

**PENGARUH PEMBERIAN *HYPOXIC
PRECONDITIONED UMBILICAL CORD
MESENCHYMAL STEM CELLS (HUC-MSCs)*
TERHADAP KADAR *IL-6* DAN *PDGF*
(Studi Eksperimental *In Vivo* Tikus Model Stroke)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Muhammad Nadim

MBK2423010455

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

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN *HYPOXIC PRECONDITIONED UMBILICAL CORD MESENCHYMAL STEM CELLS (HUC-MSCs)* TERHADAP KADAR *IL-6* DAN *PDGF* (Studi Eksperimental *In Vivo* Tikus Model Stroke)

Disusun Oleh:

Muhammad Nadim

MBK2423010455

Telah disetujui oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,



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

Dr. dr. H. Setvo Trisnadi, SH, Sp.KF

NIK : 210113160

NIK. 210199049

Mengetahui,

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



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

NIK. 210 113 160

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa proposal 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 belum/tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Muhammad Nadim
Tempat / tanggal lahir : Malang/ 19 Februari 2001
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Laki-Laki

B. Riwayat Pendidikan

2004-2006 : TK Mardi Sunu Malang
2006-2012 : SDN Purwantoro 2 Malang
2012-2015 : MTsN Malang 1
2015-2017 : MAN 3 Malang (sekarang MAN 2 Malang)
2017-2021 : Sarjana Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang
2021- 2023 : Profesi Dokter Universitas Muhammadiyah Malang
2024 – sekarang : Magister Ilmu Biomedik FK Unissula

C. Riwayat keluarga

Nama Ayah : A. Hasan Ma'asy
TTL : Makassar, 15 Desember 1959
Nama Ibu : Soraya
TTL : Malang, 12 Februari 1970
Alamat : Jl. Perunggu Selatan No. 8 Malang

D. Riwayat pekerjaan

- Dokter Internship RS Rumkit Tk. IV Singaraja
- Dokter Internship Puskesmas Buleleng 1

KATA PENGANTAR

Kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penyusun dapat menyelesaikan proposal tesis dengan judul **“Pengaruh Pemberian *Hypoxic Preconditioned Mesenchymal Stem Cells* Terhadap Kadar *IL-6* dan *PDGF* (Studi Eksperimental In Vivo Tikus Model Stroke)”**. Pada penyusunan proposal tesis ini penyusun mendapat bantuan pengarahan dan bimbingan, untuk itu pada penyusun ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH.,M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan seluruh wakil Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan masukan untuk mengarahkan agar penelitian ini lebih baik..
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan dosen pembimbing I yang selalu sabar meluangkan waktu dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis hingga terselesaikannya proses tesis ini.

4. Seluruh staf dan pengajar di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan banyak ilmu yang bermanfaat.
5. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes, Dr.dr.Joko Wahyu Wibowo, M.Kes dan Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku dewan penguji yang telah memberikan saran dan kritik yang membangun agar penelitian ini menjadi lebih baik
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa tesis ini jauh dari sempurna, untuk itu penulis berharap kritik dan saran demi perbaikan. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak – pihak lain yang berkepentingan.

Semarang, 18 Agustus 2025
Penulis,

Muhammad Nadim
MBK2324010455

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
SUMMARY	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	6
1.4.2 Manfaat Klinis.....	6
1.5 Originalitas Penelitian	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	12
2.1 <i>Interleukin 6 (IL6)</i>	12
2.2 <i>PDGF (Protein-Derived Growth Factor)</i>	14
2.3 <i>Stroke Iskemik Akut</i>	16
2.3.1 <i>Definisi</i>	16
2.3.2 <i>Epidemiologi</i>	16
2.3.3 <i>Faktor Risiko</i>	17
2.3.4 <i>Gejala Klinis</i>	19
2.3.5 <i>Patofisiologi</i>	19
2.3.6 <i>Tatalaksana</i>	21
2.3.7 <i>Prognosis</i>	22
2.3.8 <i>Komplikasi</i>	22
2.4 <i>Mesenchymal Stem Cell (MSCs)</i>	23
2.4.1 <i>Definisi MSC</i>	23
2.4.2 <i>Karakteristik MSC</i>	24
2.4.3 <i>Potensi Terapi MSCs dalam Stroke</i>	25
2.4.4 <i>Hypoxia Preconditioning pada MSC</i>	26
2.5 <i>IL6 dan PDGF pada Stroke Iskemik</i>	27
2.6 <i>Hipoksia Pada Stroke</i>	29
2.7 <i>Konsep Terapi Berbasis Sel Punca</i>	31
2.7.1 <i>Pendekatan Seluler Pada Stroke</i>	31
2.7.2 <i>Mekanisme Kerja MSC pada Stroke</i>	32
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	36
3.1 <i>Kerangka Teori</i>	36
3.2 <i>Kerangka Konsep</i>	39

3.3	Hipotesis	39
BAB IV METODE PENELITIAN		40
4.1	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	40
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	41
4.2.1	Populasi Penelitian.....	41
4.2.2	Sampel Penelitian.....	42
4.3	Variabel dan Definisi Operasional	42
4.3.1	Variabel Penelitian.....	42
4.3.2	Definisi Operasional	43
4.4	Bahan/ Materi Penelitian	44
4.5	Alat Penelitian	45
4.6	Cara Penelitian dan Alur Penelitian	46
4.6.1	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	46
4.6.2	Isolasi MSC dari <i>Umbilical Cord</i> (UC).....	47
4.6.3	Validasi MSC.....	48
4.6.4	Prosedur Hipoksia MSC.....	48
4.6.5	Pembuatan Tikus Model Stroke.....	49
4.6.6	Pemberian HUC-MSCs.....	50
4.6.7	Uji Kadar IL-6 dan PDGF.....	50
4.6.8	Metode Terminasi Tikus	51
4.6.9	Alur Penelitian	53
4.7	Teknik Pengumpulan Data	54
4.8	Metode Analisis Data	54
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		55
5.1	Hasil Penelitian.....	56

5.1.1 Karakterisasi Mesenchymal Stem Cell	56
5.1.2 Hasil Analisis Statistik Kadar IL-6	60
5.1.3 Hasil Analisis Statistik Kadar PDGF	64
5.2 Pembahasan	69
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....	74
6.1 Kesimpulan.....	74
6.2 Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN.....	80



DAFTAR SINGKATAN

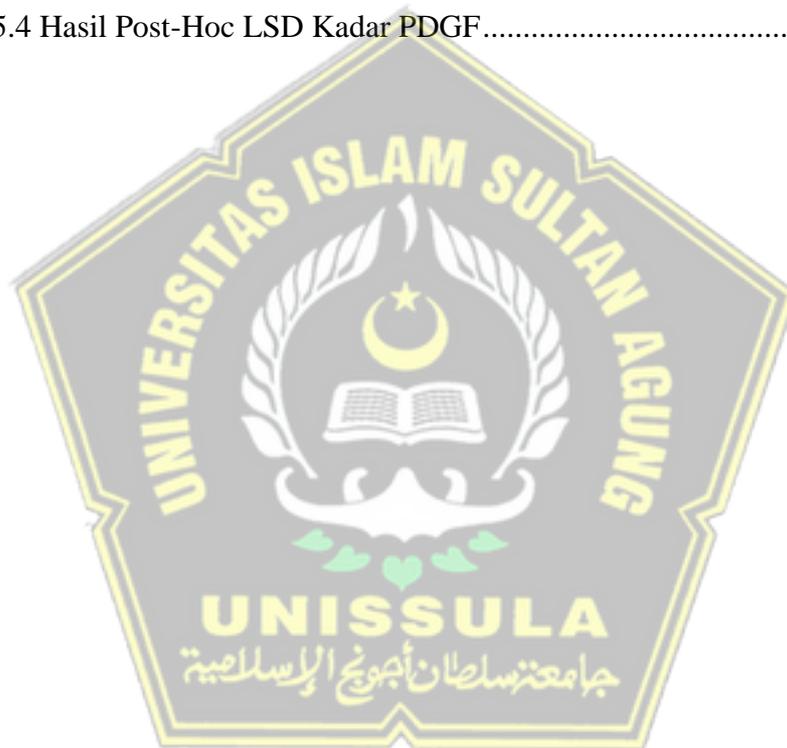
AF	: <i>atrial fibrillation</i>
AHA	: <i>American heart association</i>
ALP	: <i>alkaline phosphatase</i>
ATP	: <i>adenosine triphosphate</i>
BBB	: <i>blood brain barrier</i>
BDNF	: <i>brain-derived neurotrophic factor</i>
BMSC	: <i>bone marrow stem cell</i>
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
ESC	: <i>embryonic stem cell</i>
EV	: <i>extracellular vesicle</i>
GDNF	: <i>glial cell line-derived neurotrophic factor</i>
HIF-1	: <i>hypoxia induced factor 1</i>
HUC-MSC	: <i>hypoxic umbilical cord – mesenchymal stem cell</i>
ICH	: <i>intracerebral haemorrhage</i>
IL-1	: <i>interleukin-1</i>
IL6	: <i>interleukin-6</i>
IPSC	: <i>induced pluripotent stem cell</i>
MCAO	: <i>middle cerebral arterial occlusion</i>
miR-NA	: <i>micro ribonucleid acid</i>
MMP-2	: <i>metalloproteinase matrix 2</i>
mNSS	: <i>modified neurology severity score</i>
MRI	: <i>magnetic resonance image</i>
MSC	: <i>mesenchymal stem cell</i>
MT	: <i>magnetization transfer</i>
NCCT	: <i>non contrast computed tomography</i>
NF- κ B	: <i>nuclear factor κB</i>
NGF	: <i>nerve growth factor</i>
NIHSS	: <i>national institutes of health stroke scale</i>

NMDAR	: <i>N-methyl-D-aspartate receptor</i>
NO	: <i>nitric oxide</i>
NSC	: <i>neuro stem cell</i>
PDGF	: <i>platelet-derived growth factor</i>
PPAR γ	: <i>Peroxisome proliferator-activated receptor gamma</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
RT-qPCR	: <i>quantitative reverse transcription polymerase chain reaction</i>
RUNX2	: <i>runt-related transcription factor 2</i>
TNF- α	: <i>tumor necrosis factor alfa</i>
TPA	: <i>tissue plasminogen activator</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
VSMC	: <i>vascular smooth muscle cell</i>



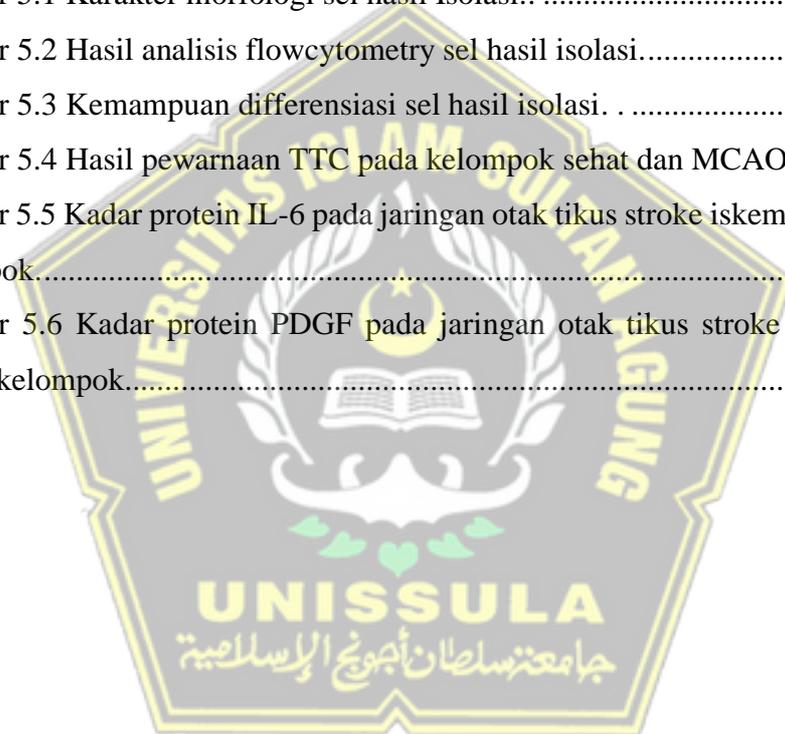
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	7
Tabel 2.1 Faktor Risiko Stroke	18
Tabel 5.1 Hasil Analisis Statistik Kadar IL-6 (pg/mL).....	61
Tabel 5.2 Hasil Post-Hoc LSD Kadar IL-6.....	62
Tabel 5.3 Hasil Analisis Statistik Kadar PDGF (pg/mL).....	65
Tabel 5.4 Hasil Post-Hoc LSD Kadar PDGF.....	67



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Macam PDGF.....	14
Gambar 3.1 Kerangka Teori.....	38
Gambar 3.2 Kerangka Konsep.....	39
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.....	40
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	53
Gambar 5.1 Karakter morfologi sel hasil Isolasi..	56
Gambar 5.2 Hasil analisis flowcytometry sel hasil isolasi.....	57
Gambar 5.3 Kemampuan differensiasi sel hasil isolasi. .	58
Gambar 5.4 Hasil pewarnaan TTC pada kelompok sehat dan MCAO.....	59
Gambar 5.5 Kadar protein IL-6 pada jaringan otak tikus stroke iskemik pada semua kelompok.....	64
Gambar 5.6 Kadar protein PDGF pada jaringan otak tikus stroke iskemik pada semua kelompok.....	69



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	80
Lampiran 2. Data Statistik.....	81
Lampiran 3. Foto Kegiatan	85
Lampiran 4. Surat Keterangan Selesai Penelitian	86



ABSTRAK

Latar Belakang: Stroke iskemik merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian. Inflamasi dan kegagalan angiogenesis berperan penting, ditandai dengan peningkatan IL-6 dan penurunan PDGF. *Hypoxic preconditioned umbilical cord mesenchymal stem cells* (HUC-MSCs) berpotensi menekan inflamasi sekaligus merangsang angiogenesis. Penelitian ini bertujuan menganalisis efek HUC-MSCs terhadap kadar IL-6 dan PDGF pada model tikus stroke iskemik.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan 20 ekor tikus putih jantan galur Wistar yang dibagi dalam empat kelompok: kontrol sehat (K1), kontrol stroke dengan NaCl (K2), terapi HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ sel/tikus (K3), dan dosis 3×10^6 sel/tikus (K4). Induksi stroke dilakukan dengan metode Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO). Analisis kadar IL-6 dan PDGF dilakukan menggunakan ELISA.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar IL-6 meningkat signifikan pada kelompok K2 ($22,5 \pm 1,51$ pg/mL) dibanding K1 ($15,0 \pm 1,80$ pg/mL; $p < 0,001$). Pemberian HUC-MSCs menurunkan kadar IL-6 pada K3 ($18,84 \pm 1,73$ pg/mL) dan lebih lanjut pada K4 ($14,4 \pm 1,46$ pg/mL; $p < 0,001$ dibanding K2). Sementara itu, kadar PDGF meningkat pada kelompok K4 ($p < 0,001$ dibanding K2 dan K3), menunjukkan stimulasi regenerasi vaskular.

Kesimpulan: Pemberian HUC-MSCs mampu menurunkan kadar IL-6 serta meningkatkan kadar PDGF pada tikus model stroke iskemik, dengan efek lebih kuat pada dosis tinggi. Temuan ini mendukung potensi HUC-MSCs sebagai terapi stroke iskemik.

Kata kunci: stroke iskemik, HUC-MSCs, hipoksia, IL-6, PDGF

SUMMARY

Backgrounds: Ischemic stroke is a leading cause of disability and mortality. Inflammation and impaired angiogenesis play major roles, marked by elevated IL-6 and reduced PDGF. Hypoxic preconditioned umbilical cord mesenchymal stem cells (HUC-MSCs) have the potential to suppress inflammation and promote angiogenesis. This study aimed to evaluate the effects of HUC-MSCs on IL-6 and PDGF levels in an ischemic stroke rat model.

Methods: This experimental study used 20 male Wistar rats divided into four groups: healthy control (K1), stroke control with NaCl (K2), HUC-MSCs therapy at 1.5×10^6 cells/rat (K3), and 3×10^6 cells/rat (K4). Ischemic stroke was induced by the Middle Cerebral Artery Occlusion (MCAO) method. IL-6 and PDGF levels were measured using ELISA.

Results: The results showed that mean IL-6 levels were significantly increased in K2 (22.5 ± 1.51 pg/mL) compared to K1 (15.0 ± 1.80 pg/mL; $p < 0.001$). Administration of HUC-MSCs reduced IL-6 levels in K3 (18.84 ± 1.73 pg/mL) and further in K4 (14.4 ± 1.46 pg/mL; $p < 0.001$ vs K2). Meanwhile, PDGF levels significantly increased in K4 ($p < 0.001$ vs K2 and K3), indicating enhanced vascular regeneration.

Conclusion: HUC-MSCs administration effectively reduced IL-6 levels and increased PDGF levels in ischemic stroke rats, with stronger effects at higher doses. These findings support the therapeutic potential of HUC-MSCs for ischemic stroke.

