rata relative sekitar 1,5.

- Kelompok K2 memperlihatkan peningkatan sedikit lebih tinggi dibandingkan K1, meskipun tidak berbeda signifikan secara statistik.
- Kelompok K3 memiliki nilai ekspresi hampir sama dengan K2, dengan kecenderungan sedikit meningkat, namun perbedaannya terhadap K1 dan K2 juga tidak bermakna signifikan.
- Kelompok K4 menunjukkan ekspresi lebih tinggi dibandingkan ketiga kelompok sebelumnya, namun secara statistik masih belum berbeda nyata dengan K1.
- Kelompok K5 memperlihatkan ekspresi tertinggi gen PDGF, dengan peningkatan signifikan bila dibandingkan dengan K2, K3, dan K4 ($p < 0,05$ hingga $p < 0,001$).

Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan adanya tren peningkatan ekspresi gen PDGF dari K1 hingga K5, dengan perbedaan paling bermakna terlihat pada kelompok K5 terhadap beberapa kelompok lain.

5.1.4. Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen IL-10

Hasil uji dan analisis rerata ekspresi IL-10 setelah perlakuan pada masing-masing kelompok subjek penelitian dilanjutkan pada tabel

Tabel 5.2. Hasil Uji Deskriptif rata-rata ekspresi gen IL-10 dan Uji *One way Anova*

Kelompok	K1 Rerata±SD	K2 Rerata±	K3 Rerata±	K4 Rerata±	K5	P
Ekspresi IL-10	0,9 ± 0,34	1,7 ± 0,37	1,7 ± 0,38	2,1 ± 0,58	2,6 ± 1,41	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,35	0,13	0,77	0,70	0,063	
<i>Levene</i>						0,216
<i>Oneway Anova</i>						0,030
Keterangan:	* <i>Shapiro-Wilk</i> =Normal ($p > 0,05$) * <i>Levene</i> =Homogen ($p > 0,05$) * <i>Oneway Anova</i> =Signifikan ($p < 0,05$)					

Hasil rata-rata ekspresi gen IL-10 pada jaringan kulit tikus masing-masing kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*, dan diperoleh bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data yang normal dengan nilai $p > 0,05$ (K1: 0,35; K2: 0,13; K3: 0,77; K4: 0,70; K5: 0,063). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* menunjukkan nilai $p = 0,216$ ($p > 0,05$), yang berarti data memiliki variasi yang homogen. Dengan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, maka dilakukan uji statistik parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan antarkelompok perlakuan. Hasil Uji ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,030$ ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antarkelompok perlakuan terhadap ekspresi gen IL-10 di jaringan kulit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian EH-MSCs dengan dosis yang berbeda menunjukkan efek yang signifikan dalam meningkatkan kadar IL-10 setelah terjadi luka bakar derajat III.

Tabel 5.3. Hasil Uji *Post Hoc* LSD ekspresi gen IL-10

Kelompok	Kelompok perbandingan	P (value)
K1	K2	0,130
	K3	0,119
	K4	0,020
	K5	0,002
K2	K3	0,960
	K4	0,352
	K5	0,071
K3	K4	0,377
	K5	0,078
K4	K5	0,352

Berdasarkan hasil perbandingan antar dua kelompok, pasangan kelompok yang memiliki perbedaan yang bermakna statistik yaitu K1 dengan K4, K1 dengan K5, K2 dengan K5, sedangkan pasangan kelompok yang tidak berbeda signifikan secara statistik adalah kelompok K1 dengan K2, K1 dengan

K3, K2 dengan K3, K2 dengan K4, K2 dengan K5, K3 dengan K4, K3 dengan K5, dan K4 dengan K5.



Gambar 5.7. Grafik rata-rata ekspresi relatif gen IL-10 pada kelompok perlakuan

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (MSC) terhadap kadar Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dan Interleukin-10 (IL-10) pada tikus model luka bakar derajat 3. Exosome dari MSC diketahui mengandung berbagai molekul bioaktif seperti growth factor, sitokin, dan microRNA yang berperan penting dalam proses penyembuhan luka melalui mekanisme anti-inflamasi dan regeneratif.

Berdasarkan hasil uji ANOVA, diketahui bahwa terdapat perbedaan kadar IL-10 yang bermakna secara statistik antar kelompok perlakuan, dengan nilai signifikansi (p) = 0,030 ($< 0,05$) dan nilai $F = 3,344$. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian exosome hypoxia MSC secara signifikan meningkatkan kadar IL-10 pada luka bakar derajat 3.

IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi utama yang bekerja menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, dan IL-6. Peningkatan kadar IL-10 mencerminkan respon imun yang terkontrol dan modulasi inflamasi yang efektif, yang sangat penting dalam fase awal penyembuhan luka. Exosome hypoxia MSC kemungkinan memperkuat efek ini melalui kandungan microRNA dan protein yang mampu menstimulasi ekspresi IL-10 pada sel imun lokal di area luka.

Dengan demikian, temuan ini mendukung hipotesis bahwa exosome hypoxia MSC memiliki potensi terapi dalam mengurangi inflamasi dan mempercepat fase penyembuhan awal pada luka bakar berat.

Berbeda dengan IL-10, hasil analisis ANOVA terhadap kadar PDGF menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna secara statistik antar kelompok, dengan nilai signifikansi (p) = 0,094 ($> 0,05$) dan nilai $F = 2,299$. Artinya, meskipun terdapat kecenderungan peningkatan kadar PDGF pada kelompok yang diberi exosome, perubahan tersebut belum cukup kuat secara statistik untuk disimpulkan sebagai efek perlakuan.

PDGF adalah growth factor yang berperan penting dalam proses proliferasi sel fibroblas, migrasi sel endotel, dan angiogenesis, yang

merupakan bagian dari fase proliferasi dalam penyembuhan luka. Kegagalan memperoleh signifikansi statistik bisa disebabkan oleh beberapa faktor, seperti:

1. Ukuran sampel yang terbatas
2. Variabilitas biologis antar individu tikus
3. Durasi pengamatan yang mungkin belum cukup lama untuk menangkap puncak ekspresi PDGF

Meski demikian, tren peningkatan PDGF tetap menunjukkan bahwa *exosome hypoxia MSC* memiliki potensi dalam stimulasi regenerasi jaringan, dan penelitian lanjutan dengan durasi lebih panjang atau dosis berbeda dapat membantu memperjelas hubungan ini. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa *exosome hypoxia MSC* efektif dalam meningkatkan kadar IL-10, menandakan potensi anti-inflamasi yang kuat pada model luka bakar derajat tiga. Meski tidak signifikan terhadap PDGF, hasil menunjukkan arah yang positif dalam proses penyembuhan jaringan. Implikasi praktis dari penelitian ini mendukung penggunaan *exosome hypoxia MSC* sebagai terapi adjuvan dalam perawatan luka bakar berat, khususnya untuk mengontrol inflamasi dan mempercepat regenerasi.

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 pembentukan jaringan parut hipertrofik atau keloid.

3. Dosis dan frekuensi pemberian terbatas

Hanya digunakan dua dosis (100 µg dan 200 µg). Tidak dilakukan eksplorasi dosis optimal atau frekuensi pemberian yang paling efektif.

4. 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.

5. Pengukuran hanya pada parameter tertentu

Variabel yang diukur terbatas pada ekspresi PDGF dan IL-10. Parameter lain yang relevan seperti angiogenesis kuantitatif, kadar sitokin pro/anti-inflamasi, dan kekuatan mekanik kulit pasca sembuh belum dievaluasi.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell (MSC) terhadap kadar IL-10 dan PDGF pada tikus model luka bakar derajat 3, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian *Exosome hypoxia* MSC tidak menunjukkan peningkatan kadar PDGF yang signifikan secara statistik ($p = 0,094$). Meskipun demikian, terdapat tren peningkatan kadar PDGF yang menunjukkan potensi exosome dalam mendukung proses proliferasi dan regenerasi jaringan, walaupun belum mencapai signifikansi pada pengamatan ini.
2. Pemberian *Exosome hypoxia* MSC secara signifikan meningkatkan kadar IL-10 ($p = 0,030$), yang menandakan efek anti-inflamasi. Hal ini menunjukkan bahwa exosome hypoxia MSC berperan dalam mengatur respon imun dan mempercepat fase awal penyembuhan luka melalui peningkatan sitokin anti-inflamasi.

6.2 Saran

1. Penelitian lanjutan dengan ukuran sampel yang lebih besar dan desain eksperimental yang lebih komprehensif diperlukan untuk mengkonfirmasi efek exosome hypoxia MSC terhadap kadar PDGF dan molekul regeneratif lainnya.

2. Penambahan waktu observasi yang mencakup fase proliferasi dan remodeling jaringan kemungkinan dapat menangkap perubahan signifikan pada ekspresi growth factor seperti PDGF.



