

**PENGARUH *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL
STEM CELLS (EH-MSCs)* TERHADAP EKSPRESI
INTERLEUKIN-10 DAN *SUPPRESSOR OF CYTOKINE
SIGNALING 3***

**(Studi Eksperimental *In Vivo* Tikus Wistar Model Diabetes Melitus
Tipe 2)**

TESIS

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

**Siti Sundari
MBK2423010472**

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

TESIS
**PENGARUH EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL
STEM CELLS (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI
INTERLEUKIN-10 DAN SUPPRESSOR OF CYTOKINE
SIGNALING 3**
**(Studi Eksperimental *In Vivo* Tikus Wistar Model Diabetes Melitus
Tipe 2)**

Disusun Oleh:

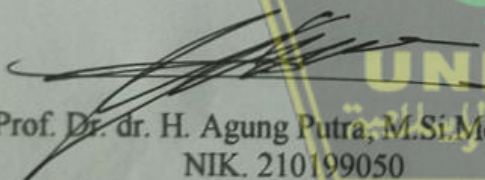
Siti Sundari
MBK.24.23.010472

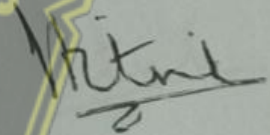
Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada
Tanggal 12 Agustus 2025
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui :

Pembimbing I,

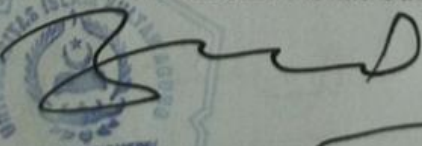
Pembimbing II,


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


Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes
NIK. 220198045

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung


Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS
NIK : 210113160

PERNYATAAN

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

Semarang, 12 Agustus 2025

Yang Menyatakan,


METERAI
TEMPEL
10000
25F12AMX192354444

(Siti Sundari)



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Siti Sundari
Tempat / tanggal lahir : Kabupaten Semarang, 10 Februari 1981
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

SD Negeri 2 Cukilan, Suruh : Lulus Tahun 1993
SLTP Negeri 2 Cukilan, Suruh : Lulus Tahun 1996
SMA Negeri 1 Salatiga : Lulus Tahun 1999
Akademi Keperawatan (AKPER) Widya
Husada, Semarang : Lulus Tahun 2002
Sarjana Keperawatan
di Universitas Sahid, Surakarta : Lulus Tahun 2009
Profesi Ners
di Universitas Widya Husada, Semarang : Lulus Tahun 2013
Magister Ilmu Biomedis FK Unissula : 2024 - Sekarang

C. Riwayat keluarga

Nama Suami : Paryadi, AMK
Nama Anak : Muhammad Fardhan Algibran

D. Riwayat Pekerjaan

Perawat di RS Sisma Medika Karanggede
Perawat di Puskesmas Suruh
Perawat di Puskesmas dadapayam
Perawat di DPP dr Srie ningsih

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Alhamdulillah, penulis ingin mengungkapkan rasa terima kasih kepada Allah SWT yang telah memberikan berkat dan arahan-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis ini sebagai bagian dari penyelesaian program magister pasca sarjana (S2). Shalawat dan salam selalu kami haturkan kepada Nabi Besar Muhammad SAW, yang selalu menjadi sumber motivasi bagi kami dalam memberikan kebaikan kepada orang lain :

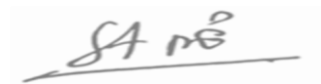
1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH.,M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan seluruh wakil rektor atas kesempatan untuk mengejar dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta selaku dosen penguji I.
4. Prof. Dr. dr. Agung Putra, Msi. Med, Pembimbing I, yang memberikan bimbingan dan masukan yang berharga selama penulisan tesis.
5. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes, Pembimbing II, yang memberikan bimbingan dan masukan yang berharga selama penulisan tesis.

6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo M.kes, Penguji II, yang banyak memberikan masukan dalam pelaksanaan penulisan tesis.
7. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes, Penguji III, yang telah memberikan banyak saran saran dalam penyelesaian tesis.
8. Staf Magister Ilmu Biomedik dan Staf *Stem Cell & Cancer Research* (SCCR) yang memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian di laboratorium.
9. Rekan-rekan sesama mahasiswa Program Studi Magister Biomedik FK UNISSULA atas dukungan, kebersamaan, dan bantuan selama pendidikan dan penelitian.
10. Ibu dan Bapak penulis yang memberikan dorongan dan doa sehingga tesis ini bisa diselesaikan.
11. Pasangan tercinta, yang penuh kesabaran, dukungan, dan bantuan selama pendidikan dan penelitian.
12. Putra Tercinta, atas doa dan dukungannya yang tak terhingga.
13. Semua pihak yang membantu dalam penyusunan proposal tesis, meskipun tidak dapat disebutkan

Penulis meminta maaf yang sebesar-besarnya apabila selama menjalani Pendidikan di Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan dalam penyusunan tesis ini terdapat kesalahan, baik yang disengaja maupun tidak disengaja. Penulis berharap bahwa meskipun ada kekurangan dalam penulisan tesis ini, tetap dapat memberikan manfaat bagi diri penulis, Program Pendidikan Magister Ilmu Biomedik, dan pihak-pihak lain yang berkepentingan. Akhir kata, semoga Allah

SWT terus memberikan berkah dan rahmat kepada kita semua. Amin Ya Rabbal
Alamin.

Semarang, 2025
Penulis,



Siti Sundari
MBK2423010472



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
PERNYATAAN	Error! Bookmark not defined.
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Originalitas Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Diabetes Mellitus Tipe 2	9
2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus Tipe 2	9
2.2.2 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2	10
2.2 Model Hewan Diabetes Mellitus Tipe 2	13
2.3 <i>Interleukin-10</i> (IL-10)	14
2.4 <i>Suppressor of Cytokine Signaling 3</i> (SOCS3)	15
2.5 <i>Mesenchymal Stem Cells</i>	16
2.5.1 Definisi <i>Mesenchymal Stem Cells</i>	16
2.5.2 Karakteristik <i>Mesenchymal Stem Cells</i>	17
2.5.3 Pengaruh Kondisi <i>Hypoxia</i> Terhadap Fungsi MSCs dan <i>Exosome</i> yang Dihasilkan	18

2.5.4	Peran <i>EH-MSCs</i> dalam Terapi Penyakit Diabetes mellitus tipe 2.....	20
2.6	Mekanisme IL-10 dan SOCS3 dalam Diabetes mellitus tipe 2	22
2.6.1	Mekanisme IL-10 dalam Diabetes mellitus tipe 2.....	22
2.6.2	Mekanisme SOCS3 dalam Diabetes mellitus tipe 2	23
2.7	Pengaruh <i>EH-MSCs</i> Terhadap Ekspresi IL-10 dan SOCS3	24
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....		27
3.1.	Kerangka Teori	27
3.2.	Kerangka Konsep.....	30
3.3.	Hipotesis	30
BAB IV METODE PENELITIAN.....		31
4.1.	Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	31
4.2	Populasi dan Sampel Penelitian.....	33
4.2.1.	Populasi Penelitian.....	33
4.2.2.	Sampel Penelitian	33
4.2.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian	34
4.2.4.	Kriteria Inklusi.....	35
4.2.5.	Kriteria Eksklusi	35
4.2.6.	Kriteria Drop Out.....	35
4.3	Variabel dan Definisi Operasional.....	36
4.3.1.	Variabel Bebas (Independen)	36
4.3.2.	Variabel Terikat (Dependen):.....	36
4.3.3.	Variabel Prakondisi.....	36
4.3.4.	Variabel Terkendali	36
4.3.5.	Definisi Operasional	36
4.4	Bahan Penelitian	37
4.5	Alat Penelitian.....	38
4.6	Prosedur Penelitian.....	39
4.6.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	39
4.6.2.	Induksi Diabetes Mellitus Tipe 2.....	39
4.6.3.	Uji Validasi <i>MSCs</i>	40

4.6.4. Isolasi <i>EH-MSCs</i>	41
4.6.5. Teknik Pengumpulan Sampel.....	42
4.6.6. Analisis Ekspresi IL-20 dan SOCS3.....	42
4.7 Analisis Data.....	43
4.8 Alur Penelitian	45
4.9 Jadwal Pelaksanaan Penelitian.....	46
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	47
5.1 Hasil Penelitian	47
5.1.1 Isolasi <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (EH-MSCs)</i>	47
5.1.2 Validasi Diabetes Melitus Tipe 2 pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2	49
5.1.3 Interpretasi Ekspresi <i>Interleukin-10 (IL-10)</i>	50
5.1.4 Interpretasi Ekspresi <i>Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3)</i>	52
5.2 Pembahasan Hasil Penelitian.....	54
5.3 Keterbatasan Penelitian	58
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	59
6.1 Kesimpulan.....	59
6.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	60
LAMPIRAN	70

DAFTAR SINGKATAN

Akt	: <i>Protein kinase B</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
EH-MSCs	: <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells</i>
EVs	: <i>Vesikel ekstrasellulers</i>
GAPDH	: <i>Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase</i>
Gel-H-Exos	: <i>Hypoxic exosomes-loaded HGM-QCS hydrogels</i>
HbA1c	: <i>Hemoglobin glikosilasi A1c</i>
HFD	: <i>High-Fat Diet</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia-1α</i>
<i>huc</i> -MSC-CM	: <i>Huc-MSC-conditioned medium</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
IDF	: <i>International Diabetes Federation</i>
IRS	: <i>Insulin Receptor Substrate</i>
JAK	: <i>Janus kinase</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinases</i>
miRNA	: <i>MicroRNA</i>
MSC-Exos	: <i>Mesenchymal stem cells-derived Exosomes</i>
MSCs	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
NTA	: <i>Nanoparticle Tracking Analysis</i>
PBS	: <i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PERKENI	: <i>Perkumpulan Endokrinologi Indonesia</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide 3-kinase</i>
qPCR	: <i>Quantitative Polymerase Chain Reaction</i>
Riskesdas	: <i>Riset Kesehatan Dasar</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOCS3	: <i>Suppressor of Cytokine Signaling 3</i>
STAT	: <i>Signal transducer and activator of transcription</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>

TEM	: <i>Transmission Electron Microscope</i>
TFF	: <i>Tangential Flow Filtration</i>
TLR	: <i>Toll-like receptor</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TTP	: <i>Tristetraprolin</i>
T2DM	: <i>Type 2 Diabetes Mellitus</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
SGLT2	: <i>Sodium-Glucose cotransporter-2</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	5
Tabel 5.1 Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homoeogenitas, dan Uji <i>One Way ANOVA</i> pada Ekspresi IL-10	50
Tabel 5.2 Perbedaan Ekspresi IL-10 antara kelompok penelitian	51
Tabel 5.3 Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homoeogenitas, dan Uji <i>One Way ANOVA</i> pada Ekspresi SOCS3	52
Tabel 5.4 Perbedaan Ekspresi SOCS3 antara kelompok penelitian.....	53



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Patogenesis T2DM yang melibat inflamasi kronis yang dimediasi oleh peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, IL-1, dan TNF- α serta sitokin anti-inflamasi IL-10 yang rendah sehingga terjadi resistensi insulin. ⁷³	23
Gambar 2.2 Inhibisi sinyal insulin oleh SOCS3 berinteraksi dengan protein IRS yang terfosforilasi tirosin yang menyebabkan degradasinya oleh proteasom. Efek yang dihasilkan adalah penurunan aktivasi IRS1/2-PI3K-PKB yang diinduksi insulin yang menyebabkan penurunan efek metabolik insulin. ⁷⁴	24
Gambar 3.1 Kerangka Teori	29
Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian.....	30
Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian	32
Gambar 4.2 Alur Penelitian	45
Gambar 5.1 Validasi MSCs (A) MSCs dengan gambaran <i>spindle-like cell</i> perbesaran 40x (B) Gambaran deposit kalsium (panah merah) pada diferensiasi osteosit terlihat sebagai warna merah dengan pewarnaan <i>Alizarin Red</i> perbesaran 40x (C) Gambaran droplet lemak (panah merah) sebagai warna merah di sekitar sel setelah pewarnaan <i>Oil Red O Dye</i> pada perbesaran 40x	48
Gambar 5.2 Validasi tikus Wistar model T2DM secara mikroskopik mengamati jaringan pankreas yang diwarnai dengan H&E menunjukkan yang tidak beraturan menunjukkan perubahan kepadatan dan morfologi sel yang mencerminkan kerusakan sel β pancreas	49
Gambar 5.3 Pola Peningkatan Ekspresi IL-10	52
Gambar 5.4 Pola Peningkatan Ekspresi SOCS3	54

ABSTRAK

Latar Belakang: *Type 2 Diabetes Mellitus* (T2DM) merupakan suatu kelompok gangguan metabolik yang melibatkan inflamasi kronis dan resistensi insulin dengan prevalensi yang terus meningkat setiap tahunnya. Secara molekuler, inflamasi kronis menyebabkan ekspresi berlebihan pada SOCS3 yang mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. EH-MSCs secara teoritis mampu mengurangi inflamasi dengan meningkatkan sitokin anti-inflamasi IL-10. Penelitian ini mempelajari pemahaman terkait mekanisme molekuler dan efektivitas klinis pengaruh EH-MSCs terhadap ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada T2DM.

Tujuan: Mengetahui pengaruh EH-MSCs terhadap ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada tikus wistar model diabetes melitus tipe 2 dibandingkan dengan kontrol.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Besar sampel 28 ekor tikus Wistar model T2DM yang terbagi dalam 4 kelompok (K1-K4). Kelompok kontrol negatif (K1) NaCl 0.9% 300µL iv, kelompok kontrol positif (K2) metformin 300 mg/kgBB PO, kelompok perlakuan 1 (K3) EH-MSCs 250µL iv, dan kelompok perlakuan 2 (K4) EH-MSCs 500µL iv. Ekspresi IL-10 dan SOCS3 diperiksa menggunakan qRT-PCR. Ekspresi IL-10 dan SOCS3 dianalisis dengan uji *Post Hoc LSD*.

Hasil: Rerata ekspresi SOCS3 terendah terdapat pada kelompok perlakuan EH-MSCs yaitu kelompok K3 (0.56 ± 0.11) dan K4 (0.73 ± 0.26). Hasil uji statistik *Post Hoc LSD* menunjukkan kelompok K1 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan EH-MSCs baik dosis 250 µL pada kelompok K3 dan dosis 500 µL pada kelompok K4 dengan nilai $p < 0,05$. Uji *Post Hoc LSD* ekspresi IL-10 menunjukkan kelompok K1 dan K2 memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok K3 yaitu kelompok perlakuan EH-MSCs dosis 250 µL dengan nilai $p < 0,05$.

Kesimpulan: Pemberian EH-MSCs dosis 250 µL berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan ekspresi SOCS3 dan peningkatan ekspresi IL-10 pada tikus model diabetes mellitus tipe 2.

Kata Kunci: EH-MSCs, Exosomes, Hypoxia, SOCS3, IL-10

ABSTRACT

Background: Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) is a group of metabolic disorders involving chronic inflammation and insulin resistance, with prevalence rates that continue to rise each year. At the molecular level, chronic inflammation causes increased expression of SOCS3, which in turn inhibits IL-10 expression. IL-10 is an anti-inflammatory cytokine that plays a role in suppressing inflammation by increasing anti-inflammatory cytokine expression. SOCS3 is a negative regulator of cytokine signaling, and its increased expression is associated with increased inflammation and decreased anti-inflammatory cytokine IL-10. This study aims to examine the molecular mechanisms and effectiveness of EH-MSCs in modulating inflammation by evaluating the effect of EH-MSCs on IL-10 and SOCS3 expression in T2DM.

Objective: To determine the effect of EH-MSCs on IL-10 and SOCS3 expression in T2DM model rats compared to controls.

Methods: This experimental in vivo study used a Post Test Only Control Group Design. Twenty-eight Wistar rats with T2DM were divided into 4 groups (K1-K4). The negative control group (K1) received NaCl 0.9% 300 μ L, the positive control group (K2) received metformin 300 mg/kgBW orally, treatment group 1 (K3) received EH-MSCs 250 μ L, and treatment group 2 (K4) received EH-MSCs 500 μ L. IL-10 and SOCS3 expression were analyzed using qRT-PCR. The data were analyzed using the Post Hoc LSD test.