Keywords: ischemic stroke, HUC-MSCs, hypoxia, IL-6, PDGF

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Stroke iskemik terjadi ketika aliran darah ke otak terhambat, menyebabkan kekurangan oksigen dan nutrisi yang memicu serangkaian mekanisme molekuler kompleks. Salah satu mekanisme utama adalah stres oksidatif, di mana produksi *reactive oxygen species* (ROS) meningkat, menyebabkan kerusakan seluler dan jaringan. Selain itu, eksitotoksisitas terjadi akibat pelepasan neurotransmitter glutamat yang berlebihan, yang mengakibatkan kelebihan ion kalsium dalam neuron dan akhirnya menyebabkan kematian sel.¹ Salah satu mediator utama dalam proses ini adalah *interleukin-6* (IL-6), sebuah sitokin pro-inflamasi yang dihasilkan oleh sel-sel imun sebagai respon terhadap cedera. Peningkatan kadar IL-6 berkontribusi terhadap aktivasi mikroglia dan infiltrasi sel-sel imun ke area otak yang terkena, yang kemudian memperburuk inflamasi dan kerusakan jaringan otak. Selain IL-6, *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) juga memiliki peran penting dalam proses patofisiologi stroke iskemik. PDGF terlibat dalam proses perbaikan jaringan melalui stimulasi proliferasi dan migrasi sel endotel, yang berperan dalam angiogenesis atau pembentukan pembuluh darah baru. Proses ini penting untuk memulihkan aliran darah dan memperbaiki perfusi di area otak yang terdampak. Dengan demikian, IL-6

dan PDGF memiliki peran yang saling berhubungan dalam memediasi kerusakan dan perbaikan jaringan otak pasca stroke iskemik.²

Stroke merupakan penyakit saraf yang disebabkan oleh penyumbatan pembuluh darah. Sumbatan terbentuk di otak dan menghambat peredaran darah, menyumbat arteri, dan menyebabkan robekan pada pembuluh darah, yang berujung pada perdarahan. Pecahnya arteri pada otak dapat berakibat pada kematian secara tiba-tiba pada sel otak, serta dapat juga menyebabkan depresi dan demensia.³ Penelitian yang dilakukan oleh Pu pada tahun 2023 menunjukkan bahwa tingkat kejadian dan jumlah kasus stroke iskemik akan terus meningkat pada semua kelompok usia antara tahun 2020 dan 2030. Hal tersebut diprediksi terjadi karena terdapat peningkatan paparan terhadap faktor risiko pada penyakit yang dapat dimodifikasi, seperti tekanan darah tinggi dan diabetes. Pada penelitian tersebut didapatkan data bahwa jumlah pasien berusia 30 hingga 79 tahun yang menderita hipertensi hampir dua kali lipat dari tahun 1990 dimana dari 648 juta menjadi 1,278 miliar pasien pada tahun 2019. Sedangkan untuk prevalensi global diabetes tipe 2 akan meningkat dari 9,3% pada tahun 2019 menjadi 10,2% pada tahun 2030. Sehingga dapat ditarik kesimpulan, bahwa dengan meningkatnya kejadian faktor risiko stroke iskemik, seperti adanya penyakit bawaan yaitu diabetes dan hipertensi, maka risiko kejadian stroke iskemik juga akan terus menerus meningkat seiring berjalannya waktu.⁴

Terapi sel punca/ *stem cell therapy* menawarkan peluang terapi, keamanan, dan keefektifan yang menjanjikan bagi pasien stroke. Penelitian

tentang sel punca embrionik, sel mesenkimal, dan sel punca pluripoten terinduksi telah menilai potensinya untuk regenerasi, pemeliharaan, migrasi, dan proliferasi jaringan. *Stem cell* juga dipercaya dapat melakukan perbaikan ulang pada saraf, serta peremajaan fisik dan perilaku yang tidak hanya menghentikan iskemia, tapi juga dapat mengatasi permasalahan yang disebabkan oleh peradangan selama reperfusi.³ Beragam jenis *stem cell* dari berbagai sumber telah diidentifikasi dan diteliti terkait potensi serta manfaatnya dalam terapi stroke. Penelitian terhadap *stem cell*, seperti *Embryonic Stem Cell* (ESC), *Mesenchymal Stem Cell* (MSC), dan *Induced Pluripotent Stem Cell* (iPSC), telah mengungkapkan kemampuannya dalam regenerasi jaringan, pemeliharaan, migrasi, proliferasi, reorganisasi sirkuit saraf, serta peremajaan fisik dan perilaku. Penggunaan sel punca untuk terapi stroke umumnya melibatkan ESC, NSC, dan MSC.⁵

Mesenchymal Stem Cell (MSC) memiliki kemampuan untuk melintasi sawar darah-otak dan secara selektif bermigrasi ke lokasi cedera. Di area tersebut, MSC berperan dalam mengurangi apoptosis, meningkatkan kadar faktor pertumbuhan fibroblast dasar, serta merangsang proliferasi sel endogen. Penelitian mengenai aplikasi MSC dalam terapi stroke didorong oleh potensi diferensiasinya yang multilineage, termasuk kemampuan membentuk sel mirip neuron, serta efek imunomodulatori dan trofiknya. Studi *in vivo* menunjukkan bahwa MSC yang diberikan secara perifer cenderung bermigrasi ke area cedera, yang berkorelasi dengan peningkatan pemulihan pada model cedera iskemik. Pada model stroke murine, terapi

MSC terbukti meningkatkan kepadatan akson di sekitar lesi iskemik, mendukung proses remodeling akson dan memperbaiki fungsi ⁶. Efek terapeutik ini dihubungkan dengan sekresi faktor yang mengurangi inhibitor pertumbuhan akson, meningkatkan neurogenesis, serta merangsang pemulihan pasca-stroke melalui pelepasan faktor neurotropik, seperti *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF), dan mediator angiogenik. Pemberian MSC secara sistemik atau perifer dinilai sebagai metode transplantasi sel punca yang aman dan efektif. ⁷

Prekondisi hipoksia merupakan teknik yang digunakan untuk meningkatkan efektivitas sel punca dalam terapi stroke iskemik. Dengan menempatkan *Hypoxic Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) dalam kondisi oksigen rendah sebelum transplantasi, viabilitas dan kapasitas terapeutik sel-sel ini dapat ditingkatkan. Studi menunjukkan bahwa prekondisi hipoksia dapat meremajakan MSCs dan meningkatkan fungsi mitokondria mereka, yang berkontribusi pada peningkatan efikasi terapeutik dalam model cedera otak iskemik ⁸. Selain itu, eksosom yang dihasilkan dari HUC-MSCs yang dipre-kondisi hipoksia telah terbukti mendorong pemulihan neurologis setelah stroke dengan meningkatkan *remodeling endotel vascular* ^{6,9}

Meskipun potensi HUC-MSCs dalam terapi stroke iskemik menjanjikan, masih terdapat kesenjangan penelitian terkait optimalisasi metode prekondisi hipoksia dan mekanisme molekuler yang mendasari efek terapeutiknya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menentukan

parameter prekondisi yang paling efektif dan memahami interaksi antara HUC-MSCs yang dipre-kondisi hipoksia dengan lingkungan cedera iskemik. Tujuan studi ini adalah untuk mengeksplorasi pengaruh pemberian HUC-MSCs yang dipre-kondisi hipoksia terhadap pemulihan fungsional pada model stroke iskemik, serta mengidentifikasi jalur molekuler yang terlibat dalam proses perbaikan jaringan saraf.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang sudah diuraikan, rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

“Apakah terdapat pengaruh pemberian *Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) terhadap kadar IL6 dan PDGF pada stroke iskemik akut?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian *Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) terhadap stroke iskemik akut dibandingkan dengan kontrol.

1.3.2 Tujuan Khusus

- Mengetahui pengaruh *Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) terhadap kadar *ILn-6* pada stroke iskemik akut.

- Mengetahui pengaruh *Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) terhadap kadar *Protein Derived Growth Factor* pada stroke iskemik akut.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi signifikan terhadap pengembangan ilmu di bidang terapi regeneratif berbasis sel punca, khususnya dengan memahami mekanisme molekuler yang melibatkan kadar gen IL6 dan PDGF dalam penyembuhan stroke iskemik akut. Selain itu, penelitian ini juga dapat memperluas wawasan ilmiah terkait potensi imunomodulator dan angiogenik dari *Hypoxic Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs) yang telah dipre-kondisi hipoksia, sehingga dapat menjadi landasan teoritis untuk inovasi terapi seluler yang lebih efektif di masa depan.

1.4.2 Manfaat Klinis

Secara praktis, hasil penelitian ini dapat menjadi dasar ilmiah bagi pengembangan terapi berbasis sel punca, khususnya penggunaan HUC-MSCs sebagai alternatif terapi bagi pasien stroke iskemik akut. Penelitian ini juga mendukung pengembangan aplikasi klinis terapi regeneratif yang lebih aman dan terarah untuk memperbaiki kerusakan jaringan akibat stroke. Lebih lanjut, hasil penelitian ini dapat menjadi acuan bagi penelitian lanjutan untuk mengevaluasi

keamanan dan efektivitas terapi berbasis HUC-MSCs pada berbagai kondisi neurologis lainnya.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Penelitian publikasi, tahun	Judul	Metode	Hasil
1	Ye, Y. C., Chang, Z. H., Wang, P., Wang, Y. W., Liang, J., Chen, C., Wang, J. J., Sun, H. T., Wang, Y., & Li, X. H. (2022)	Eksosom pra-pengondisian infark dari HU-MSC meningkatkan remodeling vaskular dan pemulihan neurologis pasca-stroke pada tikus	Eksosom yang telah dikondisikan sebelumnya terhadap infark disuntikkan ke tikus melalui vena ekor setelah oklusi arteri serebral tengah (MCAO). Efek eksosom yang telah dikondisikan sebelumnya terhadap infark pada pemulihan neurologis tikus diperiksa menggunakan uji Tunel, uji	Hasil penelitian menunjukkan bahwa dibandingkan dengan eksosom normal, eksosom yang dikondisikan sebelumnya terhadap infark lebih lanjut mendorong remodeling vaskular dan pemulihan fungsi neurologis setelah stroke. Fungsi miRNA yang diatur naik dan gen targetnya yang bermanfaat bagi sel otot polos vaskular membuktikan pentingnya remodeling vaskular dalam memperbaiki stroke. Ketahanan

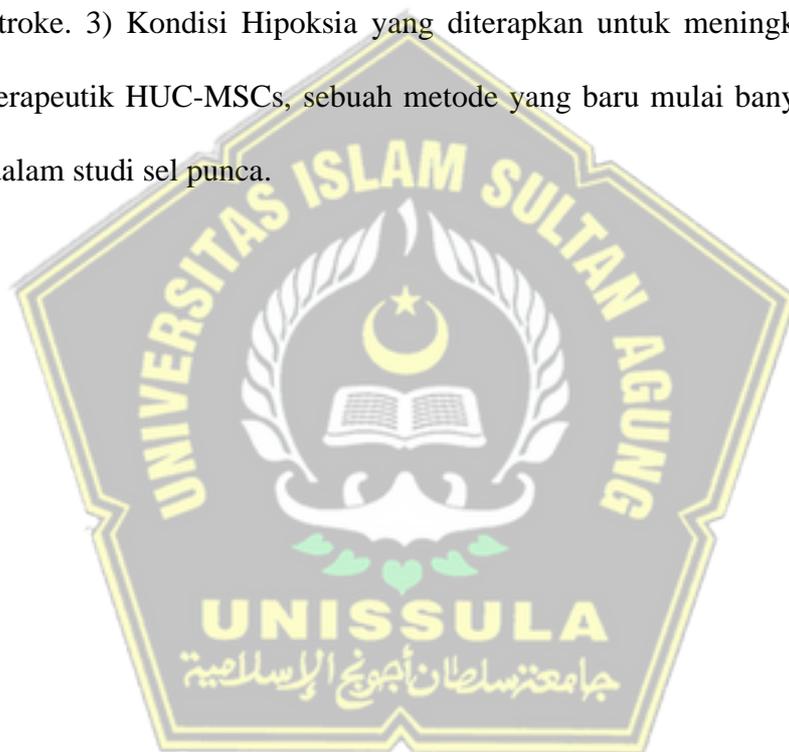
		2,3,5-trifeniltetrazolium klorida (TTC), analisis pencitraan resonansi magnetik (MRI), Skor Keparahan Neurologis yang dimodifikasi (mNSS), labirin air Morris (MWM), dan analisis remodeling vaskular.	yang lebih baik terhadap kekurangan/reoksigenasi oksigen-glukosa (OGD/R), didapatkan berkurang
2	Liu, J., He, J., Ge, L., Xiao, H., Huang, Y., Zeng, L., Jiang, Z., Lu, M., & Hu, Z. (2021)	Efek dan Mekanisme Transplantasi Sel Punca Mesenkimal Sumsum Tulang untuk Pengobatan Stroke Iskemik pada Tikus Hipertensi	Oklusi arteri serebral tengah digunakan untuk menetapkan model stroke eksperimental. Area infark serebral, ekspresi faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) dan faktor neurotropik turunan sel glia Hasilnya menunjukkan area infark serebral yang lebih kecil dan skor fungsi neurologis yang lebih baik pada hewan yang diobati dengan BMSC dibandingkan dengan kontrol. Hasil uji RT-qPCR dan western blot menunjukkan ekspresi VEGF dan GDNF yang lebih tinggi pada perlakuan BMSC.

		(GDNF), dan peningkatan astrosit diukur dengan pewarnaan TTC, western blot, reaksi berantai polimerase kuantitatif waktu nyata (RT-qPCR) dan imunositokimia.	10
3	Silvana, S., Japardi, I., Rusda, M., Savitri Daulay, R., Putra, A., Mangunatmadj a, I., Masyithah Darlan, D., Sofyani, S., & Andreas, Y. (2024)	Sekretom Sel Punca Mesenkimal untuk Stroke Iskemik: Ekspresi CD31 dan VEGF	Metode yang digunakan adalah eksperimen laboratorium post-test with only control group design dan pengambilan sampel secara konsekutif sampling. Penelitian menggunakan 18 ekor tikus yang dibagi menjadi kelompok semu, Nilai rata-rata ekspresi VEGF dan CD31 pada kelompok P1 lebih tinggi dari kelompok kontrol dan mNSS pada kelompok P1 lebih rendah dari kelompok kontrol. Melalui peningkatan ekspresi VEGF dan CD31, SH-MSc dapat mendorong proliferasi sel, kelangsungan hidup sel neuron, angiogenesis, neurogenesis dan pemulihan integritas sawar darah otak pada otak tikus, sehingga

kontrol dan P1 meningkatkan luaran
(MCAO + 150 klinis dan fungsi
ul secretome). neurologis pada tikus
Kelompok dengan stroke
kontrol dan P1 iskemik.¹¹
dibuat dalam
kondisi stroke
dengan metode
Middle Cerebral
Artery
Occlusion
dengan menjepit
Common
Carotid Artery.
mNSS
digunakan untuk
mengukur
perbaikan fungsi
neurologis.

Penelitian ini berfokus pada pengaruh pemberian *Hypoxia Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells (HUC-MSCs)* terhadap ekspresi gen *Interleukin-6* dan *Protein Derived Growth Factor* pada kondisi stroke iskemik akut. Meskipun banyak penelitian sebelumnya telah mengeksplorasi aplikasi terapi sel punca, seperti MSCs dari sumsum tulang (BMSCs) dan eksosom dari MSCs, sebagian besar penelitian masih terbatas pada efek angiogenik, neurogenik, atau perbaikan fungsional secara umum tanpa menggali spesifik mekanisme molekuler pada gen IL6 dan PDGF.

Penelitian ini menjadi unik karena; 1) model penelitian menggunakan *Hypoxia Umbilical Cord MSCs* (HUC-MSCs) yang telah dipre-kondisi hipoksia, yang jarang dijadikan fokus pada penelitian stroke iskemik akut. 2) Fokus Genetik pada penelitian tersebut menganalisis dua gen spesifik, yaitu IL6 yang berperan dalam proses inflamasi dan PDGF yang berperan dalam angiogenesis, yang belum banyak dievaluasi secara bersamaan dalam konteks stroke. 3) Kondisi Hipoksia yang diterapkan untuk meningkatkan potensi terapeutik HUC-MSCs, sebuah metode yang baru mulai banyak digunakan dalam studi sel punca.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Interleukin 6 (IL6)*

Interleukin-6 atau biasa disingkat IL6 merupakan molekul kecil yang terbentuk dalam bentuk monomer, dan memiliki kandungan 184 residu asam amino, *glycosylation sites*, dan dua ikatan disulfida. IL6 dapat diproduksi oleh limfosit B, limfosit T, makrofag, mikroglia, fibroblas, keratinosit, sel mesangial, sel endotel vaskular, sel mast, dan sel dendritik. Ekspresi IL-6 diaktifkan oleh interleukin 1 b (IL-1b) dan *faktor nekrosis tumor-alfa* (TNF α). Namun, terdapat juga cara lain untuk meningkatkan sintesisnya seperti aktivasi reseptor Toll-like (TLR), prostaglandin, adipokin, respons stres, dan sitokin lainnya.¹²

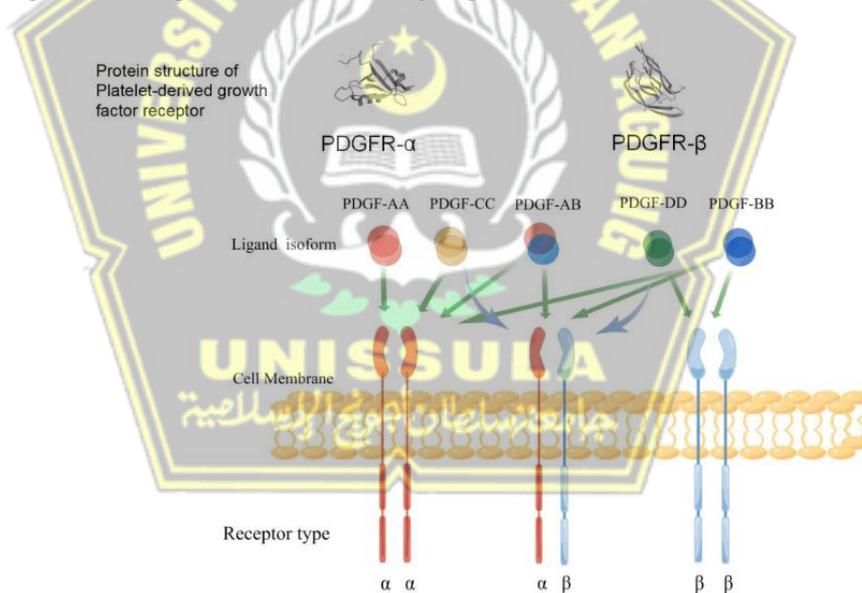
Penelitian yang dilakukan oleh Aref, pada tahun 2020 mengambil topik mengenai peran IL6 terhadap *outcome* pada stroke iskemik. Dan didapatkan hasil bahwa Peradangan memiliki peran penting dalam patogenesis stroke iskemik akut terutama oklusi pembuluh darah kecil dan memberikan bukti bahwa *interleukin-6* berkontribusi terhadap penentuan hasil klinis stroke iskemik akut dan prediksi kekambuhan. Pada penelitian tersebut juga menunjukkan peran *interleukin-6* sebagai penanda prognostik dimana semakin tinggi nilai IL6, semakin tinggi juga oklusi pembuluh darah kecil dan tingkat kekambuhan pada pasien stroke.¹³

IL6 juga memiliki peran pada system saraf pusat/ *Central Nervous System*. IL-6 dihasilkan di dalam area kortikal, batang otak, serebelum, dan sumsum tulang belakang. IL6 juga disekresikan oleh sel endotel otak, yang memodulasi kesehatan dan perilaku sel di sekitarnya. IL-6 diekspresikan secara konstitutif pada kadar rendah oleh astrosit dan mikroglia serta pada beberapa kasus tertentu seperti cedera, bisa juga dikeluarkan oleh neuron. IL6 dapat berperan mulai dari membantu neurogenesis dan regenerasi saraf setelah cedera hingga mendorong neurodegenerasi dan kematian sel. IL-1b, yang merupakan sitokin pro-inflamasi yang disekresikan selama infeksi atau cedera SSP (misalnya pada kasus cedera otak traumatis, stroke, dll.) juga menginduksi astrosit dan neuron untuk memproduksi IL-6¹²

Penelitian terkini menunjukkan bahwa IL-6 berhubungan dengan stroke. Oleh karena itu, risiko stroke dapat dikurangi dengan mengendalikan kadar faktor inflamasi IL-6. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa perubahan gaya hidup seperti olahraga, penurunan berat badan, dan penghentian merokok dapat mengurangi kadar IL-6 dan membantu mencegah stroke. Mengenai pengobatan stroke, peneliti melaporkan bahwa trombosis aterosklerotik dapat diobati dengan menghambat ekspresi dan aktivitas IL-6 menggunakan obat anti-sitokin, sehingga mengurangi kerusakan jaringan otak. Sehingga, dapat disimpulkan bahwa IL-6 mungkin berhubungan secara signifikan dengan perkembangan stroke.¹⁴

2.2 PDGF (*Protein-Derived Growth Factor*)

PDGF merupakan salah satu jenis faktor neurotropik/ *Neurotropic Factor* (NTF). PDGF merupakan agen mitogen dan kemotaktik yang penting. PDGF dapat diekspresikan dalam sel mesenkim, osteoblas, dan sel otot polos vaskular (VSMC). NTF merupakan kelas protein dengan berat molekul 10–35 kDa yang berperan aktif dalam perkembangan neuron, diferensiasi, kelangsungan hidup, dan plastisitas. *Protein-Derived Growth Factor* merupakan keluarga faktor pertumbuhan tipe simpul sistin yang terdiri dari lima subunit fungsional. Strukturnya terdiri dari rantai polipeptida yang sangat homolog (A, B, C, dan D) yang dibentuk oleh ikatan disulfida.¹⁵



Gambar 2.1 Macam PDGF

PDGF reseptor yang bernama PDGFR- β mengendalikan kelangsungan hidup perisit, migrasi, dan interaksi dengan sel endotel otak. Sedangkan PDGF-D, ligan spesifik PDGFR β , diekspresikan di otak, namun regulasi dan perannya dalam patobiologi stroke iskemik masih belum dieksplorasi.