DAFTAR PUSTAKA

1. Lestari, Tuti & Syukur, Sumaryati & Revilla, Gusti & Rita, Rauza & Rustini, Rini. (2023). The Burn Wound Healing Process : A Review. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*. 40. 77. 10.52155/ijpsat.v40.1.5565.
2. WHO (World Health Organization). (2021). Burns. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>. di akses pada tanggal 19 april 2021
3. Aditya Wardhana, Adi Basuki, Arina Dina H. Prameswara, Dita Nadya Rizkita, Attika Adrianti Andarie, Anissa Feby Canintika, The epidemiology of burns in Indonesia's national referral burn center from 2013 to 2015, *Burns Open*, Volume 1, Issue 2, 2017, Pages 67-73, ISSN 2468-9122.
4. Jiang H, Zhao H, Zhang M, He Y, Li X, Xu Y, Liu X. Hypoxia Induced Changes of Exosome Cargo and Subsequent Biological Effects. *Front Immunol*. 2022 Apr 4;13:824188. doi: 10.3389/fimmu.2022.824188. PMID: 35444652; PMCID: PMC9013908.
5. Cui, G.-H., Wu, J., Mou, F.-F., Xie, W.-H., Wang, F.-B., Wang, Q.-L., Fang, J., Xu, Y.-W., Dong, Y.-R., Liu, J.-R. and Guo, H.-D. (2018), Exosomes derived from hypoxia- preconditioned mesenchymal stromal cells ameliorate cognitive decline by rescuing synaptic dysfunction and regulating inflammatory responses in APP/PS1 mice. *The FASEB Journal*, 32: 654-668. <https://doi.org/10.1096/fj.201700600R>
6. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012;49(1):35-43. doi: 10.1159/000339613. Epub 2012 Jul 11. PMID: 22797712.
7. Sun ZL, Feng Y, Zou ML, Zhao BH, Liu SY, Du Y, Yu S, Yang ML, Wu JJ, Yuan ZD, Lv GZ, Zhang JR, Yuan FL. Emerging Role of IL-10 in Hypertrophic Scars. *Front Med (Lausanne)*. 2020 Aug 27; 7:438. doi: 10.3389/fmed.2020.00438. PMID: 32974363; PMCID: PMC7481393.
8. Nouf N. Mahmoud, Khawla Hamad, Aya Al Shibitini, Sarah Juma, Shahriar Sharifi, Lisa Gould, dan Morteza Mahmoudi ACS. Investigating Inflammatory Markers in Wound Healing: Understanding Implications and Identifying Artifacts. *Farmakologi & Ilmu Translasional* 2024 7 (1), 18-27 DOI: 10.1021/acsptsci.3c00336
9. Pierce GF, Mustoe TA, Altrack BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem*. 1991 Apr;45(4):319-26. doi: 10.1002/jcb.240450403. PMID: 2045423.

10. Papadopoulos N, Lennartsson J. The PDGF/PDGFR pathway as a drug target. Vol. 62, *Molecular Aspects of Medicine*. 2018. p. 75–88.
11. Reigstad LJ, Sande HM, Fluge Ø, Bruland O, Muga A, Varhaug JE, et al. Platelet- derived growth factor (PDGF)-C, a PDGF family member with a vascular endothelial growth factor-like structure. *J Biol Chem*. 2003;278(19):17114–20.
12. Cao R, Bråkenhielm E, Li X, Pietras K, Widenfalk J, Östman A, et al. Angiogenesis stimulated by PDGF- CC, a novel member in the PDGF family, involves activation of PDGFR- aa and - ap receptors. *FASEB J*. 2002;16(12):1575–83.
13. Li X, Eriksson U. Novel PDGF family members: PDGF-C and PDGF-D. Vol. 14, *Cytokine and Growth Factor Reviews*. 2003. p. 91–8.
14. Folestad E, Kunath A, Wågsäter D. PDGF-C and PDGF-D signaling in vascular diseases and animal models. Vol. 62, *Molecular Aspects of Medicine*. 2018. p. 1–11.
15. Kazlauskas A. PDGFs and their receptors. Vol. 614, *Gene*. 2017. p. 1–7.
16. Kaimin Lu, Chuanfang Wu, Jinku Bao. Molecular modeling, expression and wound- repair activity in vivo of platelet-derived growth factor from *Periplaneta americana*, *Process Biochemistry*, Volume 110, 2021, Pages 151-162, ISSN 1359-5113
17. Sino Biological. (n.d.). PDGF signaling pathway. Sino Biological. <https://www.sinobiological.com/resource/cytokines/pdgf-signaling-pathway>
18. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30. PMID: 22428854; PMCID: PMC3410706
19. Verma R, Balakrishnan L, Sharma K, Khan AA, Advani J, Gowda H, Tripathy SP, Suar M, Pandey A, Gandotra S, Prasad TS, Shankar S. A network map of Interleukin-10 signaling pathway. *J Cell Commun Signal*. 2016 Mar;10(1):61-7. doi: 10.1007/s12079- 015-0302-x. Epub 2015 Aug 8. PMID: 26253919; PMCID: PMC4850137.
20. Rahayu, Tutik. "Penatalaksanaan Luka Bakar (Combustio)." *Profesi: Media Publikasi Penelitian*, vol. 8, Sep. 2012, doi:10.26576/profesi.11.
21. Żwierzełło 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>