Results: The highest mean IL-10 expression was found in the K3 group (0.56 ± 0.11) and K4 (0.73 ± 0.45). The Post Hoc LSD test showed that administration of EH-MSCs at a dose of 250 μ L significantly increased IL-10 expression compared to controls ($p < 0.05$). SOCS3 expression was highest in group K1, while the lowest was in group K3. The Post Hoc LSD test showed that administration of EH-MSCs at a dose of 250 μ L significantly reduced SOCS3 expression compared to controls ($p < 0.05$). Administration of EH-MSCs at a dose of 500 μ L did not show a significant difference compared to controls ($p > 0.05$).

Conclusion: Administration of EH-MSCs at a dose of 250 μ L had a significant effect on reducing SOCS3 expression and increasing IL-10 expression in T2DM model rats.

Keywords: EH-MSCs, Exosomes, Hypoxia, SOCS3, IL-10

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) merupakan suatu kelompok gangguan metabolik yang masih menjadi salah satu tantangan kesehatan di dunia dengan angka kejadian yang terus bertambah setiap tahunnya.^{1,2} Menurut pedoman Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI), diabetes dapat diberikan terapi konservatif sebagai contoh sulfonilurea, SGLT-2 inhibitor, dan insulin sesuai kebutuhan dan respons pasien.¹ Namun terapi tersebut belum dapat sepenuhnya mengatasi inflamasi kronis dan resistensi insulin pada T2DM.³ Secara molekuler, inflamasi kronis menyebabkan peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF- α) yang mencetuskan ekspresi berlebihan pada *Suppressor of Cytokine Signaling 3* (SOCS3).⁴ Ekspresi berlebihan pada SOCS3 mengakibatkan degradasi *Insulin Receptor Substrate* (IRS) yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin.⁴ Salah satu pendekatan inovatif saat ini adalah *exosome* dari *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) yang diteliti mampu mengurangi inflamasi dengan meningkatkan sitokin anti-inflamasi yaitu *Interleukin-10* (IL-10) serta menekan sitokin pro-inflamasi dan meningkatkan sensitivitas insulin.⁵

Berdasarkan data dari *International Diabetes Federation* (IDF), pada tahun 2021 terdapat 537 juta penderita diabetes di seluruh dunia, yang diproyeksikan meningkat menjadi 783 juta pada tahun 2045.⁶ Di Indonesia, data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) menunjukkan bahwa prevalensi

diabetes meningkat dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018.⁷ T2DM merupakan bentuk diabetes yang paling umum, mencakup 90–95% kasus.⁸ Perkembangannya terjadi akibat karena inflamasi kronis dan resistensi insulin yang dimediasi oleh sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1, IL-6 dan SOCS3.⁹ Apabila mekanisme ini tidak terkontrol maka progresivitas penyakit akan mencetuskan disfungsi dan kegagalan organ akhir yang dapat melibatkan retina, ginjal, saraf, jantung bahkan *alzheimer disease*.^{9,10} Kondisi tersebut menunjukkan beban signifikan yang dihadapi sistem kesehatan nasional, menuntut adanya solusi yang lebih inovatif dan efektif.

Patofisiologis T2DM melibatkan ekspresi SOCS3 yang berlebihan menjadikannya sebagai penghambat jalur sinyal insulin pada IRS melalui penurunan pengikatan p85 ke IRS-1 yang selanjutnya mengakibatkan penurunan aktivasi *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K)/protein kinase B (Akt) lalu berkontribusi pada resistensi insulin, terutama pada kondisi obesitas.^{4,11} Selain itu, Inflamasi kronis pada T2DM juga diakibatkan karena peran sitokin anti-inflamasi yaitu IL-10 yang kurang adekuat dalam meregulasi inflamasi menandakan ketidakseimbangan inflamasi.¹²

Pendekatan terapeutik menggunakan *Mesenchymal stem cells-derived Exosomes* telah menunjukkan hasil menjanjikan dalam memperbaiki jaringan melalui regulasi inflamasi dan meningkatkan fungsi sel beta pankreas.⁵ Pada penelitian sebelumnya *exosomes* yang diperoleh dari *bone marrow stromal cells* terbukti dapat menekan inflamasi melalui penurunan mikroglia M1

makrofag pro-inflamasi serta meningkatkan densitas akson dan selubung myelin pada kasus tikus T2DM yang terkena stroke.¹³ Penelitian lain juga menunjukkan *huc-MSC-conditioned medium (huc-MSC-CM)* dapat menekan stres oksidatif sehingga meningkatkan kelangsungan hidup sel islet.¹⁴ Hal ini membuktikan bahwa potensi terapeutik *MSC-Exos* pada penyakit metabolik seperti T2DM yang cukup tinggi terutama *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs)*. Pernyataan tersebut didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Cheng P, *et al* pada tahun 2023 tentang penggunaan *hypoxic exosomes-loaded HGM-QCS hydrogels (Gel-H-Exos)* yang dapat mempercepat penyembuhan luka pada ulkus diabetes melalui polarisasi makrofag M2 anti-inflamasi.¹⁵

EH-MSCs saat ini banyak dikembangkan karena kandungan *MicroRNA* (miRNAs) yang lebih tinggi sehingga terbukti mampu menekan peradangan kronis dan memperbaiki sensitivitas insulin lebih efektif serta dapat diterapkan untuk membangun pendekatan terapi *cell-free* baru untuk pengobatan T2DM.¹⁶ Namun hingga saat ini belum ada study tambahan yang meneliti pemahaman mengenai mekanisme molekuler, dan efektivitas klinis pengaruh *EH-MSCs* terhadap ekspresi IL 10 dan SOCS3 pada T2DM. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan landasan untuk strategi terapi yang lebih efektif, personal, dan aplikatif dalam pengelolaan T2DM dan komplikasinya.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh *Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap ekspresi *Interleukin-10* (IL-10) dan *Suppressor Of Cytokine Signaling 3* (SOCS3) pada tikus Wistar model Diabetes Melitus Tipe 2?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh *Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap ekspresi *Interleukin-10* (IL-10) dan *Suppressor Of Cytokine Signaling 3* (SOCS3) pada tikus wistar model diabetes melitus tipe 2 dibandingkan dengan kontrol.

1.3.2 Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan khusus antara lain:

1. Menganalisa ekspresi *Interleukin-10* (IL-10) pada tikus Wistar model diabetes melitus tipe 2 setelah pemberian *Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs).
2. Menganalisa ekspresi *Suppressor Of Cytokine Signaling 3* (SOCS3) pada tikus Wistar model diabetes melitus tipe 2 setelah pemberian *Exosome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs).

1.4 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Shalaby MS, Abdel-Reheim ES, Almanaa TN, Alhaber LA, Nabil A, Ahmed OM, et al. Regenerative Therapy. 2025;28:1-11. ¹⁷	<i>Therapeutic effects of mesenchymal stem cell conditioned media on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats</i>	Eksperi mental in vivo	MSCs-CM dengan dosis 0.5 mL diberikan via intravena setiap hari dan injeksi pankreas dosis tunggal pada tikus diabetes menunjukkan penurunan kadar glukosa darah, hemoglobin glikosilasi A1c (HbA1c), apoptosis pankreas dan stres oksidatif.
2.	Khalil Y, Hussein R, El-Kholy W. Int. J. Adv. Res.2024;12(08): 1188-1199. ¹⁸	<i>Anti inflammatory and anti-apoptotic therapeutic effects of Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes on the Pancreas of Streptozotocin-diabetic Rats.</i>	Eksperi mental in vivo	Pemberian intravena MSC-Exos dosis tunggal 500 µg/mL pada tikus diabetes dapat menekan inflamasi pada pankreas melalui penurunan sitokin pro-inflamasi TNF-α dan IL-6.
3.	Tan Y, Nie W, Chen C, He X, Xu Y, Ma X, et al. Exp Biol Med (Maywood). 2019 Jun;244(9):781-788. ¹⁴	<i>Mesenchymal stem cells alleviate hypoxia-induced oxidative stress and enhance the pro-survival pathways in porcine islets</i>	Eksperi mental in vitro	<i>huc</i> -MSC-conditioned medium (<i>huc</i> -MSC-CM) dapat menekan stres oksidatif melalui sekresi antioksidan seperti <i>superoxide dismutase</i> (SOD) dan <i>glutathione</i> (GSH) sehingga dapat meningkatkan kelangsungan hidup sel islet.
3.	Venkat P, Zacharek A, Ward JL, Wang F, Culmone L, Chen Z, et al. Experimental Neurology.2020 Dec;113456(334). ¹³	<i>Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells harvested from type two diabetes rats promote neurorestorative effects after stroke in type two diabetes rats</i>	Eksperi mental in vivo	Exosomes dari <i>bone marrow stromal cells</i> tikus T2DM (T2DM-MSC-Exo) meningkatkan pemulihan neurologis berdasarkan <i>modified neurological severity score test</i> , meningkatkan <i>remodelling</i> substansia alba yang ditandai dengan meningkatnya densitas akson dan selubung myelin, serta dapat menekan inflamasi melalui penurunan ekspresi mikroglia M1, MMP-9 dan MCP-1.

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
5.	Cheng P, Xie X, Hu L, Zhou W, Mi B, Xiong Y, et al. Bioact Mater. 2023 Nov 10;33:157-173. ¹⁵	<i>Hypoxia endothelial cells-derived exosome facilitate diabetic wound healing through improving endothelial cell function and promoting M2 macrophages</i>	Eksperimen in vitro dan in vivo	<i>Gel-H-Exos</i> yang diberikan secara rutin dapat mempercepat penyembuhan luka melalui angiogenesis dan polarisasi makrofag M2.

Berdasarkan tabel 1.1, Pada penelitian sebelumnya *MSC-Exos* dengan dosis 0.5 mL diberikan via intravena dan injeksi langsung pada pankreas tikus yang telah diinduksi diabetes menunjukkan hasil bahwa *MSC-Exos* dapat memberikan perbaikan yang signifikan berdasarkan penurunan kadar glukosa darah dan HbA1c.^{17,18} Selain itu *MSC-Exos* juga dapat menekan inflamasi yang diukur berdasarkan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 serta dapat menekan stress oksidatif dengan meningkatkan kadar antioksidan seperti SOD dan GSH.^{14,18} Penelitian lain juga menunjukkan bahwa *MSC-Exos* dapat menekan inflamasi melalui peningkatan polarisasi makrofag M2 anti-inflamasi.¹³ Penelitian terbaru terkait *EH-MSCs* sebelumnya dilakukan oleh Cheng P, et al yang diformulasikan dalam bentuk *Gel-H-Exos* menunjukkan polarisasi makrofag M2 dan angiogenesis yang lebih tinggi sehingga memberikan penyembuhan luka pada ulkus diabetes yang lebih cepat dibandingkan dengan *normoxic exosomes-loaded HGM-QCS hydrogels*.¹⁵ Namun pada penelitian penelitian terdahulu, terdapat celah mengenai topik yang belum secara langsung yang mempelajari mengenai pengaruh terhadap IL-10 dan

SOCS3 pada T2DM. Tesis ini memberikan pendekatan baru dengan fokus untuk memahami pengaruh *EH-MSC* terhadap mekanisme inflamasi sistemik yang terkait dengan T2DM dimana SOCS3 merupakan sitokin yang berperan sentral pada resistensi insulin dan peran IL-10 sebagai sitokin anti-inflamasi yang poten dalam memodulasi inflamasi kronis pada T2DM.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

1. Menambah pemahaman tentang peran IL-10 sebagai sitokin antiinflamasi dan SOCS3 sebagai regulator negatif dalam jalur insulin pada patofisiologi T2DM.
2. Memberikan wawasan baru tentang mekanisme kerja *EH-MSCs* dalam meningkatkan ekspresi IL-10 dan menurunkan ekspresi SOCS3, yang berpotensi mengurangi inflamasi dan memperbaiki resistensi insulin.
3. Menjadi referensi bagi studi lanjutan untuk mengeksplorasi mekanisme terapi regeneratif berbasis *EH-MSCs* pada penyakit metabolik lainnya.

1.5.2. Manfaat Praktis

1. Membantu pengembangan terapi klinis berbasis *EH-MSCs* untuk pengelolaan T2DM yang lebih aman, efektif, dan berkelanjutan. Memberikan dasar ilmiah untuk mengembangkan *EH-MSCs* sebagai terapi inovatif yang lebih spesifik, efektif, dan minimal invasif untuk mengurangi inflamasi kronis dan resistensi insulin.

2. Mendukung penerapan *EH-MSCs* dalam praktek klinis dengan memberikan data terkait efeknya pada regulasi IL-10 dan SOCS3.
3. Memberikan alternatif solusi berbasis bioteknologi untuk mengatasi komplikasi inflamasi pada T2DM, yang dapat diterapkan dalam bidang medis atau farmasi.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus Tipe 2

2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus Tipe 2

Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia persisten akibat resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin yang menjadi tantangan kesehatan global dengan prevalensi yang terus meningkat.¹⁹ Pada tahun 2019, diperkirakan sekitar 463 juta orang dewasa di seluruh dunia menderita T2DM dan jumlah ini diproyeksikan akan mencapai 643 juta pada tahun 2030.²⁰

Diagnosis T2DM dapat ditegakkan melalui pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL, glukosa plasma 2 jam post-TTGO ≥ 200 mg/dL, HbA1c $\geq 6.5\%$, atau glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL dengan gejala klasik.²¹ Gejala klasik T2DM meliputi poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan.²²

Penanganan T2DM memerlukan pendekatan yang komprehensif, mencakup modifikasi gaya hidup dan terapi farmakologis. Modifikasi gaya hidup meliputi pengaturan pola makan, aktivitas fisik yang teratur, serta edukasi pasien untuk meningkatkan kepatuhan terhadap pengelolaan penyakit.¹⁹ Terapi farmakologis lini pertama adalah metformin, yang dapat dikombinasikan dengan obat antidiabetes lainnya,

seperti sulfonilurea, penghambat DPP-4, agonis GLP-1, atau insulin, bergantung pada kondisi klinis masing-masing pasien.^{20,22}

2.2.2 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

T2DM merupakan gangguan metabolik kompleks yang disebabkan oleh kombinasi resistensi insulin pada jaringan perifer dan disfungsi progresif sel β pankreas.¹⁹ Pada tahap awal perkembangan penyakit, sel β pankreas berusaha mengkompensasi resistensi insulin dengan meningkatkan sekresi insulin untuk mempertahankan homeostasis glukosa. Namun, seiring waktu, terjadi kegagalan sel β yang memperburuk hiperglikemia.²³

Patofisiologi DMT2 melibatkan delapan kelainan utama yang disebut sebagai "*ominous octet*" yaitu,

1. Disfungsi Sel Beta Pankreas

Disfungsi sel β pankreas merupakan komponen kunci dalam patogenesis T2DM. Sel β bertanggung jawab untuk memproduksi insulin, hormon yang mengatur kadar glukosa darah. Pada individu dengan T2DM, kemampuan sel β untuk merespons peningkatan kadar glukosa dengan memproduksi insulin menurun secara signifikan. Studi menunjukkan bahwa individu dengan toleransi glukosa terganggu kehilangan lebih dari 80% fungsi sel β sebelum didiagnosis diabetes.³

2. Peningkatan Produksi Glukosa di Hepar

Hepar memainkan peran penting dalam regulasi glukosa darah melalui gluconeogenesis dan glikogenolisis. Pada T2DM, terjadi peningkatan produksi glukosa oleh hepatosit meskipun kadar insulin tinggi. Kondisi ini dipicu oleh resistensi insulin pada hati, yang mengganggu sinyal insulin untuk menekan produksi glukosa.³

3. Resistensi Insulin pada Otot Skeletal

Resistensi insulin pada otot skeletal menghambat proses pengambilan glukosa oleh otot. Pada T2DM, gangguan pada jalur ini mengakibatkan penurunan uptake glukosa, sehingga berkontribusi terhadap hiperglikemia.³

4. Peningkatan Lipolisis pada Jaringan Adiposa

Pada jaringan adiposa, terjadi peningkatan lipolisis, yaitu pemecahan lemak menjadi asam lemak bebas. Akumulasi asam lemak bebas dalam sirkulasi dapat mengganggu fungsi insulin dan memperburuk resistensi insulin, memperparah gangguan metabolik pada T2DM.²⁴

5. Defisiensi Efek Incretin

Incretin adalah hormon usus yang dilepaskan setelah makan dan berfungsi untuk meningkatkan sekresi insulin. Pada T2DM, terjadi resistensi terhadap GLP-1 dan GIP, dua hormon incretin utama. Hal ini menyebabkan penurunan respons insulin pasca makan dan memperburuk hiperglikemia postprandial.²⁵