Penelitian yang dilakukan oleh Bernard pada tahun 2024 mendapatkan hasil bahwa stimulasi PDGF-D dapat melemahkan hilangnya perisit dan transisi fibrotik, sekaligus meningkatkan sekresi faktor proangiogenik dan protektif vaskular. Selain itu, PDGF-D menstimulasi migrasi perisit yang diperlukan untuk cakupan endotel yang optimal dan mendorong angiogenesis. Studi tersebut juga mengungkap wawasan baru tentang kontribusi PDGF-D terhadap perlindungan neurovaskular setelah stroke iskemik dengan menyelamatkan fungsi perisit.¹⁶

Stroke iskemik memicu respons angiogenik di lokasi lesi untuk meningkatkan vaskularisasi jaringan, sebagai upaya untuk meningkatkan perbaikan. Selain itu, pada proses stroke, juga terdapat perisit otak yang terlibat secara kritis dalam mengatur fungsi neurovascular serta merespons secara kuat terhadap stresor stroke mulai dari kematian hingga pelepasan. Reseptor faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF) (PDGFR) β memainkan peran utama dalam kelangsungan hidup perisit, proliferasi, migrasi, dan perekrutan ke sel endotel. Stimulasi PDGF-D meningkatkan sifat migrasi perisit yang terpapar kondisi seperti iskemik, yang diperlukan untuk cakupan vaskular, dan menginduksi pelepasan faktor yang terlibat dalam penyempurnaan remodeling vaskular. Studi serupa juga dilakukan oleh Bernard, pada tahun 2023 dan didapatkan wawasan baru tentang peran PDGF-D dalam mempertahankan fungsi neurovaskular setelah stroke dengan menyelamatkan fungsi perisit, yang menguraikan potensi terapeutiknya.¹⁷

2.3 Stroke Iskemik Akut

2.3.1 Definisi

Stroke merupakan kecelakaan *cerebrovascular* yang terjadi di otak, yang dapat diklasifikasikan menjadi iskemik dan hemoragik. Stroke iskemik terjadi ketika ada penyumbatan pada pembuluh darah, yang mengakibatkan terbatasnya suplai darah ke otak. Sebaliknya, stroke hemoragik terjadi ketika pembuluh darah pecah, menyebabkan darah bocor ke rongga intrakranial. *American Heart Association/ The American Stroke Association* (AHA/ASA) memberikan definisi stroke yang komprehensif. Dalam bentuknya yang paling sederhana, stroke adalah episode akut disfungsi neurologis fokal yang berlangsung selama lebih dari 24 jam.¹⁸

2.3.2 Epidemiologi

Pengenalan gejala stroke sedini mungkin cukup krusial untuk perawatan tepat waktu. Sangat penting untuk meningkatkan pengenalan dan triase stroke oklusi pembuluh darah besar di lapangan. Misalnya, skala evaluasi oklusi arteri cepat (*Rapid Arterial Occlusion Evaluation Scale*), yang dirancang berdasarkan *National Institutes of Health Stroke Scale* (NIHSS), adalah alat sederhana yang dapat menilai tingkat keparahan stroke secara akurat dan mengidentifikasi pasien dengan stroke akut dengan oklusi arteri besar di tempat perawatan pra-rumah sakit oleh teknisi darurat medis. Diagnosis stroke iskemik dapat dibuat berdasarkan presentasi klinis

dan CT nonkontras negatif (NCCT) atau yang menunjukkan perubahan iskemik dini. NCCT efektif untuk menyingkirkan. MRI sama akuratnya dengan NCCT dalam mendeteksi ICH.¹⁹

2.3.3 Faktor Risiko

Faktor risiko stroke iskemik sangat kompleks karena stroke dapat terjadi dalam berbagai jenis. Secara umum, stroke dibagi menjadi dua kategori utama, yaitu stroke hemoragik dan stroke iskemik, di mana sekitar 80% kasus merupakan stroke iskemik. Stroke iskemik sendiri memiliki beberapa sub tipe etiologi, seperti stroke cardioembolik, aterosklerotik, lakunar, dan stroke yang disebabkan oleh faktor lain seperti diseksi arteri, vaskulitis, atau gangguan genetik spesifik. Faktor risiko untuk stroke hemoragik dan iskemik sebagian besar serupa, tetapi terdapat perbedaan penting. Hipertensi merupakan faktor risiko utama untuk stroke hemoragik, tetapi juga berkontribusi terhadap perkembangan penyakit aterosklerosis yang menyebabkan stroke iskemik. Selain itu, hiperlipidemia memiliki peran signifikan dalam stroke yang disebabkan oleh aterosklerosis pembuluh darah intra dan ekstrakranial. Atrial fibrilasi (AF) juga menjadi faktor risiko penting untuk stroke cardioembolik.

Faktor risiko stroke dapat dikelompokkan menjadi yang dapat dimodifikasi, seperti pola makan dan penyakit komorbid, serta yang tidak dapat dimodifikasi, seperti usia dan Ras. Faktor risiko ini juga dapat dikategorikan berdasarkan durasi dampaknya, mulai dari risiko

jangka pendek seperti infeksi atau stres, hingga risiko jangka panjang seperti jenis kelamin dan ras. Di negara berkembang, prevalensi stroke hemoragik lebih tinggi dibandingkan stroke iskemik, tetapi seiring dengan perbaikan pengelolaan hipertensi dan perubahan pola makan ke arah gaya Barat, insidensi stroke iskemik meningkat, sebagaimana terlihat dalam penelitian di Beijing, Tiongkok, selama perkembangan ekonomi pesat di sana. Mengurangi beban stroke membutuhkan identifikasi faktor risiko yang dapat dimodifikasi dan penerapan intervensi pencegahan yang efektif, seperti penggunaan skor risiko stroke, termasuk *Framingham Stroke Risk Profile*, yang menggabungkan faktor-faktor seperti usia, tekanan darah sistolik, diabetes mellitus, merokok, dan penyakit kardiovaskular untuk memperkirakan risiko stroke dalam 10 tahun.²⁰

Tabel 2.1 Faktor Risiko Stroke

	Faktor Risiko yang tidak dapat dimodifikasi	Faktor Risiko yang dapat dimodifikasi
Stroke Iskemik	Usia	Hipertensi
	Jenis kelamin	Riwayat merokok
	Ras/ etnis	Lingkar pinggang
		Diet
		Fisik tidak aktif
		Hiperlipidemia
		Diabetes mellitus
		Konsumsi alcohol
		Penyebab jantung
		Apolipoprotein B hingga A1
	Genetik	
Stroke <i>Haemorrhagic</i>	Usia	Hipertensi
	Jenis kelamin	Riwayat merokok
	Ras/ etnis	Lingkar pinggang
		Konsumsi alcohol
		Diet
		Genetik

2.3.4 Gejala Klinis

Stroke iskemik memiliki manifestasi klinis yang beragam, tergantung pada lokasi dan luasnya kerusakan otak. Gejala klasik yang paling sering dilaporkan meliputi kelemahan atau mati rasa yang tiba-tiba pada satu sisi tubuh, kesulitan berbicara atau memahami pembicaraan, gangguan penglihatan pada satu atau kedua mata, kehilangan keseimbangan atau koordinasi, dan sakit kepala parah yang muncul tanpa penyebab yang jelas. Namun, pada beberapa pasien, gejala dapat bersifat kurang khas, seperti pusing, gangguan kognitif, atau perubahan persepsi terhadap lingkungan sekitar. Gejala-gejala ini sering kali bersifat tiba-tiba, menetap, dan belum pernah dialami sebelumnya oleh pasien, sehingga menimbulkan kebingungan dalam mengenali kondisi sebagai stroke. Pemahaman yang terbatas terhadap manifestasi stroke, terutama yang tidak khas, dapat menyebabkan keterlambatan penanganan medis yang krusial. Oleh karena itu, pengenalan dini terhadap gejala, baik oleh pasien maupun tenaga kesehatan, sangat penting untuk memastikan intervensi medis segera yang dapat mencegah kerusakan otak lebih lanjut.²¹

2.3.5 Patofisiologi

Patofisiologi stroke iskemik melibatkan berbagai jalur fisiologis kompleks yang melibatkan sejumlah molekul. Stroke dimulai ketika area inti otak yang disebut "core" tidak menerima oksigen dan nutrisi selama sekitar 4 menit. Kekurangan ini menyebabkan asidosis seluler,

penurunan energi (ATP), gangguan homeostasis ion, peningkatan kadar kalsium intraseluler, toksisitas akibat radikal bebas, produksi sitokin dan produk asam arakidonat, aktivasi sel glial, kerusakan sawar darah otak (BBB), serta infiltrasi leukosit yang akhirnya menyebabkan kematian neuron. Di sekitar area inti ini terdapat "penumbra," yaitu wilayah dengan fungsi listrik terganggu yang masih berpotensi diselamatkan melalui intervensi medis yang tepat. Kehilangan oksigen dan nutrisi memicu stres seluler, gangguan kadar kalsium, dan kematian neuron melalui jalur apoptosis dan nekrosis. Selain itu, penurunan ATP akibat gangguan pompa ion bergantung ATP menyebabkan lonjakan kalsium sitosol dan ion natrium, yang mengaktifkan enzim seperti *calpain*, *caspase*, dan *nitric oxide synthase*. Enzim-enzim ini memicu kerusakan membran plasma, pelepasan protein pro-apoptotik, dan aktivasi saluran besar mitokondria yang menyebabkan hilangnya fungsi mitokondria serta pelepasan sitokrom C, yang mempercepat proses kematian sel.

Sel-sel yang mati di wilayah inti dan penumbra kemudian mengeluarkan sinyal inflamasi yang memicu peradangan pasca-iskemik. Peradangan ini ditandai dengan aktivasi molekul adhesi (ICAM-1, VCAM-1), sitokin proinflamasi (IL-1, IL-6, TNF- α), matrix metalloproteinases (MMP2, MMP9), serta molekul kecil lain yang berkontribusi terhadap kerusakan BBB. Stres oksidatif dan inflamasi meningkatkan permeabilitas BBB dengan merusak protein

penyusun sel endotel dan memicu infiltrasi leukosit. Proses ini diperburuk oleh penurunan produksi nitric oxide (NO) yang menyebabkan akumulasi pembekuan intravaskular. Aktivasi sel mast dan makrofag juga berkontribusi pada pelepasan histamin dan mediator proinflamasi lainnya, yang semakin memperparah kerusakan BBB. Secara keseluruhan, jalur-jalur ini berkontribusi pada kerusakan otak yang progresif dan berkelanjutan akibat stroke iskemik.²²

2.3.6 Tatalaksana

Hingga saat ini, satu-satunya pendekatan terapi yang disetujui untuk pengobatan *acute ischemic stroke* adalah pemberian terapi trombolitik dan pembuangan bekuan darah secara mekanis melalui trombektomi mekanis endovaskular (*mechanical thrombectomy*). Pembentukan bekuan darah merupakan respons fisiologis terhadap cedera pembuluh darah yang dimulai dengan pembentukan sumbat trombosit yang longgar, diikuti oleh aktivasi kaskade koagulasi yang menghasilkan pembentukan jaring fibrin yang memperkuat bekuan darah dan memungkinkan pembuluh darah yang cedera diperbaiki. Pemecahan bekuan darah kemudian terjadi secara alami selama beberapa hari berikutnya saat dinding pembuluh darah yang terluka sembuh, melalui aktivasi plasminogen menjadi plasmin, suatu protease serin yang merupakan fibrinolitik yang kuat. Aktivator plasminogen jaringan (tPA) bertanggung jawab atas pembelahan

plasminogen menjadi plasmin, yang dilepaskan secara perlahan oleh sel-sel endotel di lokasi cedera.²³

2.3.7 Prognosis

Berdasarkan studi observasional longitudinal dari *Swedish Stroke Register* (Riksstroke), ditemukan bahwa tingkat kelangsungan hidup berbeda antara pasien dengan stroke iskemik dan mereka yang mengalami ICH. Pada 30 hari setelah stroke pertama, 89,9% pasien dengan stroke iskemik masih hidup dibandingkan dengan 69,3% pasien dengan ICH. Meskipun mortalitas dini lebih tinggi untuk pasien yang didiagnosis dengan ICH, setelah 30 hari, kelangsungan hidup menurun pada tingkat yang sama untuk kedua kelompok. Namun, proporsi penyintas yang bergantung secara fungsional tetap lebih tinggi secara konsisten untuk pasien dengan ICH di semua titik waktu. Studi tersebut menemukan bahwa pada 5 tahun, tingkat kelangsungan hidup adalah 49,4% untuk stroke iskemik dan 37,8% untuk ICH.¹⁸

2.3.8 Komplikasi

Stroke iskemik dapat menyebabkan berbagai komplikasi serius, baik akibat penyakit itu sendiri maupun terapi yang diberikan. Penggunaan *IV alteplase* sebagai terapi trombolitik memiliki risiko komplikasi, seperti perdarahan intraserebral simtomatik (6%), perdarahan sistemik mayor (2%), dan angioedema (5%). Oleh karena itu, tenaga medis harus siap menangani efek samping tersebut

sebelum pemberian obat. Selain itu, infark besar pada wilayah otak tertentu dapat menyebabkan edema serebral yang signifikan. Jika edema parah, tindakan bedah dekompresi mungkin diperlukan, yang terbukti dapat menurunkan angka mortalitas. Komplikasi lain yang dapat terjadi adalah kejang berulang pasca-stroke, yang harus ditangani sebagaimana kejang pada kondisi neurologis akut lainnya. Namun, penggunaan profilaksis obat anti kejang tidak direkomendasikan untuk mencegah kejang pada pasien stroke.¹⁸

2.4 *Mesenchymal Stem Cell* (MSCs)

2.4.1 Definisi MSC

Sel punca mesenkimal (*Mesenchymal Stem Cells*/MSC) adalah sel multipoten yang memiliki kemampuan memperbarui diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis jaringan di bawah rangsangan yang tepat. MSC bertindak sebagai sumber faktor bioaktif yang bersifat imunomodulator dan regeneratif. Mereka menciptakan mikrolingkungan yang mendukung perbaikan jaringan yang rusak dengan merangsang sel progenitor spesifik jaringan. MSC dapat diperoleh dari berbagai sumber, seperti sumsum tulang, jaringan lemak, darah tepi, dan jaringan neonatal seperti tali pusat dan plasenta. Salah satu sifat unik MSC adalah kemampuannya untuk berinteraksi dengan sistem imun, seperti menekan produksi sitokin inflamasi (misalnya $\text{TNF-}\alpha$) dan meningkatkan produksi sitokin anti-inflamasi (seperti IL-10). Karena sifat-sifat ini, MSC telah menjadi subjek

utama penelitian klinis untuk aplikasi terapi pada berbagai penyakit, termasuk gangguan autoimun, penyakit jantung, dan stroke iskemik.

24

2.4.2 Karakteristik MSC

Sel punca mesenkimal (MSC) memiliki karakteristik dasar berupa kemampuan multipotensi dan sifat imunomodulator. Ketika diisolasi dan dikultur secara *in vitro*, MSC mampu membentuk koloni fibroblas dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk osteoblas, adiposit, dan kondrosit. Kemampuan ini didukung oleh ekspresi marker spesifik seperti *ALP*, *RUNX2*, dan *PPAR γ* . Selain itu, MSC memiliki kemampuan pembaruan diri yang dikonfirmasi melalui uji transplantasi serial, di mana MSC tetap mempertahankan fenotip dan potensinya untuk membentuk jaringan baru. Karakteristik ini menjadikan MSC sebagai kandidat unggul dalam terapi berbasis sel, khususnya dalam pengobatan penyakit degeneratif dan imunologi.