22. 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>
23. Moenajat, Yefta. *Luka Bakar: Pengetahuan Klinis Praktis*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia; 2003
24. R Sjahmuhidajat, Wim De Jong, *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran, EGC; 2007
25. 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.
26. Evers LH, Bhavsar D, Mailänder P. Biologi luka bakar. *Exp Dermatol*. 2010 Sep; 19 (9):777-83.
27. 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.
28. 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/>
29. Farreell, Maureen. 2016. *Smeltzer & Bare Textbook of MedicalSurgical Nursing*. New Zealand: Wolters Kluwer.
30. Hudak dan Gallo. 2012. *Keperawatan Kritis: Pendekatan Asuhan Holistik Vol. 1*. Jakarta: EGC.
31. Anggowarsito, Jose L. 2014. Luka Bakar Sudut Pandang Dermatologi. *Jurnal Widya Medika Surabaya*. 2(2): 115-120.
32. Moenadjat, Yefta. 2009. *Luka Bakar: Masalah dan Tatalaksana*. Jakarta: FKUI.
33. 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.

34. Wallace HA, Basehore BM, Zito PM. Fase Penyembuhan Luka. [Diperbarui 12 Juni 2023]. Dalam: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470443/>
35. 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.
36. Ninan N, Thomas S, Grohens Y. Penyembuhan luka dalam urologi. *Adv Drug Deliv Rev*. 2015 Mar; 82-83 :93-105.
37. Bowden LG, Byrne HM, Maini PK, Moulton DE. Model morfoelastis untuk menutup luka dermal. *Mekanobiol Model Biomekan*. Juni 2016; 15 (3):663-81.
38. 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>
39. Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. *Eur Surg Res*. 2012;49(1):35-43. doi: 10.1159/000339613. Epub 2012 Jul 11. PMID:22797712.
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. 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.
42. 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.
43. 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>

44. 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.
45. 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).
46. 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).
47. 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).
48. 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.
49. Chairoungdua A, Smith DL, Pochard P, Hull M, Caplan MJ. Exosome release of β - catenin: A novel mechanism that antagonizes Wnt signaling. *J Cell Biol.* 2010;190(6):1079–91.
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. 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. 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.
55. 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.
56. 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
57. Leong M, Phillips LG, 2012. Wound Healing. Dalam: Sabiston Textbook of Surgery. Edisi ke-19. Amsterdam: Elsevier Saunders; h. 984-92
58. 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.
59. 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.
60. 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.
61. 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>

62. 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>
63. 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
64. Romashkova JA, Makarov SS. NF-kappaB is a target of AKT in anti-apoptotic PDGF signalling. *Nature*. 1999 Sep 2;401(6748):86-90. doi: 10.1038/43474. PMID: 10485711.
65. Nejatbakhsh Samimi, L., Farhadi, E., Tahmasebi, M.N. et al. NF-κB signaling in rheumatoid arthritis with focus on fibroblast-like synoviocytes. *Autoimmun Highlights* 11, 11 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13317-020-00135-z>
66. Zhu, Z., Ding, J. & Tredget, EE. Dasar molekuler bekas luka hipertrofik. *Burn Trauma* 4, 2 (2016). <https://doi.org/10.1186/s41038-015-0026-4>
67. Chen J, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate inflammatory cytokine-induced impairment of ATII cell proliferation via IL-10 secretion. *Stem Cell Research & Therapy* (2020) <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01742-6>
68. Barrientos S, et al. Role of platelet-derived growth factor (PDGF) in wound healing. *Wound Repair and Regeneration*(2008) <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2008.00389.x>
69. Zhang B, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells: novel therapeutic tools for wound healing. *tem Cell Research & Therapy* (2015) <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0083-4>
70. Duffy MM, et al. Dose-dependent immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a murine model of chronic inflammatory disease. *Stem Cell Research & Therapy* (2013) <https://doi.org/10.1186/scrt297>