6. Hiperglukagonemia dari Sel Alfa Pankreas

Sel alfa pankreas menghasilkan glukagon, hormon yang merangsang produksi glukosa oleh hati. Pada T2DM, sekresi glukagon tetap tinggi meskipun kadar insulin meningkat, yang menyebabkan peningkatan produksi glukosa di hati dan memperparah hiperglikemia.³

7. Peningkatan Reabsorpsi Glukosa di Ginjal

Ginjal memainkan peran penting dalam homeostasis glukosa dengan menyaring dan menyerap kembali glukosa dari urin. Pada T2DM, terjadi peningkatan reabsorpsi glukosa melalui upregulasi transporter SGLT-2, yang mencegah ekskresi glukosa dan memperburuk hiperglikemia.³

8. Disfungsi Neurotransmitter

Disfungsi neurotransmitter di otak turut berperan dalam patogenesis T2DM. Resistensi insulin pada pusat pengatur nafsu makan di otak menyebabkan peningkatan nafsu makan dan kenaikan berat badan, yang semakin memperparah kondisi metabolik.³

Pada tingkat molekuler, resistensi insulin melibatkan berbagai mekanisme, termasuk gangguan pada jalur IRS-1/PI3K/Akt, peningkatan sitokin proinflamasi, dan akumulasi lipid.^{4,9} Hiperglikemia kronis memicu aktivasi jalur stres oksidatif yang mempercepat kerusakan sel β pankreas.²⁰

2.2 Model Hewan Diabetes Mellitus Tipe 2

Tikus Wistar sering digunakan sebagai model hewan dalam penelitian T2DM karena kemampuannya meniru kondisi metabolik manusia, seperti resistensi insulin dan hiperglikemia. Salah satu metode paling banyak digunakan untuk menginduksi T2DM pada tikus Wistar adalah kombinasi diet tinggi lemak dengan streptozotocin.²⁶ Pada penelitian ini, induksi diabetes pada tikus Wistar dilakukan menggunakan kombinasi Streptozotocin (STZ) dan Nicotinamide (NA). STZ merupakan senyawa dari kelompok nitrosourea yang bersifat toksik terhadap sel beta pankreas dan umum digunakan untuk menginduksi model hewan diabetes sedangkan NA merupakan turunan vitamin B3 (niasin) dengan rumus kimia $C_6H_6N_2O$, yang berperan sebagai prekursor NAD⁺.²⁷ NA berperan sebagai pelindung terhadap sistem saraf dan metabolik, dengan cara meningkatkan produksi energi sel dan menurunkan stres oksidatif akibat radikal.²⁸ Pengkombinasian STZ dengan NA akan melindungi sel β pankreas dengan cara menghambat aktivasi enzim PARP, yang bila diaktifkan secara berlebihan akan menguras NAD⁺ dan ATP, memperburuk kerusakan energi sel dan memicu apoptosis^{28,29}

STZ merusak sel beta melalui dua mekanisme utama, yaitu dengan meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyerang membran, protein, dan DNA serta melalui alkilasi DNA oleh gugus nitroso, yang memicu aktivasi PARP, konsumsi besar-besaran NAD⁺, dan akhirnya kematian sel beta. NA bekerja mengimbangi efek ini dengan menghambat PARP dan menekan pembentukan radikal bebas, sehingga menurunkan kematian sel β .²⁶

Meski demikian, perlindungan NA hanya bersifat parsial sehingga beberapa sel β masih mengalami kerusakan namun tetap bertahan dalam kondisi fungsional yang menurun, yang secara fisiologis menyerupai kondisi T2DM.³⁰

2.3 Interleukin-10 (IL-10)

Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin anti-inflamasi yang memiliki peran vital dalam modulasi inflamasi dan pemeliharaan homeostasis seluler.³¹ Protein ini memiliki struktur homodimer dengan berat molekul 37 kDa yang terdiri dari dua subunit asam amino-178.³² Gen IL-10 terletak pada kromosom 1q31-32 dengan struktur yang mencakup 5 ekson dan 4 intron, serta memiliki 4 residu sistein terkonservasi yang membentuk 6 α -heliks.³²

Dalam fungsi biologisnya, IL-10 berperan penting dalam regulasi imun dengan menekan sintesis sitokin pro-inflamasi seperti IL-1, IL-6, dan TNF- α . Selain itu, IL-10 meningkatkan kelangsungan hidup sel B, proliferasi, dan produksi antibodi, serta mencegah apoptosis sel germinal dan mendukung kelangsungan hidup sel T.³¹ IL-10 juga memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas NF- κ B dan mengatur jalur sinyal JAK-STAT.^{32,33} Beberapa miRNAs, seperti miR-106a, miR-4661, dan miR-21, telah diidentifikasi sebagai pengatur langsung dari ekspresi IL-10.^{34,35} Misalnya, miR-4661 berfungsi mencegah degradasi mRNA IL-10 oleh *Tristetraprolin* (TTP), sehingga meningkatkan stabilitas dan ekspresi IL-10 di tingkat mRNA dan protein dalam makrofag yang diaktifkan oleh *Toll-like receptor* (TLR).³⁶ Pada inflamasi, ketidakseimbangan antara miRNA pro-inflamasi dan anti-inflamasi dapat berkontribusi pada patogenesis penyakit.³⁷ Penelitian

menunjukkan bahwa miR-187, yang diinduksi oleh IL-10, dapat menekan produksi TNF- α , sitokin pro-inflamasi lainnya, sehingga memperkuat efek anti-inflamasi IL-10.³⁸

Kadar normal IL-10 dalam serum orang dewasa sehat berkisar antara 4,8-9,8 pg/mL, dengan rata-rata 7,1 pg/mL.³³ Kadar di atas 10 pg/mL umumnya dianggap meningkat dan dapat mengindikasikan patologi tertentu. IL-10 memiliki implikasi signifikan dalam berbagai kondisi patologis, termasuk sebagai prediktor keparahan pada infeksi SARS-CoV-2 akut dan post-akut.³⁹ Defisiensi IL-10 dapat menyebabkan penyakit inflamasi usus dan kondisi autoimun, sementara kadar yang meningkat dapat mengindikasikan prognosis buruk pada beberapa jenis kanker.^{32,40,41} IL-10 bekerja melalui sistem reseptor kompleks yang terdiri dari subunit IL10RA (CD210) dan IL10RB. Interaksi ini memicu kaskade sinyal yang mengatur respons imun dan inflamasi, menjadikan IL-10 sebagai regulator utama homeostasis imun.³²

2.4 *Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3)*

Suppressor of Cytokine Signaling 3 (SOCS3) merupakan protein yang diinduksi oleh sitokin seperti IL-6 yang bertindak sebagai penghambat umpan balik negatif dalam jalur sinyal insulin. Mekanisme utama SOCS3 melibatkan pengikatan langsung ke reseptor insulin atau insulin receptor substrate (IRS) 1 dan 2, yang menghambat fosforilasi tirosin pada IRS.⁴² Akibatnya, jalur *downstream* seperti PI3K/Akt terganggu, sehingga mengurangi pengambilan glukosa oleh sel dan menyebabkan resistensi insulin.⁴³⁻⁴⁵

Ekspresi SOCS3 yang meningkat sering ditemukan pada jaringan adiposa, hati, dan otot skeletal individu dengan obesitas, yang merupakan faktor risiko utama untuk T2DM. Pada kondisi ini, SOCS3 tidak hanya menghambat sinyal insulin tetapi juga mempercepat degradasi IRS1 dan IRS2 melalui mekanisme ubiquitin-proteasomal.⁴⁶ Hal ini memperburuk resistensi insulin dengan mengurangi komponen kunci dalam jalur sinyal insulin.⁴⁹ Studi pada tikus menunjukkan bahwa penghapusan spesifik SOCS3 di otot rangka meningkatkan fosforilasi IRS1 dan Akt, sehingga meningkatkan sensitivitas insulin dan pengambilan glukosa.⁴² Meski demikian, pada beberapa penelitian sebelumnya ditemukan bahwa penurunan kadar SOCS3 secara signifikan di hati dapat menyebabkan efek samping seperti peningkatan lipogenesis hati dan peradangan sistemik, menunjukkan bahwa regulasi SOCS3 harus dilakukan secara hati-hati untuk menghindari komplikasi lain.^{43,44}

2.5 Mesenchymal Stem Cells

2.5.1 Definisi Mesenchymal Stem Cells

Mesenchymal stem cells (MSCs) merupakan agen terapeutik potensial. Sel-sel multipoten ini dapat diisolasi dari berbagai jaringan, termasuk sumsum tulang, jaringan lemak, dan umbilikus.⁴⁷ *Exosome* yang berasal dari MSCs merupakan vesikel berbentuk bulat dengan lapisan lipid ganda berukuran 40-100 nm.⁴⁸ Pembentukannya terjadi melalui proses kompleks yang melibatkan invaginasi membran plasma, pembentukan endosom awal, dan akhirnya pelepasan melalui fusi membrane.^{49,50} Struktur nano tersebut mengandung berbagai komponen

bioaktif, termasuk protein, asam nukleat, lipid, dan berbagai molekul pengatur yang memungkinkan komunikasi antar sel yang canggih.⁵¹

Potensi terapeutik *exosome* yang berasal dari MSCs mencakup berbagai aplikasi. Pada penyembuhan luka, *exosome* akan meningkatkan proliferasi fibroblas, mendorong pembentukan pembuluh darah baru, dan mengatur respons imun melalui transfer miRNAs spesifik,⁵⁰ yang berperan penting dalam regulasi IL-10, sitokin anti-inflamasi utama dalam tubuh.

Keunggulan *exosome* yang berasal dari MSCs dibandingkan terapi sel langsung terletak pada stabilitas biologis yang lebih baik, imunogenisitas yang lebih rendah, dan kemampuan untuk melewati penghalang biologis.⁴⁸ Hal ini secara efektif menghindari potensi risiko yang terkait dengan terapi sel, seperti tumorigenisitas dan penolakan imun, sambil mempertahankan efektivitas terapeutik.^{49,51}

Mekanisme kerja *exosome* melibatkan tiga jalur utama: aktivasi reseptor langsung pada sel target, modifikasi lingkungan ekstraselular, dan fusi membran dengan pelepasan konten berikutnya.⁵¹ Melalui mekanisme ini, *exosome* yang berasal dari MSCs dapat mempengaruhi berbagai proses seluler, termasuk perbaikan jaringan, imunomodulasi, dan regenerasi sel.⁵²

2.5.2 Karakteristik *Mesenchymal Stem Cells*

MSCs dapat diisolasi dari berbagai sumber, seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, tali pusat, dan jaringan lainnya^{53,54}. Penelitian

terbaru mengungkapkan bahwa MSCs memiliki karakteristik morfologi khas, seperti ukuran badan sel yang kecil dengan tonjolan panjang dan tipis, inti sel besar berbentuk bulat dengan nukleolus menonjol, serta kromatin yang tersebar halus.⁵⁴

Berdasarkan standar internasional, MSCs harus mengekspresikan penanda permukaan tertentu. Penanda positif meliputi CD105, CD73, dan CD90, sedangkan penanda negatif mencakup CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79 α , CD19, dan HLA-DR.⁵⁴ Profil imunologis ini memberikan MSCs sifat *imunoprivilege*, memungkinkan mereka menghindari pengenalan oleh sistem imun sekaligus memodulasi respons imun, sehingga meningkatkan potensinya untuk aplikasi terapeutik.^{54,55}

Salah satu sifat paling menonjol dari MSCs adalah multipotensitasnya, yang memungkinkan diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dari asal mesodermal.^{53,54} Hal ini menjadikan MSCs dapat menjadi alternatif pada rekayasa jaringan dan kedokteran regeneratif. Selain itu, MSCs memiliki kemampuan terapeutik seperti bermigrasi ke lokasi cedera dan mensekresi sitokin tertentu yang berperan dalam proses penyembuhan.^{54,55}

2.5.3 Pengaruh Kondisi *Hypoxia* Terhadap Fungsi MSCs dan *Exosome* yang Dihasilkan

Hypoxia secara signifikan memengaruhi berbagai aspek biologis MSCs termasuk viabilitas, proliferasi, diferensiasi, migrasi, dan

metabolisme.⁵⁶ Ketika MSCs dikultur dalam kondisi *hypoxia* (biasanya dengan kadar oksigen 1–10% O₂)⁵⁷, terjadi peningkatan aktivitas proliferasi dibandingkan dengan kultur dalam kondisi normoksia (21% O₂). Peningkatan ini diduga dipicu oleh aktivasi faktor yang diinduksi *hypoxia-1α* (HIF-1α), yang mengatur ekspresi gen yang terkait dengan kelangsungan hidup sel dan metabolisme.⁵⁸

Hypoxia merangsang aktivitas parakrin MSCs, yang menyebabkan peningkatan sekresi faktor pertumbuhan dan sitokin. Sebagai contoh, MSCs yang dikondisikan *hypoxia* menghasilkan tingkat yang lebih tinggi dari *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) dan *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF).⁵⁹ Kedua faktor ini sangat penting untuk proses angiogenesis dan perbaikan jaringan, yang secara keseluruhan memperkuat potensi terapeutik *EH-MSCs*.⁵⁹

Prekondisi *hypoxia* pada MSCs dapat meningkatkan jumlah *exosome* yang dihasilkan serta memodifikasi muatannya. *EH-MSCs* memiliki potensi terapeutik yang lebih tinggi dibandingkan dengan *exosome* dari MSCs normoksia (pada kadar 21% O₂).⁵⁶ *EH-MSCs* kaya akan faktor pro-angiogenik, protein anti-apoptosis, dan microRNA spesifik, yang semuanya mendukung perbaikan dan regenerasi jaringan.⁵⁹ Sebagai contoh, *EH-MSCs* telah menunjukkan efektivitas yang lebih baik dalam mempromosikan perbaikan jantung pasca infark miokard, mempercepat penyembuhan luka, serta mendukung regenerasi tulang. Peningkatan potensi terapeutik *exosome* ini dikaitkan dengan

muatan molekuler uniknya, di mana *hypoxia* menginduksi ekspresi HIF-1 α dalam MSCs. HIF-1 α meningkatkan produksi berbagai faktor pelindung yang dikemas dalam *exosome*, seperti faktor angiogenik (VEGF, angiopoietin-1), protein kelangsungan hidup (P65, P50), dan protein anti-apoptosis (Bcl-xL, Bcl-2).^{48,56,60} Selain itu, *hypoxia* juga memperkayanya dengan miRNAs yang mendukung regenerasi dan perbaikan jaringan.⁵⁹

2.5.4 Peran *EH-MSCs* dalam Terapi Penyakit Diabetes mellitus tipe 2

EH-MSCs dapat menjadi salah satu alternatif terapi potensial untuk mengatasi DMT2 beserta komplikasinya. Pada DMT2, *EH-MSCs* berperan penting dalam mengurangi resistensi insulin pada jaringan seperti hati, otot rangka, dan jaringan adiposa. *EH-MSCs* ini bekerja dengan memodulasi jalur sinyal kunci, seperti AMPK, yang berperan dalam metabolisme glukosa dan lipid.^{61,62} Selain itu, *EH-MSCs* dapat meningkatkan penyerapan glukosa melalui menekan SOCS3 sehingga ekspresi GLUT4 meningkat, memperbaiki fungsi sekresi insulin pada sel β pankreas, dan mengurangi apoptosis sel β yang disebabkan oleh stres oksidatif.^{4,9} Pada beberapa penelitian, ditemukan bahwa *exosome* yang berasal dari *huc-MSCs* terbukti dapat mendorong regenerasi pankreas dan meningkatkan produksi insulin melalui jalur Ext13-Reg-cyclinD1.^{63,64}

Selain pengelolaan diabetes, *MSC-Exos* juga memiliki potensi dalam mengatasi gangguan metabolik lainnya, seperti penyakit

perlemakan hati non-alkoholik (NAFLD).⁶⁵ *Exosome* dapat membantu mengurangi steatosis hati dan peradangan dengan memodulasi metabolisme lipid serta menurunkan stres retikulum endoplasma di jaringan hepar.⁴⁹ Pada obesitas, *MSC-Exos* diketahui dapat mendorong diferensiasi jaringan adiposa putih menjadi adiposa coklat, sekaligus meningkatkan termogenesis pada jaringan adiposa coklat, yang berpotensi membantu pengelolaan berat badan.⁶⁶