Selain sifat multipotensi, MSC juga dikenal karena kemampuannya dalam mengatur respons imun dan memperbaiki lingkungan mikro di sekitarnya. MSC dapat menghambat proliferasi dan diferensiasi sel imun, termasuk sel T dan sel B, melalui mekanisme sekresi sitokin dan interaksi sel-ke-sel. Dalam proses regenerasi jaringan, MSC menunjukkan kemampuan bermigrasi ke lokasi cedera dan berintegrasi dengan jaringan yang rusak,

menghasilkan efek reparatif yang signifikan. Lebih jauh lagi, MSC melepaskan vesikel ekstraseluler (EVs) yang berperan dalam modifikasi lingkungan mikro, termasuk penghambatan inflamasi dan stimulasi angiogenesis, yang mendukung proses penyembuhan jaringan yang rusak.²⁵

2.4.3 Potensi Terapi MSCs dalam Stroke

Mesenchymal Stem Cells (MSC) menawarkan potensi besar dalam pengobatan stroke iskemik berkat kemampuan regeneratif dan imunomodulatorinya. MSC dapat berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, seperti neuron, sel glial, dan sel endotel, yang mendukung perbaikan jaringan otak yang rusak. Selain itu, MSC mampu mengurangi respons inflamasi melalui pelepasan sitokin dan molekul bioaktif seperti *transforming growth factor-β* (TGF-β) dan *neurotrophic factors*. Efek ini tidak hanya mencegah apoptosis neuron tetapi juga mempercepat proses regenerasi di area iskemik, sehingga meningkatkan fungsi neurologis. Dalam berbagai studi, MSC menunjukkan keamanan dan efektivitas yang menjanjikan dalam aplikasi klinis, menjadikannya salah satu fokus utama penelitian terapi regeneratif

Selain efek neuroprotektif, MSC juga berperan penting dalam angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru di area iskemik. MSC melepaskan faktor-faktor pertumbuhan seperti VEGF (vascular endothelial growth factor), yang merangsang proliferasi dan

migrasi sel endotel, serta meningkatkan suplai oksigen dan nutrisi ke jaringan yang rusak. Angiogenesis ini memainkan peran kunci dalam memulihkan aliran darah lokal dan memperbaiki mikrolingkungan otak yang terkena iskemia. Peningkatan densitas pembuluh darah di sekitar area cedera telah terbukti berkontribusi pada pemulihan fungsi otak secara keseluruhan, terutama ketika terapi MSC diberikan pada tahap awal setelah serangan stroke.²⁶

MSC juga memiliki kemampuan antioksidan yang signifikan, yang dapat mengurangi stres oksidatif akibat peningkatan produksi ROS (*reactive oxygen species*) selama cedera iskemik. Dengan menurunkan kadar ROS, MSC melindungi neuron dari kerusakan lebih lanjut dan meningkatkan viabilitas sel otak. Selain itu, MSC diketahui mampu memperbaiki sawar darah otak (BBB) yang rusak akibat stroke, sehingga mengurangi infiltrasi inflamasi yang merusak jaringan otak lebih lanjut. Kombinasi efek antiinflamasi, angiogenik, dan antioksidan dari MSC menjadikannya terapi multifungsi yang menjanjikan untuk mengatasi berbagai aspek patofisiologi stroke iskemik.²⁷

2.4.4 Hypoxia Preconditioning pada MSC

Hypoxia preconditioning (HP) pada Mesenchymal Stem Cells (MSC) telah terbukti meningkatkan kapasitas regeneratifnya. Dalam kondisi hipoksia, MSC meningkatkan pelepasan vesikel ekstraseluler (EV) yang mengandung faktor pertumbuhan dan sitokin pro-

regeneratif. Studi terbaru menunjukkan bahwa EV yang dihasilkan dari MSC yang diprecondition dengan hipoksia memiliki kapasitas regeneratif yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang diperoleh dalam kondisi normoksia. Hal ini disebabkan oleh aktivasi *hypoxia-inducible factor* (HIF) yang memodulasi ekspresi gen terkait inflamasi, migrasi, proliferasi, diferensiasi, angiogenesis, metabolisme, dan apoptosis, sehingga meningkatkan potensi terapeutik MSC dalam pengobatan berbagai patologi.²⁸

Selain itu, Hipoksia dapat meningkatkan fungsi MSC dengan meningkatkan proliferasi, kelangsungan hidup, migrasi, dan aktivitas parakrin. Kondisi hipoksia merangsang MSC untuk memproduksi lebih banyak faktor trofik dan EV, yang memainkan peran penting dalam mempromosikan proliferasi dan migrasi sel, meningkatkan angiogenesis, serta menghambat apoptosis dan inflamasi. Peningkatan aktivitas parakrin ini menjadikan MSC yang diprecondition dengan hipoksia sebagai kandidat yang menjanjikan untuk terapi regeneratif pada berbagai model penyakit.²⁹

2.5 IL6 dan PDGF pada Stroke Iskemik

Terdapat beberapa penelitian yang mencari hubungan antara IL6 dan PDGF terhadap kejadian stroke iskemik. Pada penelitian IL6, didapatkan hasil bahwa hubungan yang diamati antara kadar IL-6 yang beredar dan kejadian stroke dapat dijelaskan oleh efek sinyal IL-6 pada patologi yang mendasari stroke iskemik, terutama stroke aterosklerosis arteri besar.

Hubungan dosis-respons yang jelas antara kadar IL-6 yang beredar dan risiko stroke iskemik di antara individu yang bebas stroke masih belum secara jelas diketahui, namun didapatkan hasil bahwa pensinyalan IL-6 merupakan target yang menjanjikan untuk menurunkan risiko stroke iskemik.³⁰

Mekanisme IL-6 pada stroke iskemik berperan penting dalam proses inflamasi yang terjadi setelah cedera iskemik. IL-6 adalah salah satu sitokin utama yang dilepaskan selama fase akut stroke, memicu respons inflamasi sistemik dan lokal. Jalur sinyal IL-6 berinteraksi dengan reseptor IL-6 (IL-6R) dan protein transduksi sinyal gp130, yang mengaktifkan kaskade molekuler, termasuk jalur STAT3 dan MAPK. Aktivasi ini menghasilkan peningkatan ekspresi protein proinflamasi, seperti CRP (C-reactive protein), yang memperburuk kerusakan jaringan. Selain itu, variasi genetik pada IL-6R yang menurunkan sinyal IL-6 dikaitkan dengan pengurangan risiko stroke iskemik, terutama pada subtype stroke arteri besar dan pembuluh kecil. Studi randomisasi mendelikan menunjukkan bahwa penghambatan farmakologis IL-6R, seperti dengan tocilizumab, dapat menurunkan tingkat CRP dan risiko kejadian kardiovaskular, termasuk stroke iskemik. Dengan demikian, jalur sinyal IL-6 menjadi target potensial untuk terapi stroke berbasis pengurangan inflamasi, yang memerlukan eksplorasi lebih lanjut dalam uji klinis.³¹

Platelet-Derived Growth Factor-D (PDGF-D) memainkan peran penting dalam melindungi neurovaskular setelah stroke iskemik dengan memulihkan fungsi perisit. Setelah stroke iskemik, ekspresi PDGF-D meningkat sementara pada sel endotel di area cedera selama fase subakut.

Peningkatan ini berkontribusi pada perlindungan neurovaskular dengan memulihkan fungsi perisit, yang penting untuk stabilitas dan fungsi pembuluh darah di otak. Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan ketersediaan PDGF-D selama fase subakut dapat menyelamatkan kelangsungan hidup neuron dan meningkatkan pemulihan neurologis. Selain itu, peningkatan PDGF-D mendorong neovaskularisasi stabil pada jaringan yang cedera dan meningkatkan perfusi otak. Mekanisme ini melibatkan stimulasi migrasi perisit yang diperlukan untuk cakupan endotel yang optimal dan promosi angiogenesis. Selain itu, PDGF-D merangsang perisit untuk meningkatkan sekresi faktor pro-angiogenik dan pelindung vaskular, yang berperan dalam memperbaiki jaringan yang cedera. Stimulasi PDGF-D juga mengurangi kehilangan perisit dan transisi fibrotik, yang penting untuk menjaga integritas pembuluh darah setelah cedera iskemik. Dengan demikian, PDGF-D berkontribusi pada perlindungan neurovaskular setelah stroke iskemik dengan memulihkan fungsi perisit, meningkatkan angiogenesis, dan memperbaiki perfusi otak. Temuan ini menunjukkan bahwa PDGF-D dapat menjadi target terapeutik potensial untuk meningkatkan pemulihan setelah stroke iskemik.¹⁶

2.6 Hipoksia Pada Stroke

Hipoksia merupakan kondisi penurunan kadar oksigen dalam jaringan yang memainkan peran sentral dalam patofisiologi stroke iskemik. Saat terjadi stroke iskemik, aliran darah ke otak terganggu akibat oklusi pembuluh darah, menyebabkan hipoksia pada area yang terkena. Hipoksia ini

mengaktifkan Hypoxia-Inducible Factor-1 α (HIF-1 α), yang bertindak sebagai regulator utama respons seluler terhadap kekurangan oksigen. HIF-1 α berfungsi mengatur ekspresi berbagai gen yang berperan dalam adaptasi seluler terhadap hipoksia, termasuk gen yang terlibat dalam angiogenesis, metabolisme energi, dan kelangsungan hidup sel neuron. Salah satu mekanisme utama yang dimediasi oleh HIF-1 α adalah stimulasi ekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF), yang mendorong pembentukan pembuluh darah baru untuk meningkatkan suplai oksigen ke jaringan yang terkena iskemia. Studi menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi HIF-1 α selama fase akut stroke iskemik dapat membantu mengurangi kerusakan jaringan dan meningkatkan prognosis klinis.³²

Selain memfasilitasi angiogenesis, hipoksia juga berperan dalam mempercepat proses neuroinflamasi dan kematian sel neuron. Ketika hipoksia terjadi, produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) meningkat, yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif dan disfungsi mitokondria pada sel saraf. Selain itu, hipoksia juga merangsang pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 β dan TNF- α , yang memperburuk kondisi jaringan yang sudah terkena iskemia. Namun, beberapa studi terbaru menunjukkan bahwa terapi berbasis prekondisi hipoksia, seperti *Hypoxia Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (HUC-MSCs), dapat meningkatkan ketahanan sel terhadap kondisi hipoksia dengan meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan dan molekul antiinflamasi. Terapi ini berpotensi memperbaiki

sirkulasi kolateral dan mengurangi ukuran infark pada pasien stroke iskemik

33

2.7 Konsep Terapi Berbasis Sel Punca

2.7.1 Pendekatan Seluler Pada Stroke

Pendekatan seluler dalam terapi stroke berfokus pada pemahaman bagaimana berbagai jenis sel dalam sistem saraf pusat merespons cedera iskemik dan bagaimana intervensi dapat ditargetkan untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Setelah stroke iskemik, terjadi gangguan metabolisme energi yang signifikan akibat penurunan suplai oksigen dan glukosa ke jaringan otak. Hal ini menyebabkan terganggunya homeostasis ion, produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), serta aktivasi jalur apoptosis yang berkontribusi pada kematian neuron. Penelitian menunjukkan bahwa strategi terapi yang menargetkan mitokondria dan metabolisme seluler dapat membantu mengurangi dampak negatif iskemia dan meningkatkan pemulihan fungsi saraf³⁴

Selain metabolisme energi, jalur pensinyalan dalam sel juga memainkan peran kunci dalam patogenesis stroke iskemik. Aktivasi berlebihan *N-Methyl-D-Aspartate Receptor* (NMDAR) akibat pelepasan glutamat yang berlebihan selama stroke menyebabkan eksitotoksisitas, yang memperburuk cedera neuron. Di sisi lain, beberapa jalur pensinyalan seperti PI3K/Akt dan *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) telah terbukti memiliki efek

neuroprotektif dengan mengurangi kematian sel dan meningkatkan regenerasi jaringan otak. Dengan demikian, pendekatan seluler dalam terapi stroke dapat mencakup penggunaan agen farmakologis atau terapi gen untuk memodulasi jalur pensinyalan yang berperan dalam proses neurodegeneratif dan regeneratif³⁵

Pendekatan lain yang menjanjikan dalam terapi stroke adalah penggunaan sel punca mesenkimal (MSC) untuk memperbaiki jaringan otak yang rusak. MSC memiliki kemampuan untuk bermigrasi ke area yang mengalami cedera dan melepaskan faktor-faktor yang mendukung perbaikan jaringan, seperti VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) dan antioksidan. Studi menunjukkan bahwa MSC yang telah mengalami hypoxia preconditioning memiliki efektivitas lebih tinggi dalam meningkatkan angiogenesis dan memperbaiki sawar darah otak (BBB). Dengan kombinasi strategi berbasis seluler ini, terapi stroke masa depan diharapkan dapat lebih efektif dalam mengatasi cedera iskemik dan meningkatkan kualitas hidup pasien³⁶

2.7.2 Mekanisme Kerja MSC pada Stroke

Mesenchymal Stem Cells (MSC) bekerja melalui berbagai mekanisme untuk memperbaiki jaringan otak yang rusak akibat stroke iskemik. Salah satu mekanisme utamanya adalah imunomodulasi, di mana MSC dapat mengatur respons sistem imun yang berlebihan setelah terjadinya iskemia. Setelah stroke, tubuh mengalami

peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-1 β* (IL-1 β), *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), dan *Interleukin-6* (IL-6), yang memperburuk cedera jaringan otak dengan menyebabkan apoptosis neuron dan disfungsi sawar darah otak (BBB). MSC mampu menekan respons inflamasi ini dengan melepaskan *Transforming Growth Factor- β* (TGF- β) dan *Interleukin-10* (IL-10), yang memiliki efek antiinflamasi dan mampu menghambat aktivasi mikroglia serta sel imun lainnya. Pengurangan inflamasi ini sangat penting untuk menciptakan lingkungan mikro yang lebih mendukung pemulihan jaringan otak yang rusak.³⁷

Selain mengurangi peradangan, MSC juga memiliki kemampuan untuk merangsang angiogenesis, yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang diperlukan untuk memperbaiki sirkulasi darah ke area yang mengalami iskemia. Selama stroke iskemik, aliran darah ke otak terganggu, menyebabkan hipoksia dan kematian sel. MSC melepaskan faktor pertumbuhan seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) yang membantu meningkatkan proliferasi dan migrasi sel endotel, sehingga mempercepat pembentukan pembuluh darah baru dan memperbaiki perfusi di area yang terkena stroke. Dengan meningkatnya suplai darah dan oksigen ke area yang terdampak, jaringan otak dapat pulih lebih cepat dan risiko kerusakan sekunder akibat hipoksia berkurang.³⁸

Selain efek angiogenik, MSC juga berperan dalam proteksi neuron dan stimulasi neurogenesis. MSC dapat mengeluarkan berbagai neurotrophic factors, seperti *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF), *Nerve Growth Factor* (NGF), dan *Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor* (GDNF), yang memiliki peran penting dalam kelangsungan hidup neuron dan regenerasi jaringan saraf. Faktor-faktor ini mendorong diferensiasi sel progenitor saraf menjadi neuron yang matang, memperbaiki sirkuit saraf yang rusak, dan mengurangi apoptosis. Selain itu, MSC juga dapat melepaskan eksosom dan vesikel ekstraseluler (EVs) yang mengandung microRNA dan protein yang dapat membantu dalam proses pemulihan jaringan otak. Studi menunjukkan bahwa MSC yang telah dipre-kondisi dengan hipoksia (*hypoxia preconditioning*) memiliki efektivitas lebih tinggi dalam meningkatkan angiogenesis dan melindungi neuron dari stres oksidatif, dibandingkan dengan MSC yang tidak mengalami kondisi hipoksia.³⁹

Lebih jauh lagi, MSC berkontribusi dalam pemulihan sawar darah otak (BBB) yang rusak akibat stroke iskemik. Setelah stroke, permeabilitas BBB meningkat, memungkinkan masuknya molekul dan sel inflamasi ke dalam jaringan otak, yang memperburuk cedera iskemik. MSC dapat memperkuat kembali integritas BBB dengan meningkatkan ekspresi protein tight junction seperti *occludin* dan *claudin-5*, serta mengurangi permeabilitas kapiler. Dengan

memperbaiki sawar darah otak, MSC dapat mengurangi edema otak dan risiko komplikasi sekunder yang dapat memperburuk prognosis pasien stroke.³⁷

Secara keseluruhan, mekanisme kerja MSC dalam terapi stroke melibatkan modulasi imun, stimulasi angiogenesis, neuroproteksi, regenerasi saraf, dan pemulihan sawar darah otak. Kombinasi efek ini membuat MSC menjadi salah satu terapi regeneratif yang paling menjanjikan untuk stroke iskemik. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk menentukan dosis optimal, waktu pemberian terbaik, serta metode administrasi yang paling efektif agar MSC dapat memberikan manfaat maksimal bagi pasien stroke.³⁹