MSC-Exos memiliki ukuran sekitar 30-150 nm dan mengandung penanda spesifik seperti CD9, CD63, dan CD81 yang merupakan tetraspanin khas *exosome*.⁵⁴ *MSC-Exos* terbentuk melalui mekanisme endosom dan dilepaskan ke lingkungan ekstraseluler melalui fusi *multivesicular bodies* dengan membran sel.⁵⁴ *MSC-Exos* berinteraksi dengan sel target melalui beberapa mekanisme utama antara lain fusi dengan membran sel, Endositosis oleh Sel Target, Interaksi Ligand-Receptor.^{54,51} *MSC-Exos* mengandung berbagai komponen biomolekuler yang berkontribusi terhadap efek terapeutiknya,^{67,68} termasuk protein seperti HSP70 dan HSP90 yang berperan dalam perlindungan seluler serta faktor pertumbuhan seperti TGF- β yang mendukung regenerasi jaringan.⁵⁰ Selain itu, *exosome* ini juga mengandung lipid seperti sphingolipid, fosfolipid, dan *ceramide* yang berfungsi dalam menjaga stabilitas struktur *exosome* serta meningkatkan interaksi dengan sel target.⁵⁰ Komponen RNA dalam *MSC-Exos*, termasuk *mRNAs* dan *miRNAs*, berperan dalam modulasi ekspresi gen di sel penerima,

misalnya miR-21, miR-146a, dan miR-29⁶⁷ yang diketahui terlibat dalam regulasi proses inflamasi dan angiogenesis, sehingga memperkuat potensi terapeutik *exosome* dalam berbagai kondisi patologis.⁶⁸

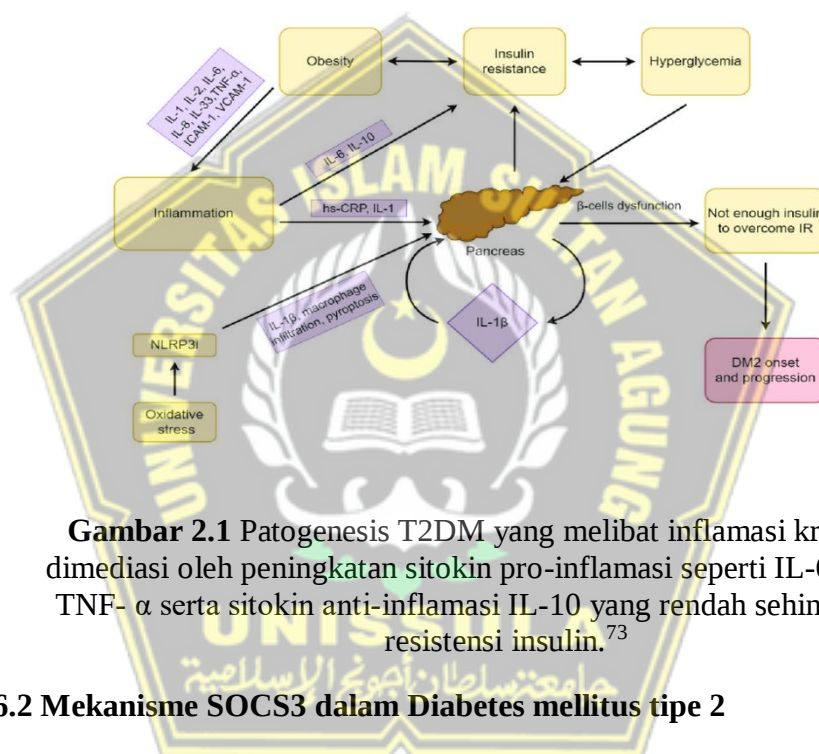
2.6 Mekanisme IL-10 dan SOCS3 dalam Diabetes mellitus tipe 2

2.6.1 Mekanisme IL-10 dalam Diabetes mellitus tipe 2

IL-10 berperan penting dalam regulasi inflamasi dan homeostasis pada T2DM. Sebagai sitokin anti-inflamasi utama, IL-10 menekan produksi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan mediator inflamasi lainnya.⁶⁹ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 sirkulasi pada pasien T2DM secara signifikan lebih rendah ($9,53 \pm 2,27$ pg/mL) dibandingkan dengan individu sehat ($16,11 \pm 2,27$ pg/mL).⁷⁰

Dalam homeostasis glukosa, IL-10 menunjukkan efek signifikan pada metabolisme glukosa dan sensitivitas insulin.⁶⁹ Protein ini meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan otot rangka, melindungi dari infiltrasi makrofag terkait obesitas, dan mencegah resistensi insulin yang diinduksi diet melalui pengurangan respons inflamasi.⁷¹ Penurunan fungsi IL-10 dapat berkontribusi pada patologi T2DM melalui beberapa mekanisme, termasuk respons inflamasi yang tidak terkontrol, gangguan aktivasi sinyal STAT3 akibat hiperglikemia, dan peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi yang mempengaruhi kerja insulin.^{70,72}

Penargetan jalur IL-10 dapat membantu mengurangi inflamasi kronis tingkat rendah yang terkait dengan T2DM.⁷¹ Kadar serum IL-10 yang rendah dianggap sebagai faktor risiko potensial untuk T2DM, dan hiporesponsivitas terhadap IL-10 pada pasien T2DM menunjukkan bahwa terapi untuk mengatasi resistensi IL-10 dapat menjadi pendekatan terapeutik baru dalam pengelolaan inflamasi akibat diabetes.⁷²



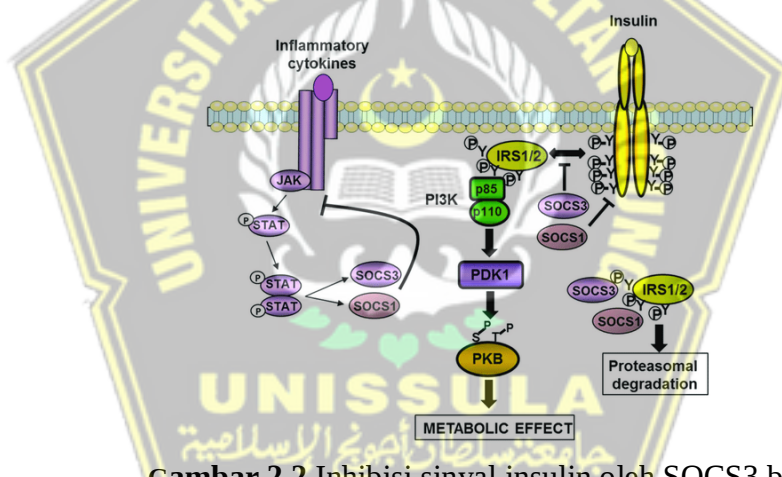
Gambar 2.1 Patogenesis T2DM yang melibatkan inflamasi kronis yang dimediasi oleh peningkatan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, IL-1, dan TNF- α serta sitokin anti-inflamasi IL-10 yang rendah sehingga terjadi resistensi insulin.⁷³

2.6.2 Mekanisme SOCS3 dalam Diabetes mellitus tipe 2

SOCS3 berperan penting dalam regulasi sinyal sitokin dan hormon, termasuk insulin dengan mengatur umpan balik negatif dalam jalur sinyal insulin, yang sangat penting untuk menjaga homeostasis glukosa dan mencegah resistensi insulin. SOCS3 diinduksi oleh sitokin pro-inflamasi dan berfungsi dengan mengikat reseptor insulin pada residu tirosin tertentu, seperti tirosin 960. Setelah terikat, SOCS3 menghambat aktivasi insulin dari IRS1 dan IRS2, yang merupakan

komponen pada jalur sinyal insulin.^{42,46} Dengan mengurangi fosforilasi IRS1, SOCS3 menghalangi aktivasi jalur *downstream* seperti PI3K dan Akt, yang bertanggung jawab untuk efek biologis insulin termasuk pengambilan glukosa oleh sel.^{44,74}

Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada model hewan dengan kelebihan berat badan atau obesitas, ekspresi SOCS3 meningkat secara signifikan di jaringan adiposa dan hati.^{42,46} Peningkatan ini berkontribusi pada resistensi insulin, di mana meskipun kadar insulin tinggi, respons sel terhadap hormon tersebut menurun.^{43,75}



Gambar 2.2 Inhibisi sinyal insulin oleh SOCS3 berinteraksi dengan protein IRS yang terfosforilasi tirosin yang menyebabkan degradasinya oleh proteasom. Efek yang dihasilkan adalah penurunan aktivasi IRS1/2-PI3K-PKB yang diinduksi insulin yang menyebabkan penurunan efek metabolik insulin.⁷⁴

2.7 Pengaruh EH-MSCs Terhadap Ekspresi IL-10 dan SOCS3

Konsentrasi oksigen untuk kultur *hypoxia* pada MSCs bervariasi tergantung pada sumber sel dan tujuan terapeutiknya. Kondisi yang menyerupai keadaan fisiologis dan cocok untuk pasase awal adalah pada konsentrasi 5% O₂.⁵⁸ Secara umum, kultur pada kondisi *hypoxia* dengan

rentang 1-10% O₂ menunjukkan aktivitas proliferasi yang lebih tinggi dibandingkan kondisi normoksia (21% O₂).⁷⁶ Durasi kultur juga menjadi faktor penting dalam optimalisasi kondisi *hypoxia*.⁷⁷ Prekondisi minimal 2 hari diperlukan untuk meningkatkan efek kelangsungan hidup sel, sedangkan prekondisi 24 jam sudah menunjukkan manfaat terapeutik untuk aplikasi tertentu.⁷⁸ Parameter kultur standar tetap harus dipertahankan selama kondisi *hypoxia*, termasuk penggunaan media kultur standar.⁷⁸ Kepadatan sel dan tingkat konfluensi perlu dipantau secara ketat karena kondisi *hypoxia* dapat meningkatkan laju proliferasi sel.⁷⁶ Pada kondisi *hypoxia*, MSCs menunjukkan peningkatan kemampuan proliferasi, kelangsungan hidup, dan migrasi melalui berbagai adaptasi seluler.⁷⁹

Kondisi *hypoxia* juga meningkatkan potensi diferensiasi kondrogenik dan produksi sekretom serta *vesikel ekstraselulers* (EVs).^{57,80} Lebih penting, MSCs yang diprakondisi *hypoxia* menunjukkan peningkatan ekspresi VEGF, yang berkontribusi pada potensi angiogenik yang lebih besar.⁸¹ *EH-MSCs* memiliki kandungan miRNAs spesifik yang berperan penting dalam modulasi respon imun dan inflamasi pada kondisi patologis, termasuk diabetes melitus tipe 2.⁸² Dalam model tikus diabetes tipe 2, *EH-MSCs* terbukti mengandung miRNAs seperti miR-146a dan miR-223 yang mampu meningkatkan ekspresi sitokin antiinflamasi yaitu IL-10.⁸³ IL-10 merupakan regulator utama dalam pengendalian inflamasi kronis yang umum terjadi pada diabetes, dengan menekan aktivasi makrofag pro-inflamasi (M1) dan mengarahkan diferensiasi ke fenotipe anti-inflamasi (M2).⁸³ Dengan meningkatkan kadar IL-10, *EH-*

MSCs juga mengandung miRNA-221 yang dapat menekan ekspresi SOCS3 serta kandungan miRNAs lainnya yang berperan dalam memperbaiki mikrolingkungan jaringan, menurunkan stres oksidatif, serta meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan target.^{79,84}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

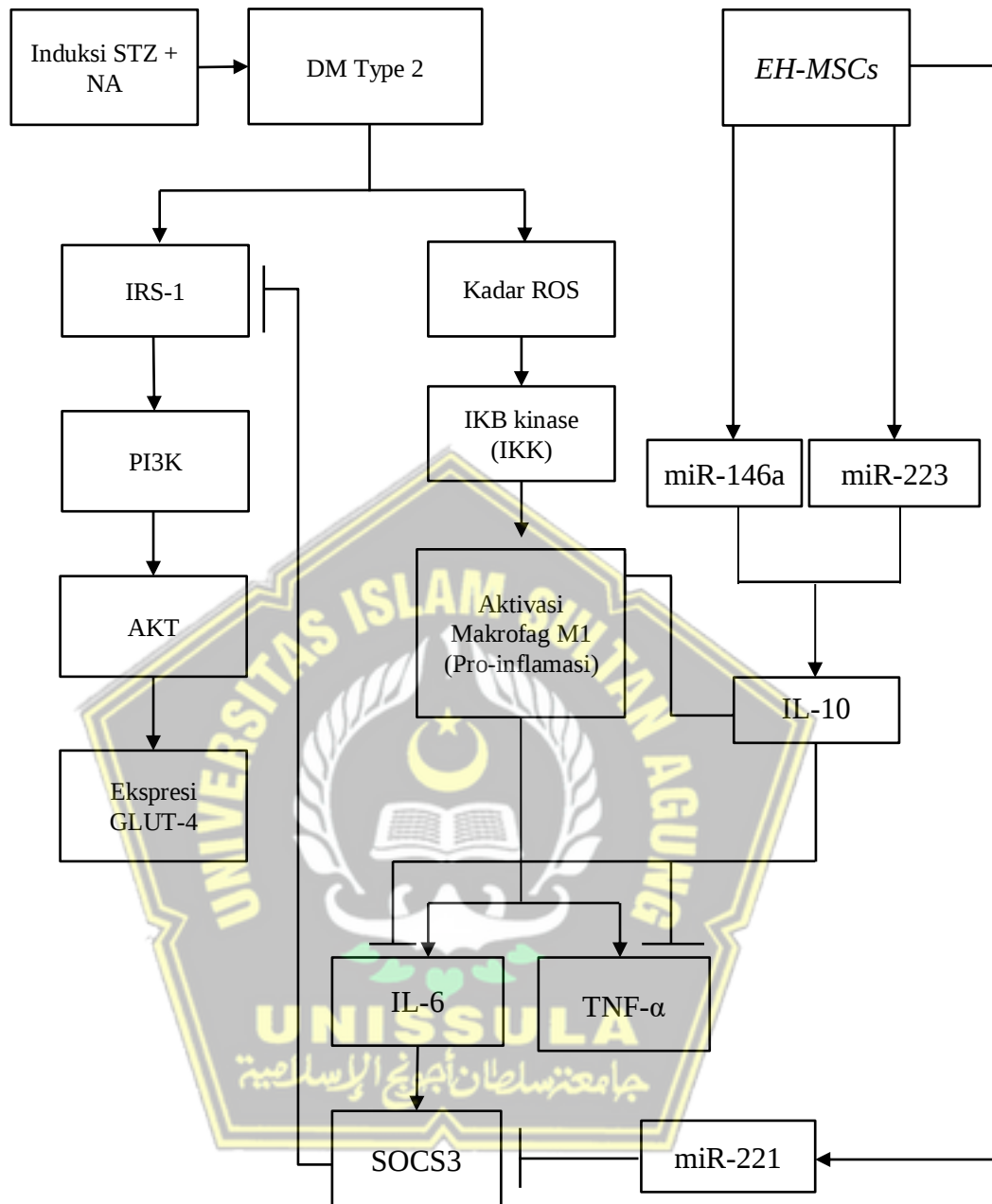
Diabetes Mellitus Tipe 2 (T2DM) merupakan gangguan metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat resistensi insulin maupun gangguan sekresi insulin.¹⁹ Resistensi insulin terjadi karena ekspresi berlebihan pada SOCS3 yang berfungsi sebagai pengatur *negative feedback*.⁴ Ketika kadar SOCS3 meningkat, protein tersebut akan menghambat sinyal insulin yang menyebabkan penurunan kemampuan tubuh untuk menggunakan glukosa secara efektif dengan cara degradasi IRS oleh proteasom, sehingga mengurangi jumlah IRS1 yang tersedia untuk transduksi sinyal.⁸⁵ Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penurunan ekspresi SOCS3 dapat memperbaiki sensitivitas insulin dengan meningkatkan aktivitas IRS1 dan jalur PI3K/Akt.^{44,75} Peningkatan SOCS3 diakibatkan oleh inflamasi kronis yang dimediasi oleh meningkatnya sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan rendahnya sitokin anti-inflamasi IL-10.⁹

IL-10 adalah sitokin yang berperan dalam modulasi inflamasi dan pemeliharaan homeostasis seluler melalui efek anti-inflamasi seperti menghambat produksi sitokin pro-inflamasi (IL-1 β , IL-6, TNF- α) dan aktivitas imunostimulan seperti mendukung fungsi sel T regulatori (Treg).³¹ *EH-MSCs* dapat meningkatkan ekspresi IL-10 dengan memodulasi makrofag menjadi fenotipe anti-inflamasi M2 dan menghambat NF- κ B. Potensi *EH-MSCs* dalam meningkatkan IL-10 melalui miR-146a dan miR-223

menjadikannya terapi inovatif untuk diabetes melitus tipe 2 serta komplikasinya.⁸³

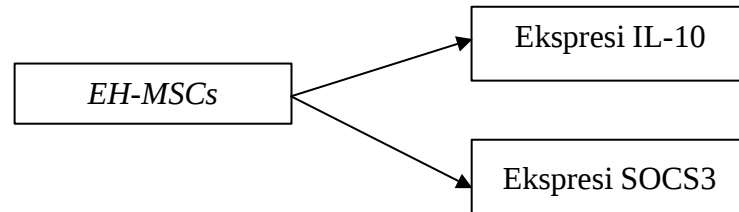
Mesenchymal Stem Cells (MSCs) merupakan sel induk multipoten yang memiliki kemampuan unik dalam imunomodulasi dan regenerasi jaringan⁸⁶ Salah satu mekanisme penting yang mendasari efek terapeutik MSCs adalah *EH-MSCs*, yaitu vesikel ekstraseluler berukuran 30-150 nm yang mengandung berbagai molekul bioaktif seperti protein, mRNA, dan miRNA dan berperan dalam komunikasi antar sel dan mekanisme parakrin MSCs.⁷⁷ Kondisi *hypoxia* dapat meningkatkan potensi terapeutik MSCs melalui peningkatan produksi kandungan faktor anti-inflamasi dalam *EH-MSCs* seperti miRNA-221 yang berperan dalam regulasi SOCS3 untuk perbaikan jaringan.⁸⁴

Tikus Wistar digunakan sebagai model *in-vivo* untuk meniru patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2 (T2DM) pada manusia. Induksi dilakukan melalui injeksi streptozotocin (STZ)⁸⁷ yang menyebabkan resistensi insulin dan kerusakan sel beta pankreas. Model ini relevan karena menunjukkan pola perubahan IL-10 dan ekspresi SOCS3 yang menyerupai kondisi T2DM pada manusia.