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

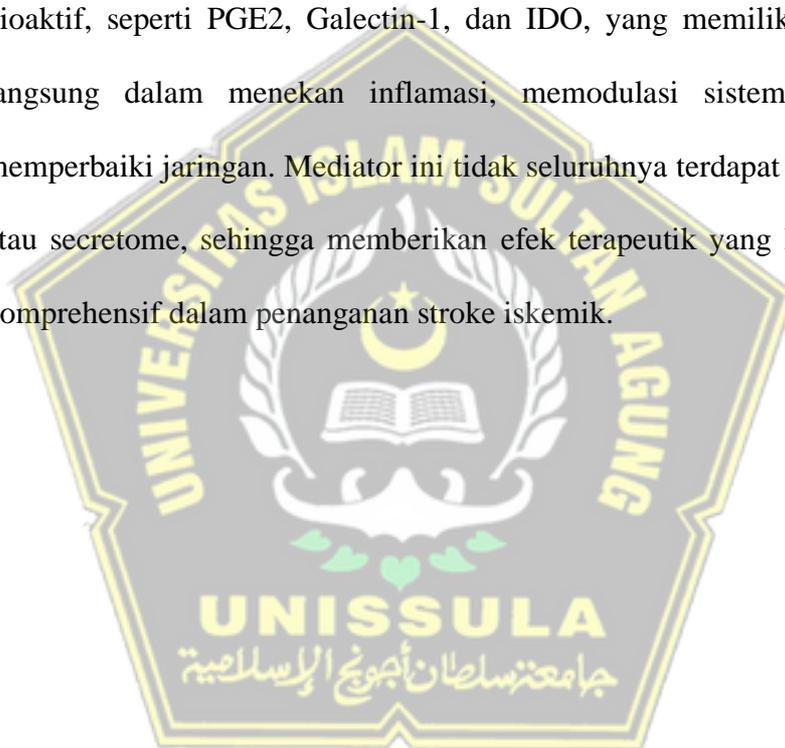
3.1 Kerangka Teori

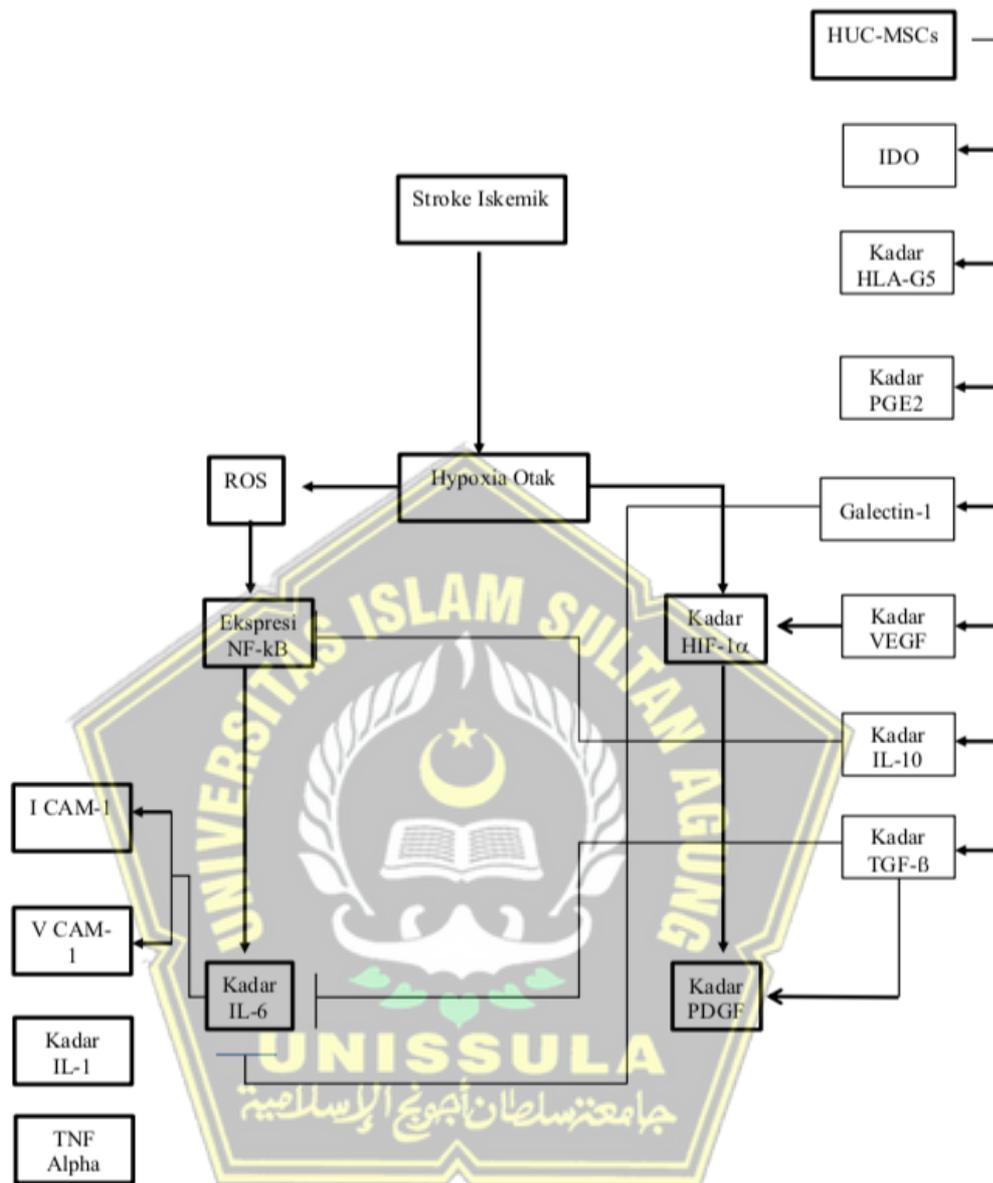
Kerangka teori ini menggambarkan peran sel punca mesenkimal dari tali pusat manusia (HUC-MSCs) dalam modulasi inflamasi dan perbaikan jaringan pada stroke iskemik. Cedera sistemik yang terjadi akibat stroke dapat memicu aktivasi jalur NF- κ B, yang kemudian meningkatkan produksi *interleukin-6* (IL-6). IL-6 berkontribusi terhadap peradangan lokal yang memperburuk kondisi stroke iskemik. Namun, keberadaan HUC-MSCs dapat memodulasi respons imun melalui mekanisme imunomodulasi, yang pada akhirnya dapat menekan aktivasi NF- κ B dan menurunkan produksi IL-6, sehingga mengurangi peradangan lokal. Studi terbaru menunjukkan bahwa HUC-MSCs memiliki potensi untuk mengurangi sitokin proinflamasi melalui sekresi faktor imunomodulator yang dapat menghambat aktivasi NF- κ B, sehingga mengurangi kerusakan jaringan akibat inflamasi yang berlebihan pada stroke iskemik.⁴⁰

Selain itu, HUC-MSCs juga berperan dalam meningkatkan angiogenesis dan memperbaiki perfusi otak melalui regulasi faktor induksi *hipoksia-1 α* (HIF-1 α). HIF-1 α berperan dalam meningkatkan kadar *platelet-derived growth factor* (PDGF), yang diketahui dapat merangsang pembentukan pembuluh darah baru serta meningkatkan perlindungan neurovaskular. PDGF juga berkontribusi dalam meningkatkan angiogenesis, yang penting untuk memperbaiki aliran darah ke area yang mengalami

iskemia. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peningkatan HIF-1 α yang dimediasi oleh HUC-MSCs dapat membantu pemulihan jaringan otak dengan meningkatkan kadar PDGF, sehingga mempercepat proses regenerasi setelah stroke iskemik.⁴¹

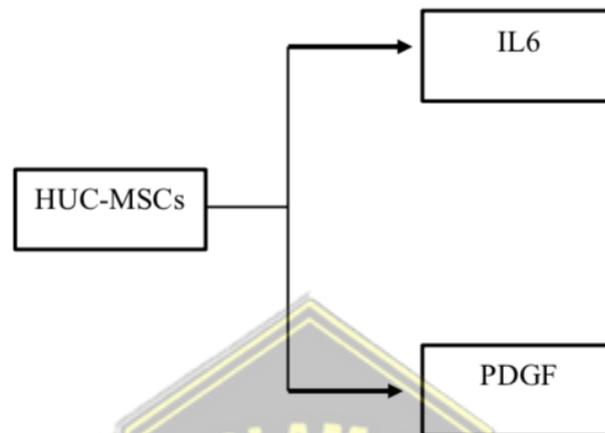
Keunggulan penggunaan sel HUC-MSCs utuh dibanding eksosom atau secretome adalah karena HUC-MSCs menghasilkan beragam mediator bioaktif, seperti PGE2, Galectin-1, danIDO, yang memiliki kemampuan langsung dalam menekan inflamasi, memodulasi sistem imun, serta memperbaiki jaringan. Mediator ini tidak seluruhnya terdapat pada eksosom atau secretome, sehingga memberikan efek terapeutik yang lebih luas dan komprehensif dalam penanganan stroke iskemik.





Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

HUC-MSCs memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar IL6 dan peningkatan kadar PDGF pada tikus galur wistar model stroke iskemik.

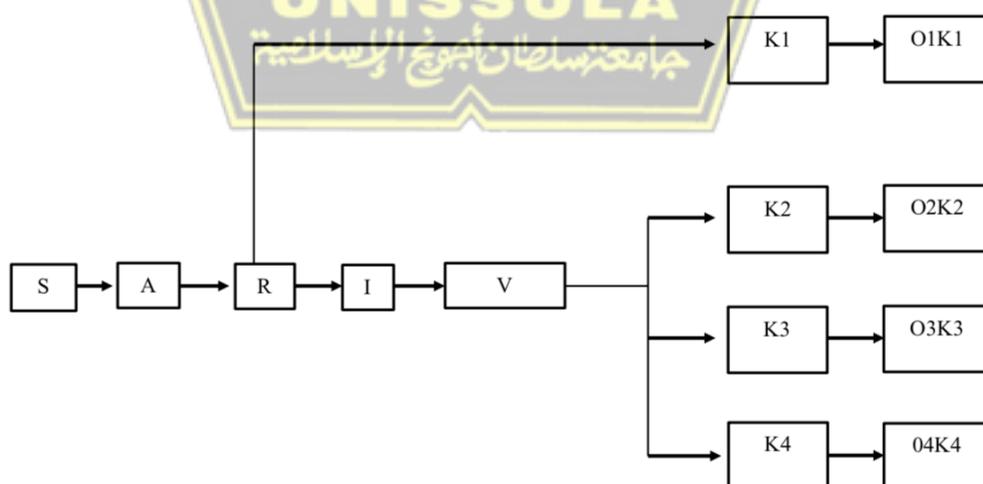
BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik in vivo menggunakan post test only control group design. Rancangan ini digunakan untuk menganalisis pengaruh hipoksik mesenchymal stem cell pada kelompok penelitian dengan cara membandingkan antara kelompok perlakuan dan control.

Kelompok penelitian ini terdiri dari 4 kelompok penelitian dengan 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol, masing-masing terdiri dengan rincian sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

1. S= Sampel
2. R= Randomisasi
3. I= Induksi Stroke
4. V= Validasi Stroke
5. K1= kelompok kontrol sehat (tikus tidak diinduksi stroke iskemik dan tidak diberikan terapi)
6. K2= kelompok kontrol negatif (tikus diinduksi stroke iskemik tapi tidak diberikan terapi)
7. K3= kelompok perlakuan tikus diinduksi stroke iskemik dengan diberikan terapi HUC-MSCs dengan dosis $1,5 \times 10^6$ sel
8. K4= kelompok perlakuan tikus diinduksi stroke iskemik dengan diberikan terapi HUC-MSCs dengan dosis 3×10^6 sel
9. O1K1 = Observasi kadar IL6 dan PDGF Kelompok 1
10. O2K2 = Observasi kadar IL6 dan PDGF Kelompok 2
11. O3K3 = Observasi kadar IL6 dan PDGF Kelompok 3
12. O4K4 = Observasi kadar IL6 dan PDGF Kelompok 4

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Subyek pada penelitian ini adalah tikus jantan galur *wistar* yang dinyatakan layak digunakan sebagai subyek penelitian oleh dokter hewan dari dari *Animal House* di *Laboratorium Semarang Cancer Center and Research (SCCR)*.

4.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang memiliki kriteria sebagai berikut:

4.2.2.1 Kriteria Inklusi

1. Umur 6-8 minggu
2. Kondisi sehat
3. Bobot badan 180–220 gram
4. Tikus yang tervalidasi stroke setelah induksi

4.2.2.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang sakit atau mati sebelum penelitian
2. Tikus yang gagal mengalami stroke setelah induksi

4.2.2.3 Kriteria *drop out*

1. Tikus yang mengalami infeksi atau mati sebelum akhir masa pengamatan

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

4.3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah HUC-MSCs.

4.3.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah kadar IL-6 dan PDGF.

4.3.2 Definisi Operasional

4.3.2.1 HUC-MSCs

HUC-MSCs adalah sel punca mesenkimal yang diperoleh dari tali pusat tikus wistar yang telah mengalami kondisi hipoksia sebelum diaplikasikan. Dalam penelitian ini, HUC-MSCs digunakan sebagai terapi potensial untuk stroke iskemik dengan tujuan memodulasi respons imun dan meningkatkan angiogenesis. Pengukuran keberadaan dan efeknya dapat diamati melalui ekspresi biomarker terkait inflamasi dan regenerasi jaringan otak. HUC-MSCs yang diberikan terdapat dua dosis, yaitu 1.5 juta sel dan 3 juta sel. Dosis tersebut didapatkan dari penelitian sebelumnya. Pada kelompok perlakuan HUC-MSCs diberikan secara intravena melalui vena ekor,

Skala: Nominal

4.3.2.2 IL-6

IL-6 adalah sitokin proinflamasi yang berperan dalam regulasi respons imun dan inflamasi. Dalam konteks stroke iskemik, peningkatan kadar IL-6 menandakan adanya peradangan akut yang dapat memperburuk kondisi jaringan otak. Pengukuran IL-6 dalam penelitian ini dilakukan melalui pemeriksaan serum menggunakan metode ELISA

yang diambil dari jaringan otak setelah tikus di terminasi dan diambil sampel pada hari ke-3 setelah perlakuan.

Skala: Ratio

4.3.2.3 PDGF

PDGF adalah faktor pertumbuhan yang berperan dalam stimulasi proliferasi dan diferensiasi sel endotel serta perbaikan vaskular. Dalam penelitian ini, kadar PDGF diukur sebagai indikator angiogenesis dan regenerasi jaringan setelah terapi dengan HUC-MSCs yang telah mengalami hipoksia. Pengukuran dilakukan melalui analisis biokimia ELISA yang diambil dari jaringan otak setelah tikus di terminasi dan diambil sampel pada hari ke-3 setelah perlakuan.

Skala: Ratio

4.4 Bahan/ Materi Penelitian

1. *Mesenchymal Stem Cells*
2. DMSO 1% dalam HCl 0,1 N
3. Aquades
4. SDS 10% dalam 0,1 N HCl
5. Etanol 96%
6. Media DMEM
7. FBS 10%
8. Penislin-streptomisin

9. *PBS (phosphate buffer salin)*
10. Tikus galur wistar
11. *Allophycocyanin (APC)*
12. *Phycocyttrin (PE)*
13. Antibodi CD73, CD90, CD105
14. Ketamine 90%
15. Elisa Kit

4.5 Alat Penelitian

1. *Micropipette with tip (yellow tip, blue tip, pink tip)*
 2. *Pipette filler*
 3. *Conical tube (15 ml dan 50 ml)*
 4. *Cryotube 1 ml*
 5. *Inverted microscope*
 6. Gunting steril
 7. Pinset
 8. Scalpel
 9. Bisturi
 10. Thermostometer
 11. Aluminium foil
 12. *Dish*
 13. *Flask*
 14. Tabung nitrogen
 15. *Biosafety Cabinet class 2*
- 

16. Heparin tube
17. Cell counter
18. 24 well plate
19. Pipet kapiler
20. Sentrifuge tube
21. Freezer
22. Kapas
23. Punch biopsy 6 mm
24. Timbangan digital
25. Pipet tetes
26. Mortir
27. Stemper
28. Kertas label
29. Flow cytometry
30. Hypoxic chamber
31. Oksigenmeter
32. Sentrifuge (Sarvall MC 12 V)
33. ELISA reader

4.6 Cara Penelitian dan Alur Penelitian

4.6.1 Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian didapatkan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.6.2 Isolasi MSC dari *Umbilical Cord* (UC)

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety* cabinet class 2, menggunakan peralatan yang steril dan dikerjakan dengan teknik sterilitas yang tinggi.

1. *Umbilical cord* dikumpulkan dalam wadah steril yang mengandung NaCl 0.9%
2. Dengan menggunakan pinset steril, *umbilical cord* diletakkan ke petri dish dan dicuci secara hati-hati sampai bersih menggunakan PBS
3. *Umbilical cord* dipisahkan dari janin tikus dan pembuluh darah dibuang.
4. *Umbilical cord* dicacah hingga halus dan diletakkan pada flask 25T secara merata dan diamkan selama 3 menit hingga jaringan melekat pada permukaan flask.
5. Medium komplit yang terdiri dari DMEM, fungizon, penstrep, dan FBS) ditambahkan secara pelan-pelan hingga menutupi jaringan ksplan diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C dan 5% CO₂.
6. Sel akan muncul setelah kurang lebih 14 hari dari awal proses kultur.
7. Penggantian medium dilakukan setiap 3 hari sekali dengan cara
8. membuang sebagian medium dan diganti dengan medium komplit baru.
9. Pemeliharaan sel dilakukan hingga sel mencapai konfulensi 80%.

4.6.3 Validasi MSC

Validasi MSC dilakukan dengan menganalisis ekspresi marker *cluster of differentiation* (CD) menggunakan prosedur sebagai berikut:

1. Lepaskan sel dari flask dengan menggunakan BDTM accutaseTM *cell detachment solution* (cat No. 561527) atau *detachment solution* yang lain, cuci sel dan lakukan resuspensi dengan konsentrasi 1×10^7 sel/ml di dalam BD PharmingenTM *Stain Buffer* (cat. No. 554656) atau Phospat Buffer Saline (PBS) buffer. Sel dapat diresuspendi pada konsentrasi 5×10^6 sel/ml jika jumlah sel terbatas.
2. Siapkan tabung *falcon* 5 ml yang berisi reagen *flowcytometry*
3. Ulangi tabung 5 sampai 7 untuk setiap penambahan sampel yang dianalisis.
4. Ambil 100 μ l sampel kedalam masing masing tabung.
5. *Vortex* atau *tapping*.
6. Inkubasi 30 menit suhu kamar dalam ruang gelap.
7. Cuci sebanyak 2 kali dengan PBS dan resuspensi dengan 300-500 μ l PBS atau 1 kali *washing buffer* (FBS).
8. Baca di *flowcytometry* gunakan tabung 1-5 sebagai kontrol untuk set up cytometry (sebagai kompensasi).

4.6.4 Prosedur Hipoksia MSC

1. *Hypoxic chamber* disiapkan

2. *Well* yang berisi MSC dimasukkan ke dalam chamber
3. Oksigenmeter diletakkan ke dalam chamber guna memastikan konsentrasi oksigen
4. Chamber dipastikan tertutup rapat
5. Nitrogen dialirkan melalui selang yang sudah terhubung ke chamber secara merata
6. Penambahan nitrogen perlahan hingga oksigen meter 5%
7. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.
8. Pemantauan oksigenmeter agar konsentrasi oksigen tetap 5%.

4.6.5 Pembuatan Tikus Model Stroke

Satu hari sebelum operasi, hewan dipuasakan 8 jam. Selama 1 minggu setelah operasi, hewan diberi makan dengan makanan tumbuk basah dilantai. Hewan dipantau setiap hari untuk memastikan kelangsungan hidup dan kondisi. Untuk mencegah infeksi bakteri, hewan diberikan antibiotik *floroquinolon*, *enrofloxacin* 2,5 µg/g berat badan secara intraperitoneal 1 kali per hari, untuk mengurangi rasa sakit diberikan analgetik parasetamol 18,9 mg intraperitoneal 2 kali per hari, pemberian obat antibiotik dan analgetik tersebut selama 7 hari setelah dilakukan operasi.

Hewan coba di anestesi menggunakan ketamin 1% 30 mg/kgBB secara intraperitoneal, suhu rektal dipertahankan pada 37°C kemudian dilakukan induksi stroke iskemik dengan metode *Middle Cerebral Artery Occlusion* (MCAO). MCAO dilakukan dengan cara memotong

bulu tikus pada bagian kepalanya, lalu diolesi alkohol. Kemudian insersi kulit bagian kepala sampai sutura terlihat. Buka batok kepala dan cari *middle artery cerebral*. Setelah menemukan, ikat menggunakan benang selama 90 menit. Setelah selesai buka ikatan. Jahit kembali kulit dengan menggunakan benang. Beri betadine yang berguna untuk antiseptik.

4.6.6 Pemberian HUC-MSCs

Pada kelompok perlakuan HUC-MSCs diberikan secara intravena melalui vena ekor, 3 hari setelah MCAO, dosis yang diberikan sebanyak 300 μ L. Sedangkan pada kelompok kontrol diberikan normal saline 300 μ L secara intravena pada vena ekor, 3 hari setelah MCAO.

4.6.7 Uji Kadar IL-6 dan PDGF

1. Pengujian dilakukan pada suhu ruang.
2. Tentukan jumlah strip yang diperlukan untuk pengujian. Masukkan strip yang tersisa ke dalam alumunium zip untuk disimpan.
3. Strip yang tidak digunakan harus disimpan pada suhu 2-8°C.
4. Tambahkan 50ul standar ke sumuran standar. Catatan: Jangan menambahkan antibodi ke standar karena larutan standar mengandung antibodi terlabel biotin.
5. Tambahkan 40ul sampel yang sudah disonikator, dan dilisiskan dengan PBS ke sumuran sampel lalu tambahkan 10ul antibodi anti IL-6 atau PDGF ke sumuran sampel, lalu tambahkan 50ul

streptavidin- HRP ke sumuran sampel dan sumur standar (Bukan sumuran blanko).

6. Campur dengan baik. Tutupi plate dengan sealer.
7. Inkubasi 60 menit pada suhu 37°C.
8. Lepaskan sealer dan cuci sumuran 5 kali dengan wash buffer setidaknya 0,3 ml selama 30 detik hingga 1 menit untuk setiap pencucian.
9. Pada tiap sumuran masukan 50ul chromogen solution A dan B. Aduk rata dan inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit suhu 37oC di tempat gelap
10. Tiap sumuran diberi larutan Stopper 50ul warna biru akan berubah menjadi kuning.
11. Pembacaan menggunakan ELISA dengan panjang gelombang 450 nm.

4.6.8 Metode Terminasi Tikus

Dalam penelitian ini, terminasi tikus dilakukan dengan menggunakan kloroform (CHCl_3) sebagai agen anestesi. Metode ini dipilih karena kemampuannya dalam menginduksi kehilangan kesadaran secara cepat dan permanen dengan minimal stres bagi hewan. Proses terminasi dilakukan di dalam ruang berventilasi baik untuk menghindari paparan zat kimia terhadap peneliti. Tikus ditempatkan di wadah tertutup yang telah diisi dengan uap kloroform

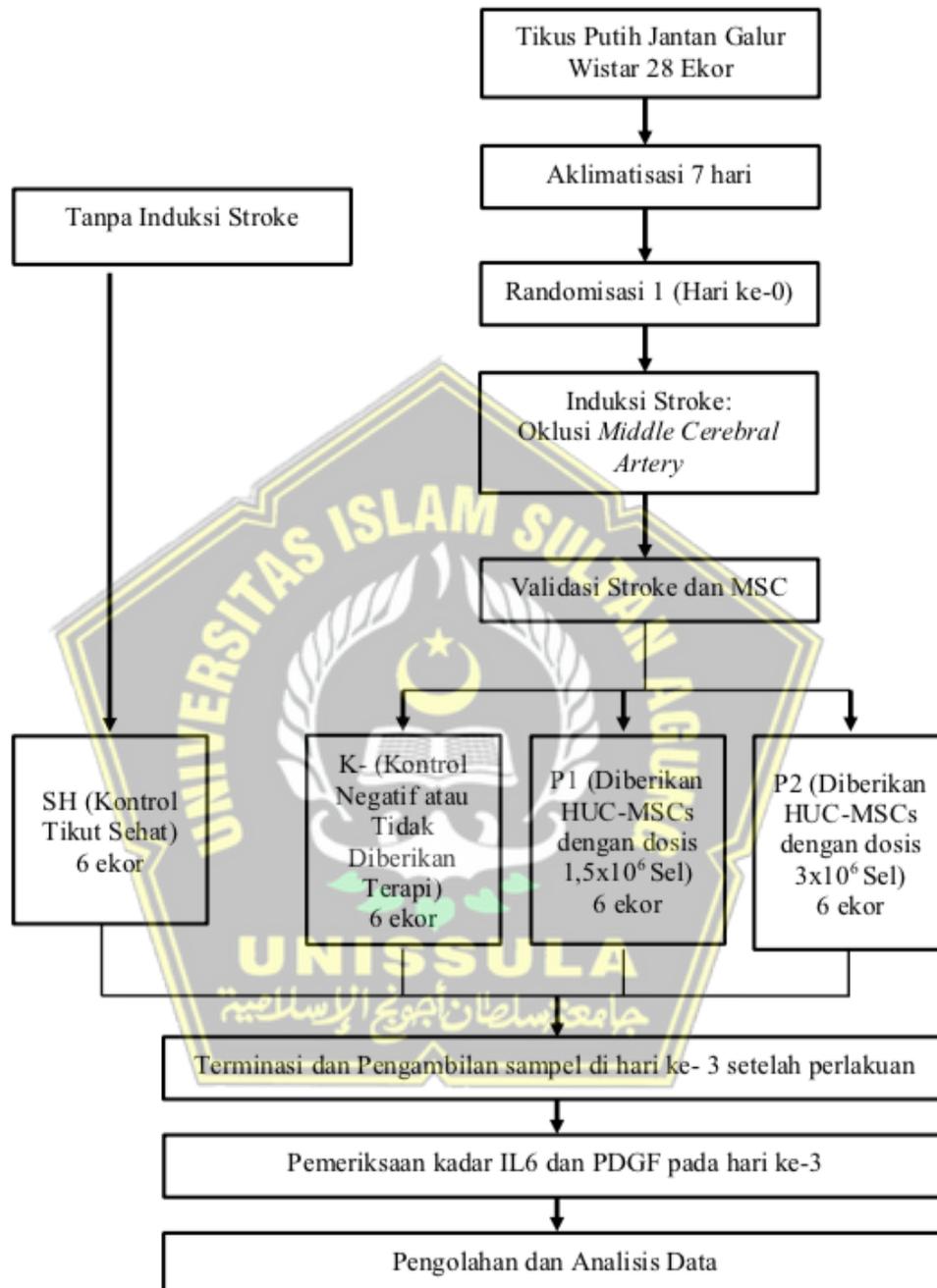
hingga terjadi hilangnya respons terhadap rangsangan eksternal, diikuti dengan apnea dan henti jantung sebagai indikator kematian.

Setelah tikus dinyatakan mati, dilakukan prosedur diseksi kranial untuk mengambil jaringan otak (korteks serebri bagian ipsilateral), khususnya pada area infark. Jaringan otak yang diperoleh segera dibersihkan dan disimpan dalam tabung mikrocentrifuge, kemudian dibekukan di suhu -80°C sebelum analisis laboratorium.

Pengukuran kadar Interleukin-6 (IL-6) dan Platelet-Derived Growth Factor (PDGF) dilakukan menggunakan metode ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Sampel jaringan otak dihomogenisasi dengan buffer khusus, kemudian diproses sesuai protokol ELISA kit yang digunakan. Konsentrasi IL-6 dan PDGF dihitung berdasarkan pembacaan absorbansi di microplate reader dan dibandingkan terhadap kurva standar.

Dengan terminasi yang tepat dan prosedur pengambilan jaringan yang cermat, penelitian ini diharapkan dapat memperoleh data molekuler yang akurat terkait peran IL-6 dan PDGF pada proses inflamasi dan regenerasi vaskular pasca-stroke iskemik.

4.6.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.7 Teknik Pengumpulan Data

Hasil pemeriksaan kadar IL-6 dan PDGF pada seluruh kelompok dikumpulkan dan ditabulasi dalam sebuah tabel untuk dilakukan analisis lebih lanjut.

4.8 Metode Analisis Data

Data yang sudah diproses, kemudian dilakukan analisis deskriptif untuk mengetahui gambaran variabel dependen dan variable independent. Kemudian dilakukan uji normalitas data dengan Shapiro Wilk untuk mengetahui sebaran distribusi data. Karena sebaran data normal, maka dilakukan uji beda parametrik dengan menggunakan One Way ANOVA bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata untuk lebih dari dua kelompok sampel yang tidak berhubungan. Selanjutnya, karena sebaran data normal dan homogen kami lakukan analisis lanjutan dengan uji post hoc LSD. Nilai p dianggap signifikan apabila $p < 0,05$. Analisis data dilakukan dengan menggunakan SPSS For Mac versi 23.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh pemberian *Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell* (HUC-MSCs) Terhadap Kadar IL-6 dan PDGF (Studi Eksperimental In Vivo Tikus Model Stroke). Penelitian ini merupakan penelitian Eksperimental In Vivo yang dilakukan pada bulan Juli-Agustus 2025 bertempat di Laboratorium Stem Cell and Cancer Research (SCCR), Semarang. Subyek penelitian menggunakan tikus jantan galur Wistar sehat serta yang tervalidasi memiliki sindrom metabolik, dengan total 24 tikus yang dipilih sesuai dengan kriteria Federer. Pada penelitian ini tikus dibagi menjadi empat kelompok: K1 (tikus sehat), K2 (tikus stroke dengan perlakuan 300 uL NaCl), K3 (tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ /tikus), dan K4 (tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis 3×10^6 /tikus).

Stem Cell yang digunakan dalam penelitian ini (*Hypoxic Preconditioned Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell*) diperoleh melalui isolasi dari tali pusat (umbilical cord) tikus Wistar betina bunting dengan usia kehamilan 19 hari. Validasi MSC dilakukan dengan menggunakan teknik pewarnaan Oil Red O dan Alizarin Red untuk menilai kemampuan differensiasi adipogenik dan osteogenik. Validasi juga melibatkan penggunaan flow cytometry dan pengamatan mikroskop inverted untuk menganalisis surface marker dan morfologi sel. Setelah sel berhasil divalidasi, selanjutnya diinkubasi dalam inkubator dengan kondisi hypoxia 5% oksigen dan suhu 37°C.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Karakterisasi Mesenchymal Stem Cell

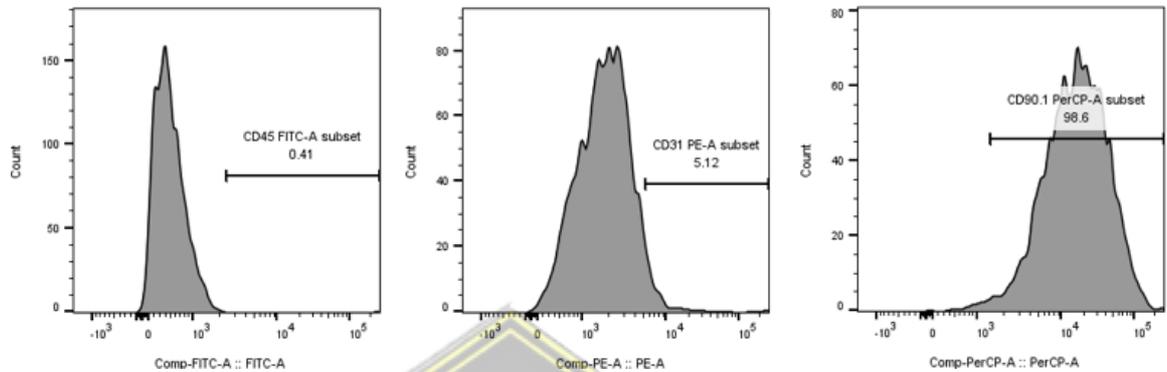
MSC diisolasi dari umbilical cord tikus Wistar betina bunting dengan usia kehamilan 19 hari dan dikultur hingga mencapai passage ke-5. Validasi kultur MSC dilakukan berdasarkan karakter morfologi, ekspresi surface marker dan kemampuan differensiasinya. Berdasarkan pengamatan mikroskop, morfologi sel kultur hasil isolasi memiliki bentuk lonjong, panjang, inti sel satu dan bulat, memiliki serat-serat yang menonjol yang menyerupai fibroblast dan melekat pada dasar flask plastik (plastic adherent) (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Karakter morfologi sel hasil Isolasi. Morfologi sel hasil Isolasi memiliki karakter seperti MSC yaitu berbentuk bulat lonjong inti sel satu dan bulat, memiliki serat-serat yang menonjol (fibroblas-like) dengan perbesaran mikroskop 100x (a) dan perbesaran 200x (b). Scale bar: 50 μ m.

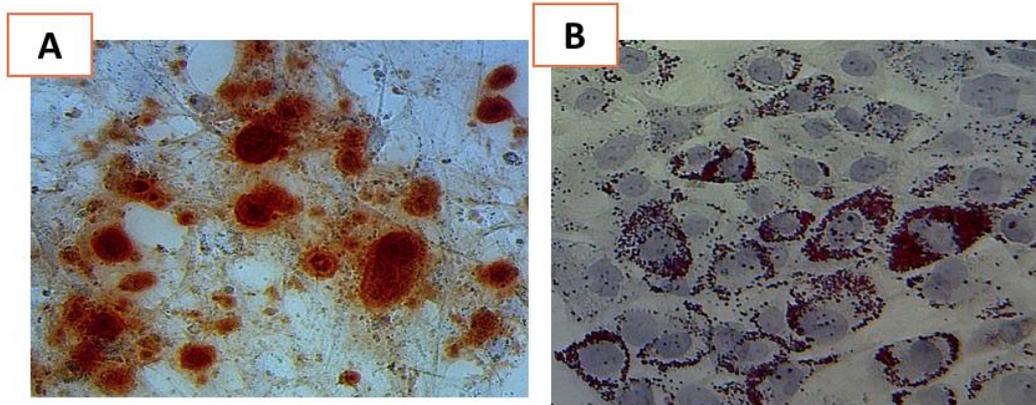
Ekspresi protein permukaan sel (surface marker) MSC dilakukan menggunakan flow cytometry dengan antibodi CD90.1, CD29, CD45 dan CD31. Hasil analisis mengindikasikan bahwa sel kultur hasil isolasi memiliki ekspresi CD90.1 yang tinggi yaitu 98,6%,

dan sedikit mengekspresikan CD45 0,41% serta CD31 5,12% (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil analisis flowcytometry sel hasil isolasi. Sel hasil Isolasi memiliki ekspresi CD90.1 yang tinggi serta ekspresi CD45 dan CD31 yang rendah.

Kemampuan MSC untuk berdiferensiasi menjadi osteosit dan adiposit ditunjukkan melalui pewarnaan *Alizarin Red S* dan pewarnaan *Oil Red O*. Pada pewarnaan *Alizarin Red S* untuk mendeteksi deposit kalsium pada kultur osteogenic, didapatkan hasil isolasi mampu berdiferensiasi menjadi osteosit (A). Sedangkan pewarnaan *Oil Red O* untuk mendeteksi tetesan lemak pada kultur adipogenik, didapatkan hasil isolasi mampu berdiferensiasi menjadi adiposity⁴² (B). Penampilan positif berupa noda kalsium merah cerah (osteogenesis) dan vesikel lipid berwarna merah (adipogenesis) mengonfirmasi kapabilitas multilineage MSC dalam struktur kultur (Gambar 5.3)



Gambar 5.3 Kemampuan differensiasi sel hasil isolasi. (A) Sel hasil Isolasi mampu berdiferensiasi menjadi osteocyte pada pengamatan pewarnaan Alizarin red pada pembesaran 100x dan (B) berdiferensiasi menjadi adipocyte pada pengamatan pewarnaan Oil Red O .

Berdasarkan karakter-karakter tersebut, sel kultur hasil isolasi dapat diindikasikan sebagai mesenchymal stem cell (MSC). MSC selanjutnya diinkubasi dalam kondisi hypoxia (konsentrasi O₂ sebesar 5%) selama 24 jam, menggunakan hypoxic chamber. MSC hasil pre-kondisi ini yang disebut hypoxia UC-MSC dan selanjutnya digunakan untuk treatment hewan uji.

5.1.1 Hasil Validasi Model Hewan Stroke Iskemik dengan

Pewarnaan TTC

Validasi model hewan untuk stroke iskemik dilakukan melalui prosedur oklusi arteri serebri media (*Middle Cerebral Artery Occlusion*) selama tiga jam, kemudian otak dianalisis dengan pewarnaan *2,3,5-triphenyltetrazolium chloride* (TTC). Pewarnaan ini memperlihatkan perbedaan kontras antara jaringan otak yang masih hidup dan area yang mengalami infark (Gambar 5.8). Pada kelompok

kontrol sehat, seluruh jaringan otak berwarna merah homogen, mencerminkan aktivitas enzim mitokondria yang normal dan jaringan yang tetap vital. Sebaliknya, pada kelompok dengan induksi MCAO tampak area putih pada hemisfer ipsilateral, menandakan adanya infark atau nekrosis akibat hilangnya fungsi metabolik sel sehingga tidak mampu mereduksi TTC menjadi formazan merah. Distribusi area infark konsisten dengan daerah suplai arteri serebri media, yang meliputi sebagian besar korteks lateral dan ganglia basal. Temuan ini menegaskan bahwa metode MCAO efektif menghasilkan kerusakan iskemik fokal yang stabil, sehingga model ini valid untuk meneliti mekanisme patofisiologi stroke maupun uji intervensi terapeutik.



Gambar 5.4 Hasil pewarnaan TTC pada kelompok sehat dan MCAO

5.1.2 Hasil Analisis Statistik Kadar IL-6

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IL-6 berbeda pada tiap kelompok perlakuan. Berdasarkan Tabel 5.1, kadar IL-6 pada kelompok kontrol sehat (K1) adalah $15,0 \pm 1,80$ pg/mL, sedangkan pada kelompok kontrol negatif (K2, tikus dengan stroke yang diberikan NaCl) terjadi peningkatan yang bermakna menjadi $22,5 \pm 1,51$ pg/mL. Hal ini konsisten dengan teori bahwa stroke iskemik memicu respons inflamasi yang ditandai oleh peningkatan sitokin proinflamasi, salah satunya IL-6. Peningkatan IL-6 berhubungan dengan aktivasi mikroglia, peningkatan permeabilitas sawar darah otak, serta perekrutan leukosit ke area iskemik yang pada akhirnya memperburuk kerusakan jaringan otak. Pada kelompok perlakuan dengan HUC-MSCs (K3 dan K4), kadar IL-6 menurun menjadi $18,84 \pm 1,73$ pg/mL dan $14,4 \pm 1,46$ pg/mL. Penurunan ini mengindikasikan bahwa pemberian HUC-MSCs mampu menekan proses inflamasi, yang sejalan dengan sifat imunomodulator MSCs yang dapat mengurangi pelepasan sitokin proinflamasi dan meningkatkan keseimbangan lingkungan mikro jaringan otak pasca stroke.