Gambar 3.1 Kerangka Teori

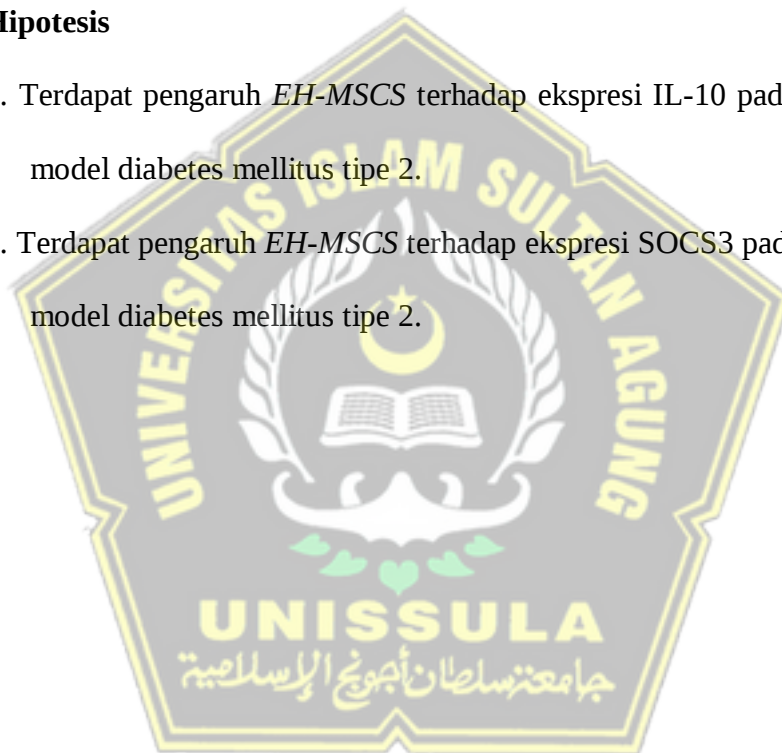
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep Penelitian

3.3. Hipotesis

1. Terdapat pengaruh *EH-MSCS* terhadap ekspresi IL-10 pada tikus Wistar model diabetes mellitus tipe 2.
2. Terdapat pengaruh *EH-MSCS* terhadap ekspresi SOCS3 pada tikus Wistar model diabetes mellitus tipe 2.

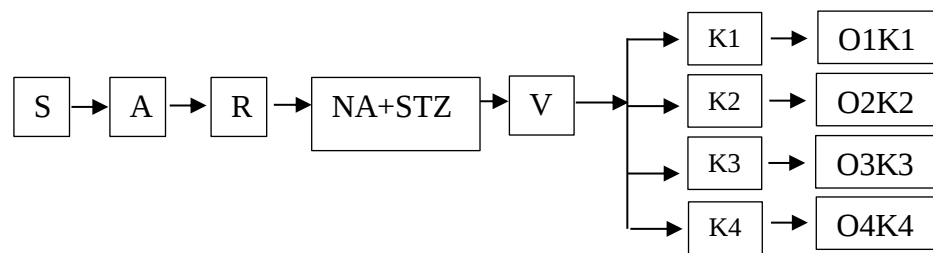


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental in-vivo dengan pendekatan *post-test only control group design*. Model hewan tikus Wistar digunakan untuk menguji pengaruh *EH-MSCs* terhadap ekspresi IL-10 dan ekspresi SOCS3. Dalam penelitian ini, tikus dibagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan intervensi yang berbeda. Kelompok 1 (K1) merupakan kelompok kontrol yang telah diinduksi diabetes dan menerima *exosome* normoksia MSCs secara intravena, serta injeksi NaCl 0,9% sebanyak 300 μ L secara intravena sebagai kontrol. Kelompok 2 (K2) berperan sebagai kontrol positif, yaitu kelompok tikus yang diinduksi diabetes menggunakan Streptozotocin-Nicotinamide, kemudian diberikan terapi Metformin secara peroral dengan dosis 45 mg/kgBB/hari selama 14 hari. Kelompok Perlakuan 1 (K3) mendapatkan induksi diabetes menggunakan Streptozotocin-Nicotinamide, diikuti dengan pemberian *EH-MSCs* sebanyak 250 μ L secara intravena pada hari ke-15, 18, dan 21. Kelompok Perlakuan 2 (K4) juga mengalami induksi diabetes dengan Streptozotocin-Nicotinamide, tetapi diberikan *EH-MSCs* dalam dosis yang lebih tinggi, yaitu 500 μ L secara intravena, pada hari ke-15, 18, dan 21.



Gambar 4.1 Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

S: Sampel

A: Aklimatisasi

R: Randomisasi

V: Validasi diabetes dengan pengukuran kadar gula darah. Kadar glukosa darah (KGD) pada tikus normal umumnya berkisar antara 90 hingga 130 mg/dL. Tikus dikatakan mengalami diabetes mellitus tipe 2 apabila kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL

K1: Tikus diabetes dengan NaCl 0,9% intravena

K2: Tikus diabetes dengan metformin oral 300mg/kgBB/hari 14 hari

K3: Tikus diabetes dengan *EH-MSCs* dengan dosis 250 μ L iv hari ke-15, 18, dan 21

K4: Tikus diabetes dengan *EH-MSCs* dengan dosis 500 μ L iv hari ke-15, 18, dan 21

O1K1: Observasi ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada kelompok 1

O2K2: Observasi ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada kelompok 2

O3K3: Observasi ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada kelompok 3

O4K4: Observasi ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada kelompok 4

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan yang berumur 8-10 minggu, dengan berat badan 200-250 gram.

4.2.2. Sampel Penelitian

Sampel dipilih menggunakan teknik randomisasi sederhana setelah tikus memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Jumlah sampel dihitung menggunakan rumus Federer's formula sebagai berikut,

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

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

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

$$3n \geq 18$$

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

Keterangan :

t: Jumlah kelompok perlakuan

n : besar sampel setiap kelompok perlakuan

Di mana n adalah jumlah tikus per kelompok, dan t adalah jumlah kelompok. Pada penelitian ini, digunakan 4 kelompok tikus, maka minimal 6 tikus per kelompok diperlukan. Ditambahkan 1 tikus untuk mengantisipasi adanya tikus mati selama percobaan sehingga total sampel adalah 28 tikus.

4.2.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode randomisasi sederhana untuk memastikan setiap tikus memiliki peluang sama untuk dimasukkan ke dalam kelompok kontrol atas perlakuan. Proses pengambilan dapat dijabarkan sebagai berikut

1. Seleksi Awal

Tikus Wistar diperiksa untuk memastikan kondisi kesehatan seperti tidak sakit, aktif bergerak, dan berat badan sesuai kriteria inklusi. Pemeriksaan awal kadar glukosa darah dilakukan untuk memastikan kadar glukosa awal.

2. Aklimatisasi

Aklimatisasi tikus pada kondisi standar (suhu 22–24°C, siklus terang-gelap 12 jam, dan akses bebas ke makanan dan minuman). Adaptasi dilakukan pada kondisi standar minimal 7 hari.

3. Pembagian Kelompok

Tikus secara acak dibagi menjadi 4 kelompok:

- Kelompok 1: Kelompok kontrol negatif
- Kelompok 2: kelompok kontrol positif
- Kelompok 3: *EH-MSCs* 250 μ L perlakuan 1
- Kelompok 4: *EH-MSCs* 500 μ L perlakuan 2

4. Alokasi Sampel

Pengacakan dilakukan menggunakan metode seperti random number generator atau undian sederhana untuk memastikan

distribusi sampel yang adil antara kedua kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 7 tikus.

4.2.4. Kriteria Inklusi

1. Tikus Wistar jantan berumur 8-10 minggu.
2. Berat badan antara 200-250 gram.
3. Sehat secara klinis (aktif, nafsu makan baik, bulu bersih, dan tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit).

4.2.5. Kriteria Eksklusi

Tikus yang tidak menunjukkan kadar glukosa darah puasa ≥ 200 mg/dL setelah proses induksi STZ-NA.

4.2.6. Kriteria Drop Out

1. Tikus menunjukkan gejala stres berat seperti penurunan berat badan yang signifikan dilihat dari penurunan $>20\%$ dari berat awal, kelemahan fisik secara ekstrem, atau inaktivitas yang mengganggu hasil penelitian.
2. Tikus mengalami infeksi, cedera, atau penyakit yang tidak terkait dengan perlakuan atau protokol penelitian.
3. Tikus mati selama periode penelitian, baik akibat efek perlakuan, prosedur, atau penyebab lain.
4. Tikus yang mengalami kesalahan dalam prosedur, seperti dosis *EH-MSCs* yang tidak sesuai, teknik injeksi yang gagal, atau pengambilan sampel jaringan yang tidak berhasil.

4.3 Variabel dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Bebas (Independen)

EH-MSCs yang dikultur pada kondisi 5% O₂ dosis 250 µL dan 500 µL

4.3.2. Variabel Terikat (Dependen):

Variabel terikat pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Ekspresi IL-10: Diukur dari jaringan pankreas menggunakan metode qPCR.
- b. Ekspresi SOCS3: Diukur dari jaringan pankreas menggunakan metode qPCR.

4.3.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi pada penelitian ini adalah injeksi 65 mg STZ dan 230 mg NA dengan secara intraperitoneal dosis Tunggal.

4.3.4. Variabel Terkendali

Kondisi Lingkungan berupa aklimatisasi suhu 22–25°C, kelembapan 50–60%, siklus cahaya 12 jam terang/gelap, berat badan tikus, dan usia tikus.

4.3.5. Definisi Operasional

1. Pemberian *EH-MSCs*

Proses pemberian vesikel ekstraseluler berukuran kecil yang dihasilkan oleh *MSCs* yang dikultur dalam kondisi *hypoxia*. *EH-MSCs* ni mengandung molekul bioaktif seperti protein, mRNA, dan microRNA yang memiliki potensi untuk memodulasi peradangan

dan meningkatkan sensitivitas insulin. Dalam penelitian ini, *exosome* diberikan kepada tikus melalui rute injeksi intravena.

Unit: Mikrogram (μg) per kilogram berat badan tikus.

Skala: Rasio

2. Ekspresi IL-10

IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam menekan inflamasi kronis yang terjadi pada kondisi diabetes tipe 2. Ekspresi IL-10 diukur dari jaringan pankreas tikus yang diambil setelah perlakuan menggunakan metode qPCR. Peningkatan ekspresi IL-10 diharapkan dapat menunjukkan efek anti-inflamasi dari pemberian *EH-MSCs*.

Unit: CT value

Skala: Rasio

3. Ekspresi SOCS3

SOCS3 merupakan protein regulator negatif dalam jalur sinyal insulin yang berperan sebagai indikator resistensi insulin pada model tikus DMT2. Ekspresi diukur untuk menilai efek terapi *Exosome Hypoxia MSC* terhadap perbaikan resistensi insulin.

Unit: Ct value

Skala: Rasio.

4.4 Bahan Penelitian

1. Tikus Wistar jantan usia 8–10 minggu, berat badan 200–250 gram.
2. Aquades

3. Streptozotocin (STZ)
4. Nicotinamide
5. Primer IL-10
6. Primer SOCS3
7. Buffer PBS (phosphate-buffer saline)
8. Ketamin
9. Acepromazine
10. Xylazine

4.5 Alat Penelitian

1. Kandang untuk pemeliharaan tikus, tempat makan dan minum.
2. Timbangan Digital
3. Tempat air minum tikus.
4. PCR machine
5. Jarum Suntik
6. Tabung hematokrit.
7. 6mm biopsy punch
8. Sentrifuge
9. Mikropipet 1
10. 1000 μ L mikropipet tip
11. Vial tube 1,5 mL
12. Coated desk glass
13. Cover glass

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Penelitian ini diawali dengan pengajuan permohonan persetujuan etik kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang. Langkah ini dilakukan setelah proposal penelitian memperoleh persetujuan dari pembimbing dan penguji. Permohonan persetujuan etik bertujuan untuk memastikan penelitian berjalan sesuai prinsip-prinsip etika, terutama terkait penggunaan hewan coba. Persetujuan etik juga menjamin bahwa perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan dengan memperhatikan kesejahteraan dan hak-hak hewan, serta meminimalkan penderitaan yang tidak perlu.

4.6.2. Induksi Diabetes Mellitus Tipe 2

1. STZ dan NA masing-masing dilarutkan dalam larutan saline steril (0,9% NaCl) atau buffer sitrat (pH 4,5) untuk menjaga stabilitas larutan.
2. Larutan dibuat segar dan digunakan segera untuk mencegah degradasi kimia STZ maupun NA.
3. Larutan STZ dan NA diberikan dalam volume kecil (1-2 mL) untuk memastikan penyebaran efektif.
4. Tikus Wistar sehat (8 minggu, berat 200-250 gram) diinjeksi secara intraperitoneal dengan NA dengan dosis 230 mg.
5. Setelah 15 menit, STZ diinjeksi secara intraperitoneal dengan dosis 65 mg/kg berat badan.

6. Penyuntikan NA-STZ dilakukan pada semua tikus pada kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan 1, dan perlakuan 2.
7. Konfirmasi diabetes dilakukan 7 hari pasca-injeksi, kadar glukosa darah tikus diukur menggunakan glukometer. Tikus dengan kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL dianggap berhasil diinduksi diabetes.