Tabel 5.1 Hasil Analisis Statistik Kadar IL-6 (pg/mL)

Parameter	Kelompok				Sig.
	K1	K2	K3	K4	
	Rerata± SD (n=5)	Rerata±S D (n=5)	Rerata±S D (n=5)	Rerata±SD (n=5)	
Kadar IL-6	15,0±1,8 0	22,5±1,51	18,84±1,7 3	14,4±1,46	
Uji <i>Shapiro Wilk</i>	0,803	0,803	0,797	0,077	
Uji <i>Lavene</i>					0,993
Uji <i>One Way ANOVA</i>					<0,001

Uji normalitas dengan Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa seluruh data kadar IL-6 pada masing-masing kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$), sedangkan hasil uji homogenitas dengan Levene's Test juga menunjukkan varians data antar kelompok adalah homogen ($p = 0,993$). Dengan demikian, analisis dapat dilanjutkan menggunakan uji parametrik One Way ANOVA. Hasil uji ANOVA (Tabel 5.3) menunjukkan $p < 0,001$ yang menandakan terdapat perbedaan bermakna kadar IL-6 antar kelompok perlakuan. Hal ini memperkuat temuan bahwa kondisi stroke iskemik maupun intervensi dengan hUC-MSCs memang memberikan pengaruh nyata terhadap kadar IL-6.

Hasil uji lanjut Post Hoc LSD (Tabel 5.4) memperlihatkan bahwa kelompok stroke (K2) memiliki kadar IL-6 yang jauh lebih tinggi dibanding kelompok sehat (K1) maupun kelompok terapi

HUC-MSCs (K3 dan K4) dengan $p < 0,001$, menegaskan peran IL-6 sebagai penanda inflamasi pasca stroke. Pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ sel/tikus (K3) mampu menurunkan kadar IL-6, namun nilainya masih berbeda signifikan dengan K1, sedangkan pemberian dosis 3×10^6 sel/tikus (K4) berhasil menurunkan kadar IL-6 hingga tidak berbeda bermakna dengan kelompok sehat ($p = 0,501$). Perbedaan signifikan antara K3 dan K4 ($p < 0,001$) juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis memberikan efek lebih kuat dalam menekan inflamasi, sehingga mendukung potensi HUC-MSCs dosis tinggi sebagai terapi stroke iskemik.

Tabel 5.2 Hasil Post-Hoc LSD Kadar IL-6

Parameter	Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.
Kadar IL-6	K1	K2*	<0,001
		K3*	<0,001
		K4	0,501
	K2	K3*	<0,001
		K4*	<0,001
		K4*	<0,001
K3	K4*	<0,001	

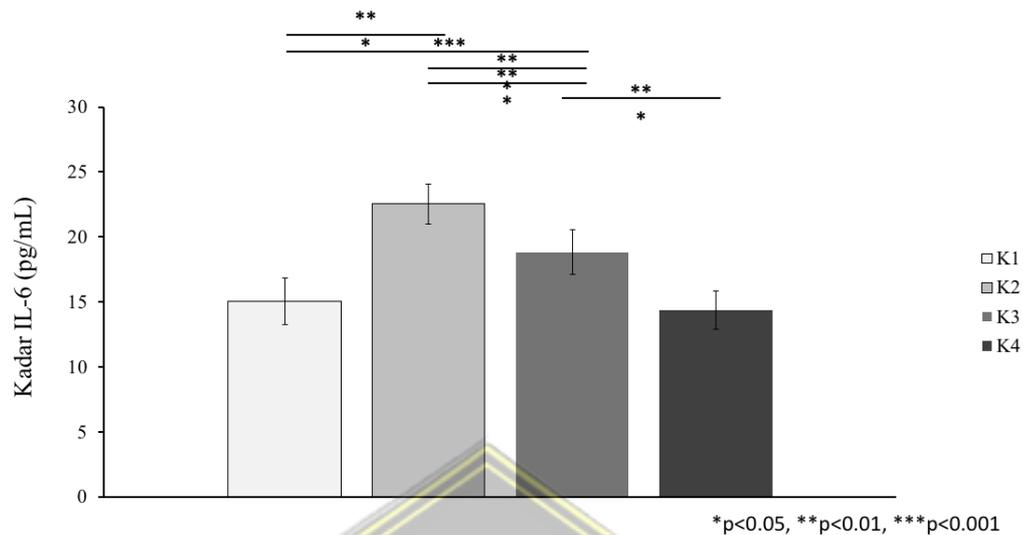
Keterangan : *) menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan. K1: tikus sehat, K2: tikus stroke dengan perlakuan 300 μ L NaCl, K3: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ /tikus, K4: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis 3×10^6 /tikus

IL-6 merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam proses inflamasi akut pada stroke iskemik. Peningkatan kadar IL-6 pasca stroke berkaitan dengan aktivasi NF- κ B dan pelepasan sitokin inflamasi lainnya, yang kemudian memperburuk kerusakan jaringan saraf melalui peningkatan permeabilitas sawar darah otak,

aktivasi mikroglia, dan infiltrasi leukosit. Oleh karena itu, kadar IL-6 dianalisis dalam penelitian ini untuk menilai sejauh mana terapi HUC- MSCs dapat menekan respon inflamasi pasca stroke iskemik.⁴³

Berdasarkan hasil analisis ELISA (Gambar 5.5) pada sampel jaringan otak, kadar IL-6 pada kelompok kontrol sehat (K1) adalah $15,0 \pm 1,80$ pg/mL. Induksi stroke pada kelompok K2 yang diberi 300 μ L NaCl meningkatkan kadar IL-6 secara signifikan menjadi $22,5 \pm 1,51$ pg/mL ($p < 0,001$), menunjukkan terjadinya respon inflamasi akibat iskemia. Pemberian HUC- MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ sel/tikus (K3) menurunkan kadar IL-6 menjadi $18,84 \pm 1,73$ pg/mL, walaupun penurunan ini belum signifikan dibanding K2 ($p = 0,501$). Penurunan lebih lanjut terjadi pada kelompok K4 yang mendapat HUC- MSCs dosis 3×10^6 sel/tikus, dengan kadar IL-6 sebesar $14,4 \pm 1,46$ pg/mL. Penurunan pada kelompok K4 berbeda signifikan dibanding K2 ($p < 0,001$) dan K3 ($p = 0,001$).

Temuan ini menunjukkan bahwa terapi HUC- MSCs efektif dalam menekan respon inflamasi di otak pasca stroke iskemik, terutama pada dosis tinggi. Efek penurunan kadar IL-6 kemungkinan berkaitan dengan mekanisme imunomodulator HUC- MSCs melalui sekresi sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β , serta penghambatan jalur NF- κ B yang berperan dalam regulasi ekspresi IL-6.



Gambar 5.5 Kadar protein IL-6 pada jaringan otak tikus stroke iskemik pada semua kelompok Keterangan: *) menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan. K1: tikus sehat, K2: tikus stroke dengan perlakuan 300 uL NaCl, K3: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ /tikus, K4: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis 3×10^6 tikus.

5.1.3 Hasil Analisis Statistik Kadar PDGF

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar PDGF rata-rata pada kelompok kontrol sehat (K1) adalah $225,0 \pm 1,30$ pg/mL, kelompok kontrol negatif (K2) sebesar $224,9 \pm 0,29$ pg/mL, kelompok perlakuan dengan pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ sel (K3) sebesar $226,3 \pm 0,87$ pg/mL, dan kelompok perlakuan dengan pemberian HUC-MSCs dosis 3×10^6 sel (K4) sebesar $228,0 \pm 0,60$ pg/mL sebagaimana ditunjukkan pada tabel 5.6. Nilai tersebut menggambarkan bahwa kadar PDGF pada kelompok perlakuan cenderung meningkat dibandingkan kelompok kontrol, dengan peningkatan terbesar ditemukan pada kelompok K4 yang

mendapatkan dosis HUC-MSCs lebih tinggi. Temuan ini memperlihatkan adanya kecenderungan efek dosis, di mana semakin tinggi jumlah sel yang diberikan, semakin tinggi pula kadar PDGF yang terdeteksi.

Tabel 5.3 Hasil Analisis Statistik Kadar PDGF (pg/mL)

Parameter	Kelompok				Sig.
	K1	K2	K3	K4	
	Rerata± SD (n=5)	Rerata±S D (n=5)	Rerata±S D (n=5)	Rerata±SD (n=5)	
Kadar PDGF	225,0±1, 30	224,9±0,2 9	226,3±0,8 7	228,0±0,6 0	
Uji <i>Shaphiro Wilk</i>	0,581	0,157	0,562	0,668	
Uji <i>Lavene</i>					0,024
Uji <i>One Way ANOVA</i>					<0,001

Uji normalitas dengan Shapiro-Wilk (Tabel 5.7) menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data yang normal ($p > 0,05$ pada uji Shapiro-Wilk), namun uji homogenitas varians dengan Levene test menunjukkan nilai signifikansi 0,024 ($p < 0,05$). Hal ini menandakan bahwa data berasal dari distribusi normal tetapi varians antar kelompok tidak homogen. Meskipun demikian, analisis perbedaan antar kelompok tetap dapat dilanjutkan menggunakan uji *One Way Anova* satu arah, dengan hasil post-hoc sebagai pembanding yang lebih spesifik. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* pada tabel 5.8, diperoleh nilai signifikansi $< 0,001$, yang berarti terdapat

perbedaan bermakna kadar PDGF antar kelompok. Hal ini mengindikasikan bahwa pemberian HUC-MSCs berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar PDGF pada tikus model stroke iskemik. Dengan demikian, hipotesis penelitian yang menyatakan bahwa HUC-MSCs dapat meningkatkan kadar PDGF terbukti secara statistik.

Hasil uji lanjut Post Hoc LSD (Tabel 5.9) menunjukkan bahwa perbedaan bermakna terjadi terutama antara kelompok kontrol negatif (K2) dengan kelompok perlakuan, yaitu K3 ($p=0,049$) dan K4 ($p<0,001$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian HUC-MSCs baik dengan dosis $1,5 \times 10^6$ maupun 3×10^6 sel mampu meningkatkan kadar PDGF secara signifikan dibandingkan tikus yang mengalami stroke tanpa terapi. Selain itu, terdapat perbedaan bermakna antara K3 dan K4 ($p=0,025$), yang menegaskan adanya efek dosis terhadap peningkatan kadar PDGF. Sementara itu, tidak terdapat perbedaan bermakna antara K1 (kontrol sehat) dengan kelompok perlakuan, yang menunjukkan bahwa kadar PDGF pada tikus dengan terapi HUC-MSCs cenderung mendekati kadar normal sebagaimana kelompok sehat.

Tabel 5.4 Hasil Post-Hoc LSD Kadar PDGF

Parameter	Kelompok	Kelompok Perbandingan	Sig.
Kadar PDGF	K1	K2	1,000
		K3	0,377
		K4*	0,009
	K2	K3*	0,049
		K4*	<0,001
		K4*	0,025

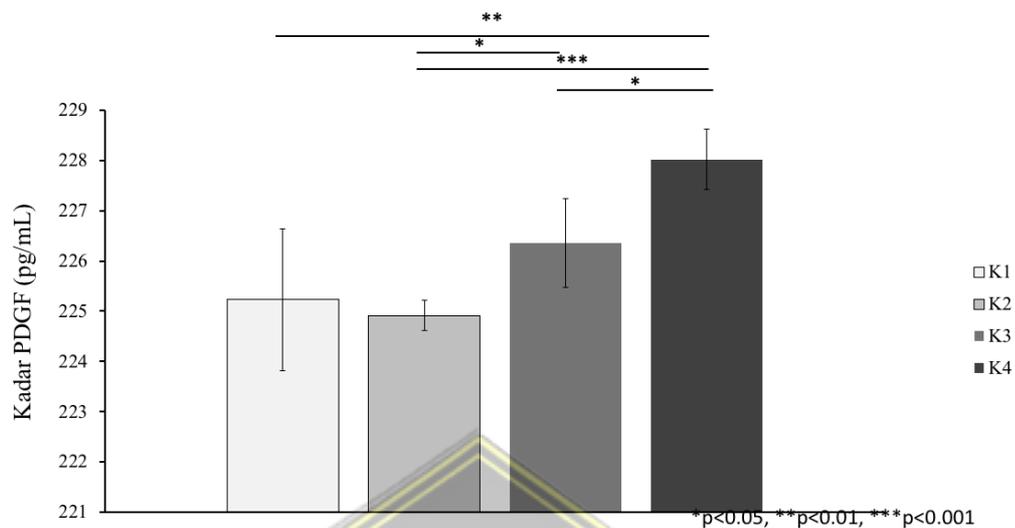
Keterangan : *) menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan. K1: tikus sehat, K2: tikus stroke dengan perlakuan 300 uL NaCl, K3: tikus stroke dengan pemberian HUC-*MSCs* dosis $1,5 \times 10^6$ /tikus, K4: tikus stroke dengan pemberian HUC-*MSCs* dosis 3×10^6 /tikus

PDGF merupakan faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam angiogenesis dan perbaikan jaringan pasca stroke iskemik. Peningkatan kadar PDGF diketahui dapat merangsang proliferasi dan migrasi sel endotel, menjaga fungsi perisit, serta meningkatkan remodeling vaskular sehingga perfusi otak dapat dipulihkan. Oleh karena itu, kadar PDGF dianalisis dalam penelitian ini untuk menilai sejauh mana pemberian HUC-*MSCs* yang telah dipre-kondisi hipoksia mampu memengaruhi respon angiogenik pada otak pasca stroke iskemik.

Berdasarkan hasil analisis ELISA (Gambar 5.10), kadar PDGF pada kelompok kontrol sehat (K1) tercatat sebesar $225,0 \pm 1,30$ pg/mL. Induksi stroke pada kelompok kontrol negatif (K2) menghasilkan kadar PDGF sebesar $224,9 \pm 0,29$ pg/mL, yang relatif tidak berbeda dibandingkan K1, menandakan bahwa kondisi iskemia akut tanpa terapi tidak mampu meningkatkan kadar PDGF secara

bermakna. Pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ sel/tikus (K3) meningkatkan kadar PDGF menjadi $226,3 \pm 0,87$ pg/mL, namun peningkatan ini belum signifikan dibandingkan K2 ($p = 0,377$). Peningkatan lebih lanjut terjadi pada kelompok perlakuan dosis 3×10^6 sel/tikus (K4) dengan kadar PDGF sebesar $228,0 \pm 0,60$ pg/mL, yang berbeda signifikan dibandingkan K2 ($p < 0,001$) dan juga berbeda dengan K3 ($p = 0,025$).

Temuan ini menunjukkan bahwa terapi HUC-MSCs, terutama pada dosis tinggi, efektif dalam meningkatkan kadar PDGF pada otak pasca stroke iskemik. Efek peningkatan ini kemungkinan besar berkaitan dengan mekanisme parakrin HUC-MSCs yang telah dipre-kondisi hipoksia, dimana sel-sel ini lebih aktif mensekresikan faktor pertumbuhan angiogenik, termasuk PDGF. Peningkatan kadar PDGF diharapkan dapat memperbaiki perfusi jaringan melalui stimulasi angiogenesis, memperkuat integritas sawar darah otak, serta mempercepat pemulihan fungsi neurologis setelah stroke.⁴⁴



Gambar 5.6 Kadar protein PDGF pada jaringan otak tikus stroke iskemik pada semua kelompok. Keterangan: *) menunjukkan kelompok yang berbeda signifikan. K1: tikus sehat, K2: tikus stroke dengan perlakuan 300 uL NaCl, K3: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis $1,5 \times 10^6$ /tikus, K4: tikus stroke dengan pemberian HUC-MSCs dosis 3×10^6 /tikus.

5.2 Pembahasan

IL-6 merupakan salah satu sitokin proinflamasi utama yang berperan penting pada fase akut stroke iskemik. Peningkatan kadar IL-6 terjadi sebagai respon terhadap iskemia melalui aktivasi mikroglia, astrosit, dan sel endotel. Sitokin ini diketahui memperburuk kerusakan jaringan saraf dengan meningkatkan permeabilitas sawar darah otak (BBB), menginduksi infiltrasi leukosit, serta mengaktifkan jalur proapoptotik neuron. Selain itu, IL-6 juga berperan dalam memicu aktivasi jalur NF- κ B yang mengatur transkripsi berbagai mediator inflamasi lain sehingga memperkuat lingkaran inflamasi pasca stroke.^{45,46}

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar IL-6 meningkat signifikan pada kelompok yang mengalami stroke iskemik tanpa terapi dibandingkan kelompok sehat, yang mengindikasikan terjadinya respon inflamasi akut. Pemberian HUC-MSCs menurunkan kadar IL-6, dengan penurunan paling nyata pada dosis tinggi. Temuan ini konsisten dengan penelitian yang menunjukkan bahwa MSC memiliki kemampuan imunomodulator melalui sekresi sitokin antiinflamasi (IL-10, TGF- β , PGE₂) dan eksosom yang membawa miRNA (miR-146a, miR-124) untuk menekan aktivasi jalur NF- κ B.^{45,47}

Pada jaringan otak, rerata \pm SD kadar IL-6 (pg/mL) adalah K1 = 15,0 \pm 1,80, K2 = 22,5 \pm 1,51, K3 = 18,84 \pm 1,73, dan K4 = 14,4 \pm 1,46. Uji Shapiro-Wilk menunjukkan semua kelompok berdistribusi normal (K1 p=0,803; K2 p=0,803; K3 p=0,797; K4 p=0,077) dan uji Levene homogen (p=0,993). One-Way ANOVA bermakna (p < 0,001). Uji post-hoc LSD menegaskan K1 vs K2 (p < 0,001) dan K1 vs K3 (p < 0,001) berbeda bermakna, sedangkan K1 vs K4 tidak bermakna (p = 0,501). K2 lebih tinggi daripada K3 (p < 0,001) dan K4 (p < 0,001), serta K3 lebih tinggi daripada K4 (p < 0,001). Secara biologis, induksi stroke menaikkan IL-6, terapi HUC-MSCs 1,5 \times 10⁶ menurunkannya sebagian, dan dosis 3 \times 10⁶ menormalkan IL-6 hingga setara kontrol sehat.

Secara biologis, modulasi IL-6 oleh MSC berimplikasi pada perbaikan lingkungan mikro otak. Penekanan respon inflamasi akan mengurangi kerusakan neuron, menjaga integritas BBB, serta meningkatkan peluang

perbaiki jaringan melalui neurogenesis dan angiogenesis.⁴⁶ Dengan demikian, penurunan kadar IL-6 pada penelitian ini menunjukkan efektivitas terapi HUC-MSCs dalam mengurangi dampak inflamasi stroke iskemik.

PDGF adalah faktor pertumbuhan angiogenik yang berperan penting dalam stimulasi proliferasi sel endotel, diferensiasi perisit, dan remodeling vaskular. Aktivasi reseptor PDGFR- β berkontribusi pada stabilitas pembuluh darah, menjaga integritas sawar darah otak, serta mendukung neurorepair pasca stroke. Pada kondisi normal, PDGF berfungsi mempertahankan fungsi vaskular, namun pada stroke iskemik akut, kadarnya sering kali menurun sehingga menghambat proses pemulihan.^{46,48}

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kadar PDGF meningkat pada kelompok yang mendapat terapi HUC-MSCs dibandingkan kelompok stroke tanpa terapi, dengan peningkatan paling tinggi pada dosis besar. Hal ini konsisten dengan bukti bahwa MSC yang dipre-kondisi hipoksia mampu meningkatkan sekresi faktor angiogenik, termasuk PDGF, melalui aktivasi HIF-1 α . Penelitian Ridawati et al. juga melaporkan peningkatan kadar PDGF setelah pemberian MSC yang berhubungan dengan percepatan proses penyembuhan jaringan.^{46,48}

Pada analisis kadar PDGF, kelompok kontrol sehat (K1) menunjukkan kadar $225,0 \pm 1,3$ pg/mL. Induksi stroke pada kelompok K2 menurunkan kadar PDGF menjadi $224,9 \pm 0,29$ pg/mL, yang menunjukkan terhambatnya proses angiogenesis pasca stroke. Terapi HUC-MSCs pada dosis $1,5 \times 10^6$ sel/tikus (K3) meningkatkan kadar PDGF menjadi $226,3 \pm 0,87$ pg/mL,

meskipun belum berbeda signifikan dengan K2. Namun, pada dosis 3×10^6 sel/tikus (K4), kadar PDGF meningkat lebih tinggi hingga $228,0 \pm 0,60$ pg/mL, yang berbeda signifikan dibanding K2 ($p < 0,01$) maupun K3 ($p < 0,05$). Temuan ini mendukung hipotesis bahwa pemberian HUC-MSCs, khususnya pada dosis besar, mampu merangsang angiogenesis dan mempercepat pemulihan jaringan otak melalui peningkatan kadar PDGF.

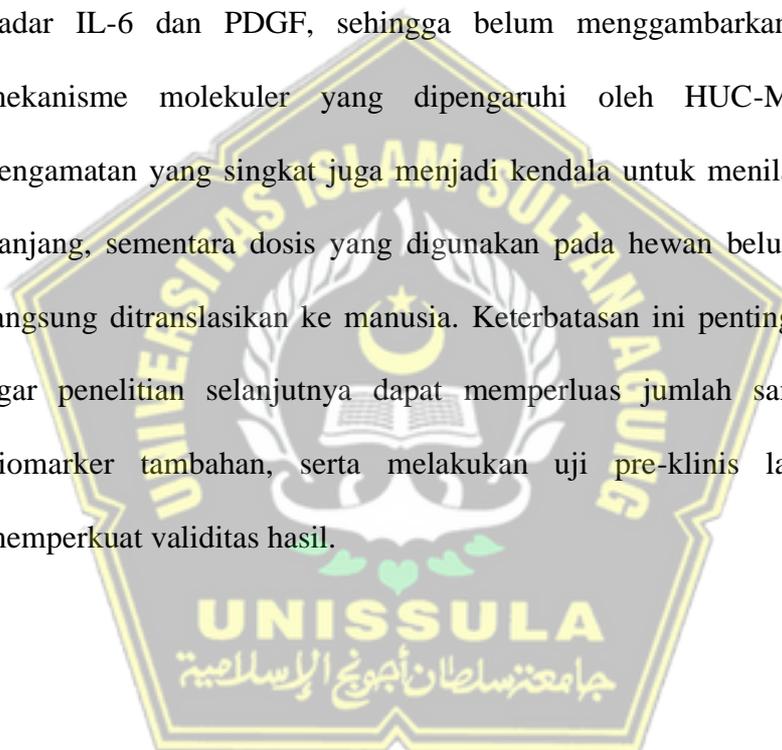
Mekanisme peningkatan PDGF oleh MSC mencakup pelepasan eksosom dan vesikel ekstraseluler yang membawa faktor proangiogenik, serta stimulasi diferensiasi MSC ke arah sel progenitor endotel.⁴⁶ Dengan meningkatnya PDGF, angiogenesis di area peri-infarct dapat berjalan lebih baik, perfusi jaringan otak dipulihkan, dan regenerasi saraf lebih optimal.

Secara keseluruhan, penelitian ini menunjukkan bahwa HUC-MSCs bekerja melalui dua mekanisme utama: menekan inflamasi dengan menurunkan kadar IL-6, dan mendukung perbaikan vaskular dengan meningkatkan kadar PDGF. Penurunan IL-6 berkontribusi pada pengurangan kerusakan jaringan akibat inflamasi berlebihan, sementara peningkatan PDGF memperkuat proses angiogenesis yang sangat dibutuhkan untuk pemulihan perfusi otak.

Kombinasi efek imunomodulator dan proangiogenik inilah yang menjadikan MSC sebagai kandidat potensial dalam terapi stroke iskemik. Zhu et al. (2024) menegaskan bahwa MSC mampu memperbaiki area iskemik dengan cara menurunkan apoptosis neuron, meningkatkan angiogenesis, dan memperkuat BBB.⁴⁶ Dengan demikian, hasil penelitian ini memperkuat

hipotesis bahwa HUC-MSCs berpotensi besar dalam memberikan manfaat ganda pada terapi stroke, yaitu proteksi saraf melalui modulasi inflamasi dan regenerasi vaskular melalui peningkatan PDGF.

Penelitian ini memiliki keterbatasan yang perlu dicatat. Jumlah sampel hewan uji relatif kecil sehingga mungkin belum sepenuhnya mencerminkan variabilitas biologis. Selain itu, parameter yang diukur hanya terbatas pada kadar IL-6 dan PDGF, sehingga belum menggambarkan keseluruhan mekanisme molekuler yang dipengaruhi oleh HUC-MSCs. Waktu pengamatan yang singkat juga menjadi kendala untuk menilai efek jangka panjang, sementara dosis yang digunakan pada hewan belum tentu dapat langsung ditranslasikan ke manusia. Keterbatasan ini penting diperhatikan agar penelitian selanjutnya dapat memperluas jumlah sampel, menilai biomarker tambahan, serta melakukan uji pre-klinis lanjutan untuk memperkuat validitas hasil.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian *hypoxic preconditioned umbilical cord mesenchymal stem cell* (HUC-MSCs) berpengaruh terhadap penurunan kadar IL-6 dibanding kelompok kontrol.
2. Pemberian *hypoxic preconditioned umbilical cord mesenchymal stem cell* (HUC-MSCs) berpengaruh terhadap peningkatan kadar PDGF dibanding kelompok kontrol.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan pemeriksaan lebih mendalam terkait jalur molekuler inflamasi pasca pemberian HUC-MSCs, misalnya analisis ekspresi NF- κ B, IL-1 β , TNF- α , serta marker mikroglia M1/M2 untuk mengonfirmasi mekanisme penurunan IL-6.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengevaluasi jalur angiogenesis yang dipengaruhi oleh HUC-MSCs, termasuk ekspresi VEGF, PDGFR- β , CD31, dan faktor transkripsi HIF-1 α , dengan metode imunohistokimia (IHC), qPCR, atau Western blot.
3. Penelitian selanjutnya disarankan mengevaluasi efek kombinasi antara imunomodulasi (penurunan IL-6) dan angiogenesis (peningkatan PDGF) terhadap perbaikan fungsi neurologis secara fungsional,

misalnya dengan *behavioral test* atau pencitraan MRI untuk melihat pemulihan jaringan otak.



DAFTAR PUSTAKA

1. Maida CD, Norrito RL, Rizzica S, Mazzola M, Scarantino ER, Tuttolomondo A. Molecular Pathogenesis of Ischemic and Hemorrhagic Strokes: Background and Therapeutic Approaches. Vol. 25, International Journal of Molecular Sciences. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
2. Aref HMA, Fahmy NA, Khalil SH, Ahmed MF, ElSadek A, Abdulghani MO. Role of interleukin-6 in ischemic stroke outcome. Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery. 2020 Dec 1;56(1).
3. Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and treatment of stroke: Present status and future perspectives. Vol. 21, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2020. p. 1–24.
4. Pu L, Wang L, Zhang R, Zhao T, Jiang Y, Han L. Projected Global Trends in Ischemic Stroke Incidence, Deaths and Disability-Adjusted Life Years From 2020 to 2030. Stroke [Internet]. 2023 May 1;54(5):1330–9. Available from: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.122.040073>
5. Poliwoda S, Noor N, Downs E, Schaaf A, Cantwell A, Ganti L, et al. Stem cells: a comprehensive review of origins and emerging clinical roles in medical practice. Orthop Rev (Pavia). 2022;14(3).
6. Pastorello Y, Slevin M. Mesenchymal stem cell stroke therapy: current limitations in its clinical translation. Exploration of Neuroscience. 2023 Jun 28;98–105.
7. Aderinto N, Olatunji G, Kokori E, Babalola AE, Yusuf IA, Apampa OO, et al. Stem cell therapies in stroke rehabilitation: a narrative review of current strategies and future prospects. Vol. 60, Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2024.
8. Liu J, He J, Ge L, Xiao H, Huang Y, Zeng L, et al. Hypoxic preconditioning rejuvenates mesenchymal stem cells and enhances neuroprotection following intracerebral hemorrhage via the miR-326-mediated autophagy. Stem Cell Res Ther. 2021 Dec 1;12(1).
9. Ye YC, Chang ZH, Wang P, Wang YW, Liang J, Chen C, et al. Infarct-preconditioning exosomes of umbilical cord mesenchymal stem cells promoted vascular remodeling and neurological recovery after stroke in rats. Stem Cell Res Ther. 2022 Dec 1;13(1).
10. Liu Y, Zhao Y, Min Y, Guo K, Chen Y, Huang Z, et al. Effects and Mechanisms of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation for Treatment of Ischemic Stroke in Hypertensive Rats. Int J Stem Cells. 2022 May 1;15(2):217–26.
11. Silvana S, Japardi I, Rusda M, Savitri Daulay R, Putra A, Mangunatmadja I, et al. Mesenchymal Stem Cell Secretome for Ischemic Stroke: CD31 and VEGF Expression. Baghdad Science Journal [Internet]. 2024 Nov 19; Available from: <https://bsj.uobaghdad.edu.iq/index.php/BSJ/article/view/11813>

12. Grebenciucova E, VanHaerents S. Interleukin 6: at the interface of human health and disease. Vol. 14, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA; 2023.
13. Aref HMA, Fahmy NA, Khalil SH, Ahmed MF, ElSadek A, Abdulghani MO. Role of interleukin-6 in ischemic stroke outcome. *Egyptian Journal of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2020 Dec 1;56(1).
14. Huang X, Zhang M, Wang J, Hu F. Association between interleukin-6 levels and stroke: a systematic review and meta-analysis. Vol. 52, *Journal of International Medical Research*. SAGE Publications Ltd; 2024.
15. Li D, Huang LT, Zhang CP, Li Q, Wang JH. Insights Into the Role of Platelet-Derived Growth Factors: Implications for Parkinson's Disease Pathogenesis and Treatment. Vol. 14, *Frontiers in Aging Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2022.
16. Bernard M, Menet R, Lecordier S, ElAli A. Endothelial PDGF-D contributes to neurovascular protection after ischemic stroke by rescuing pericyte functions. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2024 Dec 1;81(1).
17. Bernard M, Menet R, Lecordier S, ElAli A. PDGF-D is de novo expressed after stroke and contributes to neurovascular protection by rescuing the function of pericytes [Internet]. 2023. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-3059240/v1>
18. Tadi P LF. *Acute Stroke*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. 2024 Jan;1–2.
19. Carolina Capirossi, Antonio Laiso, Leonardo Renieri, Francesco Capasso, Nicola Limbucci. Epidemiology, organization, diagnosis and treatment of acute ischemic stroke. *Eur J Radiol Open*. 2023;11:1–5.
20. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MSV. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. Vol. 120, *Circulation Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2017. p. 472–95.
21. Andersson J, Rejnö Å, Jakobsson S, Hansson PO, Nielsen SJ, Björck L. Symptoms at stroke onset as described by patients: a qualitative study. *BMC Neurol*. 2024 Dec 1;24(1).
22. Majumder D. *Ischemic Stroke: Pathophysiology and Evolving Treatment Approaches*. Vol. 19, *Neuroscience Insights*. SAGE Publications Ltd; 2024.
23. Patil S, Rossi R, Jabra D, Doyle K. Detection, Diagnosis and Treatment of Acute Ischemic Stroke: Current and Future Perspectives. Vol. 4, *Frontiers in Medical Technology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
24. Rodríguez-Fuentes DE, Fernández-Garza LE, Samia-Meza JA, Barrera-Barrera SA, Caplan AI, Barrera-Saldaña HA. Mesenchymal Stem Cells Current Clinical Applications: A Systematic Review. *Arch Med Res*. 2021 Jan 1;52(1):93–101.
25. Liu P, An Y, Zhu T, Tang S, Huang X, Li S, et al. Mesenchymal stem cells: Emerging concepts and recent advances in their roles in organismal homeostasis and therapy. Vol. 13, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2023.
26. Zhou L, Zhu H, Bai X, Huang J, Chen Y, Wen J, et al. Potential mechanisms and therapeutic targets of mesenchymal stem cell transplantation for

- ischemic stroke. Vol. 13, *Stem Cell Research and Therapy*. BioMed Central Ltd; 2022.
27. Zhu P, Tan H, Gao H, Wang J, Liu Y, Yang D, et al. Potential Mechanism and Perspectives of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Ischemic Stroke: A Review. *Glob Med Genet*. 2024 Dec;11(04):278–84.
 28. Pulido-Escribano V, Torrecillas-Baena B, Camacho-Cardenosa M, Dorado G, Gálvez-Moreno MÁ, Casado-Díaz A. Role of hypoxia preconditioning in therapeutic potential of mesenchymal stem-cell-derived extracellular vesicles. *World J Stem Cells*. 2022;14(7):453–72.
 29. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. Vol. 28, *Tissue Engineering - Part B: Reviews*. Mary Ann Liebert Inc.; 2022. p. 966–77.
 30. Papadopoulos A, Palaiopanos K, Björkbacka H, Peters A, de Lemos JA, Seshadri S, et al. Circulating interleukin-6 levels and incident ischemic stroke. *Neurology*. 2022 Mar 8;98(10):E1002–12.
 31. Georgakis MK, Malik R, Gill D, Franceschini N, Sudlow CLM, Dichgans M. Interleukin-6 Signaling Effects on Ischemic Stroke and Other Cardiovascular Outcomes: A Mendelian Randomization Study. *Circ Genom Precis Med*. 2020 Jun 1;13(3):E002872.
 32. Amalia L, Parwati I, Rizal A, Panigoro R, Gamayani U, Rasyid A, et al. Hypoxia Inducible Factor (HIF) 1-A dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada Stroke Iskemik Fase Akut. 2019.
 33. Tian H, Yang X, Zhao J, Liu X, Liu X, Cai Y, et al. Hypoxia-Preconditioned Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Improved Cerebral Collateral Circulation and Stroke Outcome in Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2023 Jul 1;43(7):1281–94.
 34. Mariman JJ, Lorca E, Biancardi C, Burgos P, Álvarez-Ruf J. Brain's Energy After Stroke: From a Cellular Perspective Toward Behavior. *Front Integr Neurosci*. 2022 May 16;16.
 35. Qin C, Yang S, Chu YH, Zhang H, Pang XW, Chen L, et al. Signaling pathways involved in ischemic stroke: molecular mechanisms and therapeutic interventions. Vol. 7, *Signal Transduction and Targeted Therapy*. Springer Nature; 2022.
 36. Cheon SY, Kim EJ, Kim JM, Koo BN. Cell type-specific mechanisms in the pathogenesis of ischemic stroke: The role of apoptosis signal-regulating kinase 1. Vol. 2018, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Hindawi Limited; 2018.
 37. Shen Z, Tang X, Zhang Y, Jia Y, Guo X, Guo X, et al. Efficacy and safety of mesenchymal stem cell therapies for ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis. *Stem Cells Transl Med*. 2024 Sep 1;13(9):886–97.
 38. Jingli Y, Jing W, Saeed Y. Ischemic Brain Stroke and Mesenchymal Stem Cells: An Overview of Molecular Mechanisms and Therapeutic Potential. Vol. 2022, *Stem Cells International*. Hindawi Limited; 2022.
 39. Moñivas Gallego E, Zurita Castillo M. Mesenchymal stem cell therapy in ischemic stroke trials. A systematic review. Vol. 27, *Regenerative Therapy*. Japanese Society of Regenerative Medicine; 2024. p. 301–6.

40. Wang LT, Liu KJ, Sytwu HK, Yen ML, Yen BL. Advances in mesenchymal stem cell therapy for immune and inflammatory diseases: Use of cell-free products and human pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells. Vol. 10, *Stem Cells Translational Medicine*. John Wiley and Sons Ltd; 2021. p. 1288–303.
41. Li W, Shi L, Hu B, Hong Y, Zhang H, Li X, et al. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Stroke: Current Understanding and Challenges. Vol. 15, *Frontiers in Cellular Neuroscience*. Frontiers Media S.A.; 2021.
42. Yang L, Li Q, Zhang J, Li P, An P, Wang C, et al. Wnt7a promotes the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Int J Mol Med*. 2021 Jun 1;47(6).
43. Lockard GM, Alayli A, Monsour M, Gordon J, Schimmel S, Elsayed B, et al. Probing Interleukin-6 in Stroke Pathology and Neural Stem Cell Transplantation. Vol. 23, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2022.
44. Guo T, Pei F, Zhang M, Yamada T, Feng J, Jing J, et al. Vascular architecture regulates mesenchymal stromal cell heterogeneity via P53-PDGF signaling in the mouse incisor. *Cell Stem Cell*. 2024 Jun 6;31(6):904-920.e6.
45. Kerkis I, Silva AP da, Araldi RP. The impact of interleukin-6 (IL-6) and mesenchymal stem cell-derived IL-6 on neurological conditions. Vol. 15, *Frontiers in Immunology*. Frontiers Media SA; 2024.
46. Zhang Y, Dong N, Hong H, Qi J, Zhang S, Wang J. Mesenchymal Stem Cells: Therapeutic Mechanisms for Stroke. Vol. 23, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI; 2022.
47. Zhu P, Tan H, Gao H, Wang J, Liu Y, Yang D, et al. Potential Mechanism and Perspectives of Mesenchymal Stem Cell Therapy for Ischemic Stroke: A Review. *Glob Med Genet*. 2024 Dec;11(04):278–84.
48. Ridawati E, Nasihun T. Stem Cell Mesenchymal Injection Increases Platelet-Derived Growth Factors Level and Percentage [Internet]. Vol. 7, Juli-Desember. 2016. Available from: <http://jurnal.unissula.ac.id/index.php/sainsmedika>