4.6.3. Uji Validasi MSCs

1. Lepaskan sel dari flask menggunakan *cells detachment solution*, cuci, dan lakukan resuspensi di dalam PBS buffer.
2. Ambil 100 μ L sampel, masukkan ke dalam tabung yang berisikan reagen *flowcytometry* dengan marker CD44+, CD29+, CD45-, dan CD31- sebagai marker evaluasi
3. Baca hasil *flowcytometri*
4. Lanjutkan pemeriksaan menggunakan diferensiasi adipogenik dan osteogenik. Tempatkan media kultur spesifik sesuai dengan *lineage*
 - i. Adipogenik: Kultur MSC dalam media adipogenik selama 14-21 hari, lalu pewarnaan dengan Oil-Red O.
 - ii. Osteogenik: Kultur MSC dalam media osteogenik selama 14-21 hari, lalu pewarnaan dengan Alizarin Red.
5. Adanya droplet lipid (adiposit) dan mineralisasi matriks (osteoblast) menunjukkan kemampuan diferensiasi

4.6.4. Isolasi *EH-MSCs*

1. Preparasi *Condition Medium* dengan cara medium kultur dari passage 4 dikumpulkan dan disentrifugasi pada $300\times g$ selama 5 menit untuk menghilangkan sel-sel yang tersisa.
2. Supernatant kemudian disentrifugasi lagi pada $2000\times g$ selama 30 menit untuk menghilangkan debris.
3. Supernatant hasil sentrifugasi difiltrasi menggunakan metode *Tangential Flow Filtration* (TFF) dengan membran *sterile hollow fiber* berukuran 10, 50, dan 500 kD.
4. MSCs dengan konfluensi 80% ditambahkan medium kultur lengkap sebanyak 10 mL.
5. Flask yang berisi MSCs dimasukkan ke dalam *hypoxic chamber*. Gas nitrogen dialirkan melalui katup inlet, dan konsentrasi oksigen dalam *hypoxic chamber* diukur menggunakan oksigen-meter hingga mencapai 5% kadar oksigen. Flask diinkubasi dalam kondisi *hypoxia* selama 24 jam pada suhu 37°C .
6. Medium kultur dari flask diambil untuk diproses lebih lanjut menggunakan TFF untuk mendapatkan *exosomes* dari MSCs *hypoxia*.
7. Sel dicuci sebanyak 2 kali menggunakan *phosphate-buffered saline* (PBS) dan kemudian dire-suspensi dalam buffer pencucian (PBS atau *washing buffer* FBS) sebanyak 300-500 μL .

8. Suspensi sel diolah untuk analisis menggunakan *flowcytometry*, marker yang digunakan adalah CD63+, CD9+, dan CD81+.

4.6.5. Teknik Pengumpulan Sampel

1. Pada hari ke-28, tikus diterminasi menggunakan menggunakan *cocktail* dosis letal sebelum pengambilan jaringan pankreas dilakukan. Cocktail dibuat dengan mencampurkan Ketamin (50 mg/kgBB), Xylazine (10 mg/kgBB), dan Acepromazine (10 mg/kgBB), yang kemudian disuntikkan secara intramuskular untuk memastikan tikus tidak merasakan sakit selama proses terminasi.
2. Setelah tikus mati, sampel berupa jaringan pankreas dikoleksi secara hati-hati. Sampel jaringan tersebut kemudian disimpan dalam *cryotube* yang bebas RNase untuk menjaga integritas RNA. Selanjutnya, jaringan disimpan pada suhu -80°C dalam RNA later untuk memastikan stabilitas molekuler jaringan hingga dilakukan analisis lebih lanjut.

4.6.6. Analisis Ekspresi IL-10 dan SOCS3

1. Ekspresi mRNA dari IL-10 dan SOCS3 dianalisis menggunakan metode Quantitatif Polymerase Chain Reaction (qPCR).
2. Campuran reaksi terdiri dari 3 µl cDNA sampel, 12,5 µl Taq master mix (yang mencakup dNTPs, Taq DNA polymerase, buffer reaksi, dan MgCl₂), serta masing-masing 0,6 µl primer spesifik untuk forward dan reverse, dilengkapi dengan 8,3 µl Nuclease-Free Water.

3. Produk PCR kemudian dianalisis menggunakan sistem qPCR berbasis illumine untuk mendeteksi ekspresi IL-10 dan SOCS3.
4. Data ekspresi gen dianalisis dengan membandingkan rasio peningkatan relatif terhadap housekeeping gene, menggunakan perangkat lunak EcoStudy untuk validasi hasil.

4.7 Analisis Data

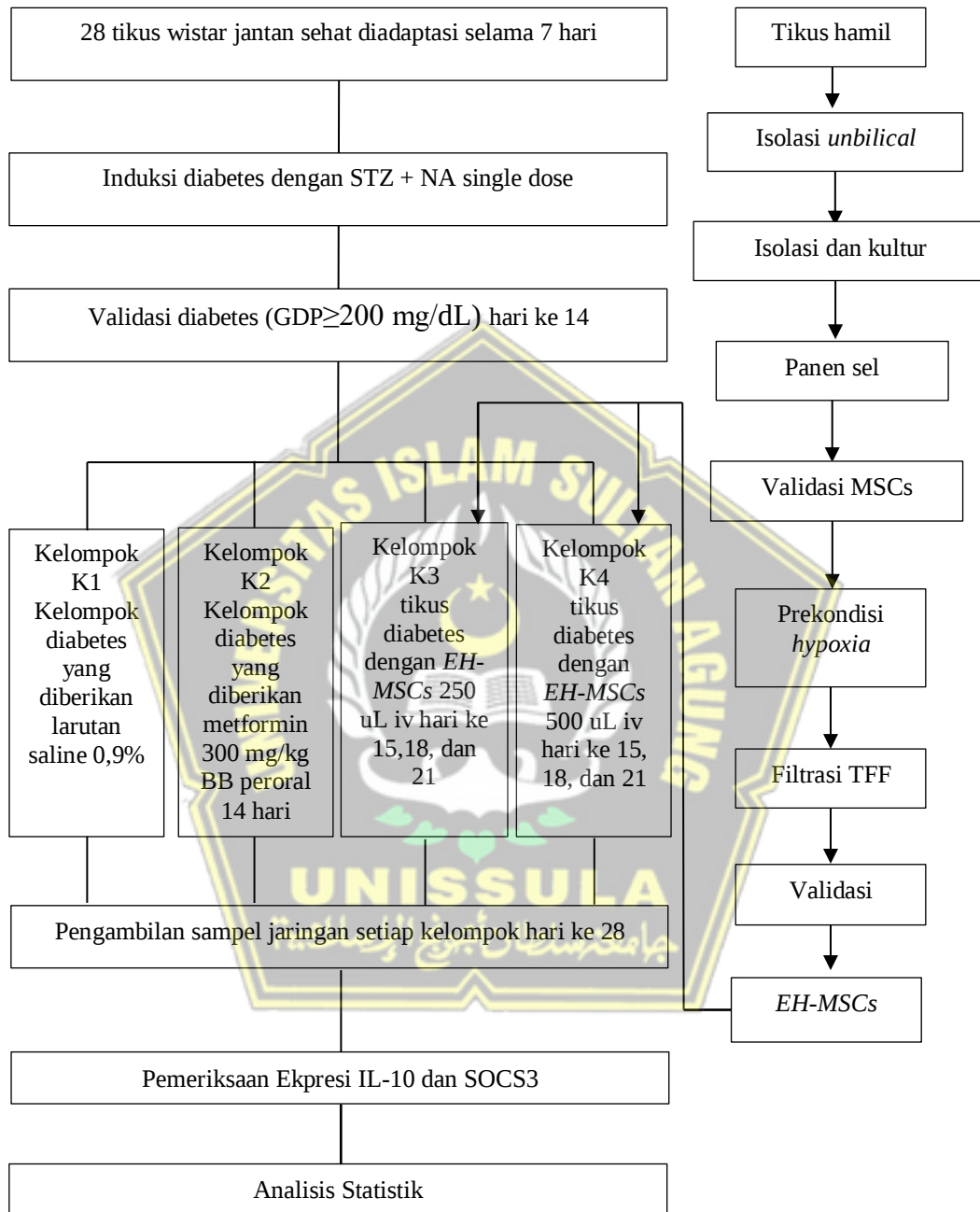
Data yang diperoleh dari penelitian dianalisis dengan metode statistik sebagai berikut:

1. Uji Normalitas: Data diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk untuk memastikan bahwa data berdistribusi normal.
2. Uji Homogenitas: Homogenitas data diuji dengan Levene's test.
3. Analisis Statistik: Perbandingan 4 kelompok
 - Jika data berdistribusi normal: Menggunakan uji ANOVA one-Way
 - Jika data tidak berdistribusi normal: Menggunakan Kruskal-Wallis Test (alternatif non-parametrik)
4. Semua analisis statistik dilakukan menggunakan software statistik, dan nilai $p < 0,05$ dianggap signifikan.
 - Jika ANOVA one-Way signifikan, lanjutkan uji post hoc Tukey untuk menilai perbedaan spesifik antar kelompok
 - Jika Kruskal-Wallis Test signifikan, lanjutkan uji post hoc Dunn's untuk membandingkan pasangan kelompok

5. Interpretasi Data: data dianalisis untuk menguji hipotesis penelitian:
- Apakah pemberian *EH MSCs* dapat mempengaruhi peningkatan ekspresi *IL-10* secara signifikan dibandingkan kontrol.
 - Apakah pemberian *EH MSCs* dapat mempengaruhi penurunan ekspresi *SOCS3* secara signifikan dibandingkan kontrol.



4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.9 Jadwal Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research*.

Penelitian rencana akan mulai dilakukan pada Mei – Juli 2025



BAB V

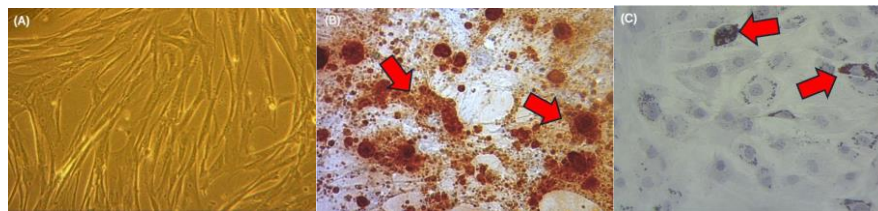
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh EH-MSCs terhadap ekspresi IL-10 dan SOCS3 pada tikus wistar model diabetes melitus tipe 2 dibandingkan dengan kontrol. Studi eksperimental ini dilakukan secara *in vivo* dengan desain *Post-test Only Control Group* dilakukan selama bulan Mei-Juli 2025 di laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Semarang. Penelitian dengan hewan coba tikus Wistar jantan berumur 8-10 minggu sebanyak 28 ekor dengan model diabetes mellitus tipe 2, Usia berkisar 2-3 bulan, dan berat badan 200-250 gram. Tikus jantan yang sesuai kriteria dilakukan pemeriksaan kadar gula darah sebelum induksi STZ-NA secara intraperitoneal. Tikus yang telah diinduksi kemudian randomisasi dan dibagi 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif K1 dengan perlakuan pemberian injeksi NaCl, kelompok kontrol positif K2 yang diberi metformin 300 mg/kgBB per oral, kelompok K3 perlakuan injeksi intravena dosis 250 uL, dan kelompok K4 perlakuan injeksi intravena dosis 500 uL

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Isolasi *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSCs)

EH-MSCs pada penelitian ini diperoleh dari isolasi dan kultur MSCs pada medium khusus yang dilakukan di Labtoratorium *Stem Cell and Cancer Research*.



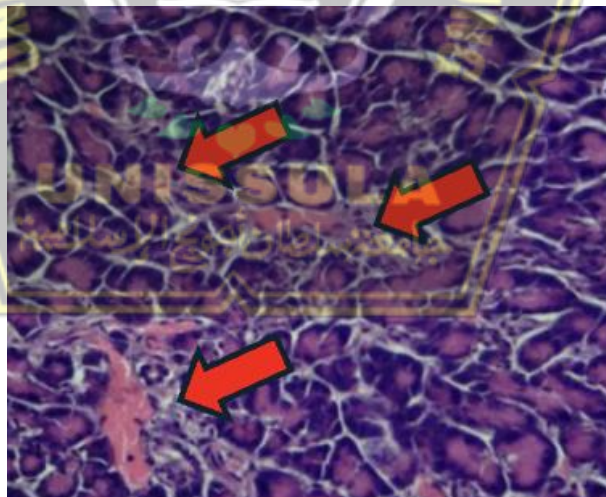
Gambar 5.1 Validasi MSCs (A) MSCs dengan gambaran *spindle-like cell* perbesaran 40x (B) Gambaran deposit kalsium (panah merah) pada diferensiasi osteosit terlihat sebagai warna merah dengan pewarnaan *Alizarin Red* perbesaran 40x (C) Gambaran droplet lemak (panah merah) sebagai warna merah di sekitar sel setelah pewarnaan *Oil Red O Dye* pada perbesaran 40x

Hasil kultur menunjukkan gambaran sel berupa *spindle-shape*. Selanjutnya, MSCs yang telah dikondisikan hipoksia dikultur dalam medium induksi osteogenik dan adipogenik sebagai uji diferensiasi dalam validasi MSCs. MSCs berkarakteristik dapat diferensiasi menjadi sel matur, termasuk osteosit dan adipogenik. Karakteristik ini dapat diamati setelah MSCs diinkubasi dalam medium induksi osteogenik dan adipogenik yang kemudian masing-masing diwarnai menggunakan *Alizarin red* untuk melihat deposisi kalsium dan *Oil Red O* untuk melihat droplet lipid yang terbentuk.

Hasil isolasi MSCs divalidasi menggunakan *flowcytometry* untuk menunjukkan kemampuan dalam mengekspresikan *surface marker* khusus, hasil menunjukkan ekspresi negatif CD45 (0.4%) dan CD31 (3.92%) serta ekspresi positif CD90 (98.7%) dan CD29 (99.9%). MSCs yang telah diprakondisikan hipoksia dan divalidasi selanjutnya dilakukan filtrasi dengan TFF untuk memperoleh *EH-MSCs*. Hasil filtrasi didapatkan konsentrasi *EH-MSCs* sebanyak 7.5 ug/mL. *EH-MSCs* kemudian divalidasi melalui *surface marker* CD9 (9.1%).

5.1.2 Validasi Diabetes Melitus Tipe 2 pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2

Subjek penelitian ini adalah tikus Wistar jantan model diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi STZ 65 mg/kgBB dan NA. Validasi T2DM dilakukan dengan menganalisis kadar gula darah dan gula darah puasa. Pada validasi kadar gula darah menunjukkan hasil 111 mg/dL dan setelah induksi hasil gula darah puasa menunjukkan 334 mg/dL. Pemeriksaan mikroskopik juga dilakukan untuk mengetahui jaringan pankreas subjek, didapatkan gambaran degenerasi sitoplasma, hilangnya granula sel dan bentuk pulau langerhans yang tidak beraturan pada jaringan pankreas tikus yang telah diinduksi STZ. Hal ini membuktikan bahwa subjek telah mengalami T2DM.



Gambar 5.2 Validasi tikus Wistar model T2DM secara mikroskopik mengamati jaringan pankreas yang diwarnai dengan H&E menunjukkan yang tidak beraturan menunjukkan perubahan kepadatan dan morfologi sel yang mencerminkan kerusakan sel β pancreas

5.1.3 Interpretasi Ekspresi *Interleukin-10* (IL-10)

P Hasil analisis Pengaruh *EH-MSCs* terhadap ekspresi IL-10 pada tikus Wistar model diabetes melitus tipe 2 dianalisis pada hari ke-30 dengan nilai K1 1.12, K2 1.37, K3 1.99 dan K4 1.47 (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji *One Way ANOVA* pada Ekspresi IL-10

Variabel	Kelompok				Sig. (p)
	K1 n=7	K2 n=7	K3 n=7	K4 n=7	
Ekspresi IL-10					
Mean	1.12±0.31	1.37±0.54	1.99±0.39	1.47±0.49	
Shapiro Wilk	0.91*	0.79*	0.56*	0.15*	
Lavene test					0.278*
ANOVA					0.009*

* $p > 0,05$ Normal * $p > 0,05$ Homogen * $p < 0,05$ Signifikan

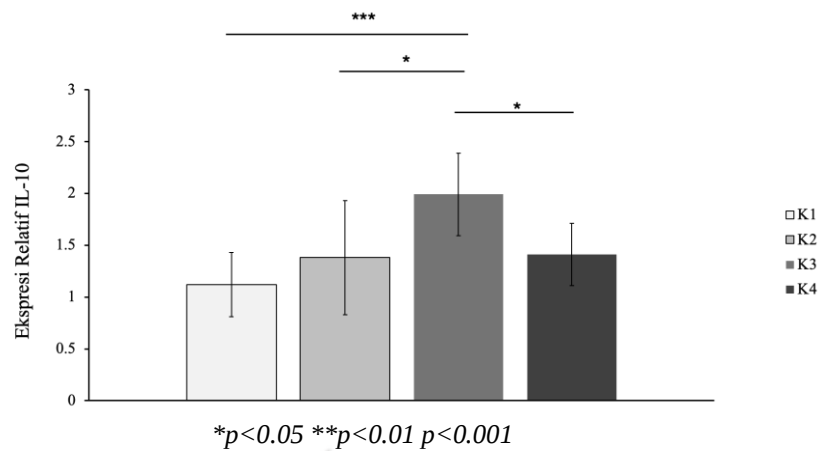
Tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata ekspresi IL-10 tertinggi pada kelompok K3 yaitu sebesar 1.99 dan diikuti oleh kelompok K4 sebesar 1.47 dan kelompok K2 sebesar 1.37. Ekspresi IL-10 terendah terdapat pada kelompok K1 yaitu kelompok kontrol negatif sebesar 1.12. Rerata ekspresi IL-10 pada semua kelompok berdasarkan uji shapiro wilk berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ normal. Hasil uji homogenitas menggunakan uji lavene didapatkan hasil data homogen dengan nilai $p > 0,05$ homogen. Sebaran data normal dan homogen maka analisis data menggunakan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil uji parametrik *one way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok penelitian dengan nilai $p < 0,05$.

Tabel 5.2 Perbedaan Ekspresi IL-10 antara kelompok penelitian

Kelompok	Kelompok Perbandingan	<i>p</i> -Value
K1	K2	0.286
	K3	0.001*
	K4	0.222
K2	K3	0.015*
	K4	0.870
K3	K4	0.021*

* $p < 0.05$ signifikasi pada uji *post hoc* LSD

Hasil uji *post hoc* LSD ekspresi IL-10 pada tabel 5.2 menunjukkan kelompok kontrol negatif dan kelompok kontrol positif memiliki hasil yang signifikan terhadap kelompok K3 yaitu kelompok perlakuan *EH-MSCs* dosis 250 μ L dengan nilai $p < 0,05$. Hasil sebaliknya didapatkan pada kelompok K4 yaitu *EH-MSCs* dosis 500 μ L yang menunjukkan hasil tidak signifikan terhadap kelompok kontrol negatif maupun kontrol positif ($p > 0,05$). Ekspresi IL-10 pada kedua kelompok *EH-MSCs* yaitu K3 terhadap K4 menunjukkan hasil yang signifikan sebesar 0.021 ($p < 0,05$). Berdasarkan data diatas didapatkan hasil bahwa *EH-MSCs* dosis 250 μ L berpengaruh dalam meningkatkan ekspresi IL-10 secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok *EH-MSCs* dosis 500 μ L. Terdapat pola peningkatan ekspresi IL-10 akibat pengaruh perlakuan *EH-MSCs* seperti yang ditampilkan pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Perubahan Ekspresi IL-10

5.1.4 Interpretasi Ekspresi *Suppressor of Cytokine Signaling 3* (SOCS3)

Hasil analisis Pengaruh *EH-MSCs* terhadap ekspresi SOCS3 pada tikus Wistar model diabetes melitus tipe 2 dianalisis pada hari ke-30 dengan nilai K1 1.09, K2 0.86, K3 0.56 dan K4 2. 0.73 (Tabel 5.3).

Tabel 5.3 Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas, dan Uji *One Way ANOVA* pada Ekspresi SOCS3

Variabel	Kelompok				Sig. (p)
	K1 n=7	K2 n=7	K3 n=7	K4 n=7	
Ekspresi SOCS3					
Mean	1.09±0.41	0.86±0.17	0.56±0.11	0.73±0.26	
Shapiro Wilk	0.80*	0.43*	0.56*	0.31*	
Levene test					0.053*
ANOVA					0.018*

* $p > 0,05$ Normal * $p > 0.05$ Homogen * $p < 0.05$ Signifikan

Tabel menunjukkan bahwa rerata ekspresi SOCS3 tertinggi pada kelompok K1 yaitu sebesar 1.09 dan diikuti oleh kelompok K2 sebesar 0.86 . Ekspresi SOCS3 terendah terdapat pada kelompok perlakuan *EH-*

MSCs yaitu kelompok K3 0.56 dan K4 0.73. Rerata ekspresi SOCS3 pada semua kelompok berdasarkan uji shapiro wilk berdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ normal. Hasil uji homogenitas menggunakan uji lavene didapatkan hasil data homogen dengan nilai $p > 0,05$ homogen. Sebaran data normal dan homogen maka analisis data menggunakan uji parametrik *one way ANOVA*. Hasil uji parametrik *one way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan signifikan pada kelompok penelitian dengan nilai $p < 0,05$.

Tabel 5.4 Perbedaan Ekspresi SOCS3 antara kelompok penelitian

Kelompok	Kelompok Perbandingan	p-Value
K1	K2	0.141
	K3	0.002*
	K4	0.030*
K2	K3	0.067
	K4	0.433
K3	K4	0.270

* $p < 0.05$ signifikasi pada uji post hoc LSD

Hasil uji *post hoc LSD* ekspresi SOCS3 pada tabel 5.4 menunjukkan kelompok kontrol negatif memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok perlakuan *EH-MSCs* baik dosis 250 μ L pada kelompok K3 dan dosis 500 μ L pada kelompok K4 dengan nilai $p < 0,05$. Hasil sebaliknya menunjukkan hasil yang tidak signifikan pada K2 terhadap kelompok perlakuan *EH-MSCs* ($p > 0,05$). Ekspresi SOCS3 pada kedua kelompok *EH-MSCs* yaitu K3 terhadap K4 juga menunjukkan hasil yang tidak signifikan sebesar 0.270 ($p > 0,05$). Berdasarkan data diatas didapatkan hasil bahwa *EH-MSCs* berpengaruh pada ekspresi SOCS3 secara signifikan dibandingkan kelompok kontrol

negatif namun tidak pada kelompok kontrol positif serta tidak ada perbedaan pengaruh perlakuan *EH-MSCs* baik dosis 250 μ L maupun dosis 500 μ L meskipun rerata penurunan ekspresi SOCS3 pada kelompok K3 dengan perlakuan *EH-MSCs* dosis 250 μ L lebih rendah dibandingkan dengan kelompok *EH-MSCs* dosis 500 μ L. Terdapat pola penurunan ekspresi SOCS3 akibat pengaruh perlakuan *EH-MSCs* seperti yang ditampilkan pada gambar 5.4.



Gambar 5.4 Perubahan Ekspresi SOCS3

5.2 Pembahasan Hasil Penelitian

Pada diabetes melitus tipe 2 (T2DM) terjadi hiperglikemia yang berdampak pada aktivasi jalur inflamasi termasuk salah satunya NF- κ B.⁸⁸ Aktivasi jalur tersebut menyebabkan makrofag pro-inflamasi M1 melepaskan berbagai pelepasan sitokin inflamasi seperti TNF- α , IL-1 dan IL-6.⁸⁸ Di antara sitokin-sitokin ini, IL-6 menunjukkan korelasi terkuat dengan resistensi insulin dan diabetes tipe 2.^{88,89} Sitokin IL-6 menginduksi ekspresi protein seluler SOCS3 yang dapat menghambat transduksi sinyal reseptor

insulin.⁸⁹ Interleukin-10 (IL-10) merupakan sitokin pleiotropik yang memiliki peran mendasar dalam memodulasi inflamasi dan menjaga homeostasis sel.⁹⁰ IL-10 terutama bertindak sebagai sitokin anti-inflamasi, melindungi tubuh dari respons imun yang tidak terkendali.⁹⁰

Pada kasus T2DM terjadi inflamasi kronis yang menyebabkan ekspresi IL-10 rendah.⁹⁰ Hal ini memberi kesan bahwa penekanan dan modulasi jalur inflamasi diharapkan dapat menekan respon inflamasi pada T2DM. Analisis kemampuan anti-inflamasi pada *EH-MSCs* pada tikus Wistar model T2DM dilakukan karena tikus Wistar merupakan mamalia dengan struktur pankreas mirip dengan manusia. Tikus Wistar diinduksi dengan STZ-NA agar menderita T2DM. Berdasarkan keterangan tersebut, maka peningkatan ekspresi IL-10 dan penurunan ekspresi SOCS3 dapat menjadi strategi pilihan terapi dalam menekan inflamasi pada T2DM.

Penelitian ini menganalisis ekspresi IL-10 yang merupakan sitokin anti-inflamasi yang berperan dalam modulasi inflamasi. Penelitian menunjukkan terdapat peningkatan ekspresi IL-10 secara signifikan pada kelompok perlakuan yang diberikan *EH-MSCs* dosis 250 μ L dibandingkan dengan kelompok perlakuan *EH-MSCs* dosis 500 μ L dan kelompok Kontrol. Peningkatan ekspresi IL-10 terjadi secara optimal pada pemberian *EH-MSCs* dosis 250 μ L. Hal ini dapat terjadi karena kandungan *microRNAs* pada *EH-MSCs* dengan dosis tertentu dapat memodulasi IL-10 yang berperan dalam menekan proses inflamasi pada T2DM secara optimal.⁸³

Hal tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya, MSC-Exos dapat meningkatkan pemulihan pada kasus sepsis melalui penekanan faktor pro-inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IFN-}\gamma$, IL-6, IL-17, dan IL-1 β dengan cara mengeluarkan faktor anti-inflamasi yang mengandung IL-4, IL-10, dan TGF- β .⁹¹ Hal ini terkait dengan dengan kontrol miR-223 dan miR-146a dalam menekan jalur inflamasi NF- κ B.⁹¹ MSC-exos dengan kandungan miR-223 dinilai memiliki efek protektif terhadap inflamasi seiring dengan bukti yang semakin meningkat menunjukkan bahwa miR-223 merupakan faktor penting dalam regulasi respon inflamasi.⁹² Potensi miR-146a juga dipelajari secara *in vitro* yaitu miR-146a yang dilepaskan dari *BM-MSCs* dikirim ke sel glia astrosit kemudian didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan laju NF- κ B terdeteksi di sel glia astrosit.⁹³ miR-146a dan miR-223 berperan besar dalam modulasi inflamasi, tidak hanya dengan menekan makrofag pro-inflamasi M1 yang dapat menginduksi $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, dan IL-1 β , namun juga meningkatkan polarisasi makrofag anti-inflamasi M2 yang ditandai dengan meningkatnya IL-10.⁹⁴ Penelitian lain yang mendukung hasil penelitian ini juga menyatakan bahwa pemberian MSC-exos telah terbukti meningkatkan IL-10 baik secara lokal (pada jaringan yang terdampak) maupun sistemik, yang berkontribusi pada modulasi inflamasi.⁹⁵ Dalam model murine gagal hati akut, MSC-exos dari sumsum tulang dan tali pusat secara signifikan meningkatkan regulasi IL-10 sekaligus mengurangi sitokin pro-inflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$, IL-6, dan IL-1 β .⁹⁵

Penelitian ini juga menganalisa ekspresi SOCS3 dimana pada penelitian ini didapatkan *EH-MSCs* berpengaruh pada ekspresi SOCS3 secara signifikan. Namun apabila dibandingkan dengan pengobatan konvensional yaitu metformin pada kelompok kontrol positif hasil menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan meskipun nilai ekspresi SOCS3 pada kelompok perlakuan *EH-MSCs* lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Tidak ada perbedaan ekspresi SOCS3 yang signifikan pada kelompok perlakuan *EH-MSCs* dosis 250 μ L dibandingkan dengan kelompok perlakuan *EH-MSCs* dosis 500 μ , nilai penurunan ekspresi SOCS3 kelompok K3 dengan perlakuan *EH-MSCs* dosis 250 μ L lebih rendah dibandingkan dengan kelompok *EH-MSCs* dosis 500 μ L maupun kelompok kontrol positif.

Temuan ini sejalan dengan studi sebelumnya yang mempelajari bahwa *EH-MSCs* dapat memodulasi ekspresi SOCS3 melalui miR-221 dan miR-455.^{96,97} SOCS3 merupakan sitokin yang terlibat dalam regulasi negatif sinyal (pengatur intensitas, durasi, dan kualitas sinyal sitokin inflamasi).⁹⁸ SOCS3 berperan dalam regulasi polarisasi makrofag M1-M2 melalui jalur *Janus kinase (JAK)/signal transducer and activator of transcription (STAT)*, sehingga modulasi SOCS3 pada saat inflamasi dapat menjadi target terapi utama.⁹⁸ Studi lain menunjukkan bahwa MSC-exos dapat memberikan efek kardioprotektif setelah infark miokard melalui mekanismenya yang melibatkan miR-25-3p dalam menargetkan protein pro-apoptosis dan EZH2, yang menghambat ekspresi eNOS dan SOCS3 sehingga berkontribusi pada penekanan inflamasi dan peningkatan pemulihan jantung.⁹⁹ Penelitian

sebelumnya juga menunjukkan bahwa MSC-exos dapat meningkatkan pemulihan kolitis akibat radiasi dengan menekan inflamasi melalui berbagai mekanisme dan mendorong perbaikan epitel usus.⁹⁶ Secara saintifik, MSC-exos mencapai efek ini dengan mensekresikan miRNA-455 yang dapat menurunkan regulasi SOCS3 dan mengaktifkan jalur STAT.⁹⁶ MSC-exos meningkatkan ekspresi gen yang terkait integritas epitel, meningkatkan proliferasi dan menghambat apoptosis sel induk usus.⁹⁶

5.3 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini terdapat keterbatasan pada penurunan SOCS3 dimana kontrol negatif dan kontrol positif menunjukkan tidak ada perbedaan, hal ini sangat dipengaruhi oleh :

Tidak Melibatkan Analisis Jalur Molekuler Lengkap

Penelitian ini hanya menilai ekspresi SOCS3 tanpa menganalisis komponen lain dalam jalur JAK/STAT seperti JAK1, STAT3, atau IL-6. Padahal, ekspresi SOCS3 erat kaitannya dengan aktivasi molekul-molekul tersebut.^{100,101}

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Terdapat pengaruh signifikan pemberian EH-MSD dosis 250 μ L terhadap ekspresi IL-10 pada Tikus Galur Wistar model diabetes melitus tipe 2 pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol.
2. Terdapat pengaruh signifikan pemberian EH-MSD dosis 250 μ L terhadap ekspresi SOCS3 pada Tikus Galur Wistar model diabetes melitus tipe 2 pada kelompok perlakuan dibanding kelompok kontrol.

6.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk menyelidiki komponen lain dalam jalur JAK/STAT seperti JAK1, STAT3, atau IL-6.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soelistijo S. Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. *Global Initiative for Asthma*. Published online 2021:46.
2. Wahidin M, Achadi A, Besral B, Kosen S, Nadjib M, Nurwahyuni A, Ronoatmodjo S, Rahajeng E, Pane M, Kusuma D. Projection of diabetes morbidity and mortality till 2045 in Indonesia based on risk factors and NCD prevention and control programs. *Sci Rep*. 2024;14(1):1-17. doi:10.1038/s41598-024-54563-2
3. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1(July):1-23. doi:10.1038/nrdp.2015.194
4. Falasca M, Maffucci T, Acosta-Martinez M, Cabail MZ. The PI3K/Akt Pathway in Meta-Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol 23, Page 15330. 2022;23(23):15330. doi:10.3390/IJMS232315330
5. Yadav S, Maity P. The Opportunities and Challenges of Mesenchymal Stem Cells-Derived Exosomes in Theranostics and Regenerative Medicine. Published online 2024:1-26.
6. Webber S. *International Diabetes Federation*. Vol 102.; 2013. doi:10.1016/j.diabres.2013.10.013
7. Dinas Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar. *Diabetes Mellitus*. Published online 2013:87-90. doi:1 Desember 2013
8. Association AD. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2018. *Diabetes Care*. 2018;41(Supplement_1):S13-S27. doi:10.2337/DC18-S002
9. Tsalamandris S, Antonopoulos AS, Oikonomou E, Papamikroulis GA, Vogiatzi G, Papaioannou S, Deftereos S, Tousoulis D. The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. *European Cardiology Review*. 2019;14(1):50. doi:10.15420/ECR.2018.33.1
10. Cao L, Wang Z, Wan W. Suppressor of cytokine signaling 3: Emerging role linking central insulin resistance and Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2018;12(JUN):323321. doi:10.3389/FNINS.2018.00417/BIBTEX
11. Rieusset J, Bouzakri K, Chevillotte E, Ricard N, Jacquet D, Bastard JP, Laville M, Vidal H. Suppressor of Cytokine Signaling 3 Expression and Insulin Resistance in Skeletal Muscle of Obese and Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes*. 2004;53(9):2232-2241. doi:10.2337/diabetes.53.9.2232
12. Novianti Y, Nur'aeny N. Exploring Interleukin-10 Levels in Diabetes Patients with and without Oral Diseases: A Systematic Review. *J Inflamm Res*. 2024;17(January):541-552. doi:10.2147/JIR.S449546
13. Venkat P, Zacharek A, Landschoot-Ward J, Wang F, Culmone L, Chen Z, Chopp M, Chen J. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells harvested from type two diabetes rats promotes neurorestorative effects

- after stroke in type two diabetes rats. *Exp Neurol*. 2020;334:113456. doi:10.1016/J.EXPNEUROL.2020.113456
14. Tan Y, Nie W, Chen C, He X, Xu Y, Ma X, Zhang J, Tan M, Rong P, Wang W. Mesenchymal stem cells alleviate hypoxia-induced oxidative stress and enhance the pro-survival pathways in porcine islets. *Exp Biol Med* (Maywood). 2019 Jun;244(9):781-788. doi: 10.1177/1535370219844472. Epub 2019 May 1. PMID: 31042075; PMCID: PMC6567589
 15. Cheng P, Xie X, Hu L, Zhou W, Mi B, Xiong Y, Xue H, Zhang K, Zhang Y, Hu Y, Chen L, Zha K, Lv B, Lin Z, Lin C, Dai G, Hu Y, Yu T, Hu H, Liu G, Zhang Y. Hypoxia endothelial cells-derived exosomes facilitate diabetic wound healing through improving endothelial cell function and promoting M2 macrophages polarization. *Bioact Mater*. 2023 Nov 10;33:157-173. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.10.020. PMID: 38034500; PMCID: PMC10681882.
 16. Satyadev N, Rivera MI, Nikolov NK, Fakoya AOJ. Exosomes as biomarkers and therapy in type 2 diabetes mellitus and associated complications. *Front Physiol*. 2023;14(September):1-21. doi:10.3389/fphys.2023.1241096
 16. Satyadev N, Rivera MI, Nikolov NK, Fakoya AOJ. Exosomes as biomarkers and therapy in type 2 diabetes mellitus and associated complications. *Front Physiol*. 2023;14(September):1-21. doi:10.3389/fphys.2023.1241096
 17. Shalaby MS, Abdel-Reheim ES, Almanaa TN, Alhaber LA, Nabil A, Ahmed OM, Elwan M, Abdel-Moneim A. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell conditioned media on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Regen Ther*. 2025;28:1-11. doi:10.1016/J.RETH.2024.11.004
 18. Y. Khalil D, H. Hussein R, M. El-Kholy W. ANTI-INFLAMMATORY AND ANTI-APOPTOTIC THERAPEUTIC EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELLS-DERIVED EXOSOMES ON THE PANCREAS OF STREPTOZOTOCIN-DIABETIC RATS. *Int J Adv Res (Indore)*. 2024;12(08):1188-1199. doi:10.21474/IJAR01/19362
 19. Młynarska E, Czarnik W, Dzieża N, Jędraszak W, Majchrowicz G, Prusinowski F, Stabrawa M, Rysz J, Franczyk B. Type 2 Diabetes Mellitus: New Pathogenetic Mechanisms, Treatment and the Most Important Complications. *International Journal of Molecular Sciences* 2025, Vol 26, Page 1094. 2025;26(3):1094. doi:10.3390/IJMS26031094
 20. Lu X, Xie Q, Pan X, Zhang R, Zhang X, Peng G, Zhang Y, Shen S, Tong N. Type 2 diabetes mellitus in adults: pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1):262. doi:10.1038/s41392-024-01951-9
 21. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. *Pedoman Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia*. PB Perkeni; 2021.
 22. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Med J*. 2012;27(4):269-273. doi:10.5001/omj.2012.68

23. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, Ostolaza H, Martín C. Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(17):6275. doi:10.3390/ijms21176275
24. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* 2006;444(7121):860-867. doi:10.1038/nature05485
25. Nauck MA, Quast DR, Wefers J, Meier JJ. GLP-1 receptor agonists in the treatment of type 2 diabetes – state-of-the-art. *Mol Metab.* 2021;46(October):101102. doi:10.1016/j.molmet.2020.101102
26. Wickramasinghe ASD, Attanayake AP, Kalansuriya P. Biochemical characterization of high fat diet fed and low dose streptozotocin induced diabetic Wistar rat model. *J Pharmacol Toxicol Methods.* 2022;113. doi:10.1016/j.vascn.2021.107144
27. Akbarzadeh A, Norouzzian D, Mehrabi MR, Jamshidi Sh, Farhangi A, Verdi AA, Mofidian SM, Rad BL. Induction of diabetes by Streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry.* 2007;22(2):60-64. doi:10.1007/BF02913315
28. Yan LJ. The Nicotinamide/Streptozotocin Rodent Model of Type 2 Diabetes: Renal Pathophysiology and Redox Imbalance Features. *Biomolecules.* 2022;12(9):1225. doi:10.3390/biom12091225
29. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, Novelli M, Ribes G. Experimental NIDDM: Development of a New Model in Adult Rats Administered Streptozotocin and Nicotinamide. *Diabetes.* 1998;47(2):224-229. doi:10.2337/diab.47.2.224
30. Fan B, Li C, Szalad A, Wang L, Pan W, Zhang R, Chopp M, Zhang ZG, Liu XS. Mesenchymal stromal cell-derived exosomes. 2021;63(2):431-443. doi:10.1007/s00125-019-05043-0.Mesenchymal
31. Saxton RA, Tsutsumi N, Su LL, Abhiraman GC, Mohan K, Henneberg LT, Aduri NG, Gati C, Garcia KC. Structure-based decoupling of the pro- and anti-inflammatory functions of interleukin-10. *Science.* 2021 Mar 19;371(6535):eabc8433. doi: 10.1126/science.abc8433. PMID: 33737461; PMCID: PMC9132103.
32. Carlini V, Noonan DM, Abdalalem E, Goletti D, Sansone C, Calabrone L, Albin A. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. *Front Immunol.* 2023;14(June):1-19. doi:10.3389/fimmu.2023.1161067
33. Sarris AH, Kliche KO, Pethambaram P, Preti A, Tucker S, Jackow C, Messina O, Pugh W, Hagemester FB, McLaughlin P, Rodriguez MA, Romaguera J, Fritsche H, Witzig T, Duvic M, Andreeff M, Cabanillas F. Interleukin-10 levels are often elevated in serum of adults with Hodgkin's disease and are associated with inferior failure-free survival. *Annals of Oncology.* 1999;10(4):433-440. doi:10.1023/A:1008301602785
34. Wang H, Xu W, Shao Q, Ding Q. miR-21 silencing ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting the differentiation of IL-10-producing B cells. *Oncotarget.* 2017;8(55):94069. doi:10.18632/ONCOTARGET.21578

35. Sharma A, Kumar M, Aich J, Hariharan M, Brahmachari SK, Agrawal A, Ghosh B. Posttranscriptional regulation of interleukin-10 expression by hsa-miR-106a. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Apr 7;106(14):5761-6. doi: 10.1073/pnas.0808743106. Epub 2009 Mar 23. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Jun 2;117(22):12498-12499. doi: 10.1073/pnas.2006676117. PMID: 19307576; PMCID: PMC2659714.
36. Curtale G, Mirolo M, Renzi TA, Rossato M, Bazzoni F, Locati M. IL-10-induced microRNA-187 negatively regulates TNF- α , IL-6, and IL-12p40 production in TLR4-stimulated monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109(45). doi:10.1073/pnas.1209100109
37. Chatterjee B, Saha P, Bose S, Shukla D, Chatterjee N, Kumar S, Tripathi PP, Srivastava AK. MicroRNAs: Key modulators of inflammation-associated diseases. *Semin Cell Dev Biol*. 2024;154(Pt C):364-373. doi:10.1016/J.SEMCDB.2023.01.009,
38. Ma F, Liu X, Li D, Wang P, Li N, Lu L, Cao X. MicroRNA-466l upregulates IL-10 expression in TLR-triggered macrophages by antagonizing RNA-binding protein tristetraprolin-mediated IL-10 mRNA degradation. *J Immunol*. 2010 Jun 1;184(11):6053-9. doi: 10.4049/jimmunol.0902308. Epub 2010 Apr 21. PMID: 20410487.
39. Aguirre-Alvarado, C.; Cortes-Vázquez, M.Á.; Pérez-González, Y.S.; Meza-Sánchez, D.E.; Nuñez-Enriquez, J.C.; Pinto-Cardoso, S.M.; Bekker-Méndez, V.C. Elevated IL-6 and IL-10 Levels as Prognostic Biomarkers in COVID-19 Pneumonia: A Comparative Study in Mexican Patients. *Healthcare* 2025, 13, 1245.
40. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi:10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30
41. Sarris AH, Kliche KO, Pethambaram P, Preti A, Tucker S, Jackow C, Messina O, Pugh W, Hagemester FB, McLaughlin P, Rodriguez MA, Romaguera J, Fritsche H, Witzig T, Duvic M, Andreeff M, Cabanillas F. Interleukin-10 levels are often elevated in serum of adults with Hodgkin's disease and are associated with inferior failure-free survival. *Ann Oncol*. 1999 Apr;10(4):433-40. doi: 10.1023/a:1008301602785. PMID: 10370786.
42. Falasca M, Maffucci T, Acosta-Martinez M, Cabail MZ. The PI3K/Akt Pathway in Meta-Inflammation. *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol 23, Page 15330. 2022;23(23):15330. doi:10.3390/IJMS232315330
43. Jorgensen SB, O'Neill HM, Sylow L, Honeyman J, Hewitt KA, Palanivel R, Fullerton MD, Öberg L, Balendran A, Galic S, van der Poel C, Trounce IA, Lynch GS, Schertzer JD, Steinberg GR. Deletion of skeletal muscle SOCS3 prevents insulin resistance in obesity. *Diabetes*. 2013 Jan;62(1):56-64. doi: 10.2337/db12-0443. Epub 2012 Sep 6. PMID: 22961088; PMCID: PMC3526029.
44. Ye J, Zheng R, Wang Q, Liao L, Ying Y, Lu H, Cianflone K, Ning Q, Luo X. Downregulating SOCS3 with siRNA ameliorates insulin signaling and glucose metabolism in hepatocytes of IUGR rats with catch-up growth.

- Pediatr Res. 2012 Dec;72(6):550-9. doi: 10.1038/pr.2012.123. Epub 2012 Sep 24. PMID: 23007031.
45. Serrano-Marco L, Rodríguez-Calvo R, El Kochairi I, Palomer X, Michalik L, Wahli W, Vázquez-Carrera M. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor- β - δ (PPAR- β - δ) ameliorates insulin signaling and reduces SOCS3 levels by inhibiting STAT3 in interleukin-6-stimulated adipocytes. *Diabetes*. 2011 Jul;60(7):1990-9. doi: 10.2337/db10-0704. Epub 2011 May 26. PMID: 21617181; PMCID: PMC3121427.
 46. Emamgholipour S, Esmaeili F, Shabani M, Hasanpour SZ, Pilehvari M, Zabihi-Mahmoudabadi H, Motevasseli M, Shanaki M. Alterations of SOCS1 and SOCS3 transcript levels, but not promoter methylation levels in subcutaneous adipose tissues in obese women. *BMC Endocr Disord*. 2023 Jan 6;23(1):7. doi: 10.1186/s12902-022-01247-5. PMID: 36609306; PMCID: PMC9817302.
 47. Hmadcha A, Martin-Montalvo A, Gauthier BR, Soria B, Capilla-Gonzalez V. Therapeutic Potential of Mesenchymal Stem Cells for Cancer Therapy. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(February):1-13. doi:10.3389/fbioe.2020.00043
 48. Dong J, Wu B, Tian W. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells (hypoMSCs-Exo): advantages in disease treatment. *Cell Tissue Res*. 2023;392(3):621-629. doi:10.1007/S00441-023-03758-6,
 49. Jiao YR, Chen KX, Tang X, Tang YL, Yang HL, Yin YL, Li CJ. Exosomes derived from mesenchymal stem cells in diabetes and diabetic complications. *Cell Death Dis*. 2024 Apr 17;15(4):271. doi: 10.1038/s41419-024-06659-w. PMID: 38632264; PMCID: PMC11024187.
 50. Hu JC, Zheng CX, Sui BD, Liu WJ, Jin Y. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: A novel and potential remedy for cutaneous wound healing and regeneration. *World J Stem Cells*. 2022;14(5):318-329. doi:10.4252/wjsc.v14.i5.318
 51. Shi H, Yang Z, Cui J, Tao H, Ma R, Zhao Y. Mesenchymal stem cell-derived exosomes: a promising alternative in the therapy of preeclampsia. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1):1-12. doi:10.1186/s13287-024-03652-0
 52. Merimi M, El-Majzoub R, Lagneaux L, Moussa Agha D, Bouhtit F, Meuleman N, Fahmi H, Lewalle P, Fayyad-Kazan M, Najar M. The Therapeutic Potential of Mesenchymal Stromal Cells for Regenerative Medicine: Current Knowledge and Future Understandings. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Aug 18;9:661532. doi: 10.3389/fcell.2021.661532. PMID: 34490235; PMCID: PMC8416483.
 53. Guan YT, Xie Y, Li DS, Zhu YY, Zhang XL, Feng YL, Chen YP, Xu LJ, Liao PF, Wang G. Comparison of biological characteristics of mesenchymal stem cells derived from the human umbilical cord and decidua parietalis. *Mol Med Rep*. 2019 Jul;20(1):633-639. doi: 10.3892/mmr.2019.10286. Epub 2019 May 23. PMID: 31180542; PMCID: PMC6579987.
 54. Bobis S, Jarocha D, Majka M. Mesenchymal stem cells: Characteristics and clinical applications. *Folia Histochem Cytobiol*. 2006;44(4):215-230. doi:10.4252/wjsc.v2.i4.67

55. Yin H Bin, Tian X, Yang CH, Gao XH. Mesenchymal stem cells: Biological characteristics and clinical application. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*. 2014;18(14):2282-2289. doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2014.14.024
56. Zhuo H, Chen Y, Zhao G. Advances in application of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Front Cell Dev Biol*. 2024;12. doi:10.3389/FCELL.2024.1446050,
57. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022;28(5):966-977. doi:10.1089/ten.teb.2021.0145
58. Ejtehadifar M, Shamsasenjan K, Movassaghpour A, Akbarzadehlaleh P, Dehdilani N, Abbasi P, Molaeipour Z, Saleh M. The Effect of Hypoxia on Mesenchymal Stem Cell Biology. *Adv Pharm Bull*. 2015 Jun;5(2):141-9. doi: 10.15171/apb.2015.021. Epub 2015 Jun 1. PMID: 26236651; PMCID: PMC4517092.
59. Zhuo H, Chen Y, Zhao G. Advances in application of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Front Cell Dev Biol*. 2024;12(August):1-8. doi:10.3389/fcell.2024.1446050
60. Song J, Hou M, Guo Y, Peng H, Liu S, Zhu J, Wang Q, Li J, Yi C, Li H. Hypoxia-Preconditioned Adipose Stem Cell Exosomes Promote Adipose Graft Vascular Regeneration via miRNA-126. *Aesthetic Plast Surg*. 2025 May;49(9):2588-2599. doi: 10.1007/s00266-024-04645-3. Epub 2025 Jan 6. PMID: 39762395.
61. Song J, Hou M, Guo Y, Peng H, Liu S, Zhu J, Wang Q, Li J, Yi C, Li H. Hypoxia-Preconditioned Adipose Stem Cell Exosomes Promote Adipose Graft Vascular Regeneration via miRNA-126. *Aesthetic Plast Surg*. 2025 May;49(9):2588-2599. doi: 10.1007/s00266-024-04645-3. Epub 2025 Jan 6. PMID: 39762395
62. He Q, Wang L, Zhao R, Yan F, Sha S, Cui C, Song J, Hu H, Guo X, Yang M, Cui Y, Sun Y, Sun Z, Liu F, Dong M, Hou X, Chen L. Mesenchymal stem cell-derived exosomes exert ameliorative effects in type 2 diabetes by improving hepatic glucose and lipid metabolism via enhancing autophagy. *Stem Cell Res Ther*. 2020 Jun 8;11(1):223. doi: 10.1186/s13287-020-01731-6. Retraction in: *Stem Cell Res Ther*. 2022 Oct 20;13(1):505. doi: 10.1186/s13287-022-03191-6. PMID: 32513303; PMCID: PMC7278170.
63. Yang M, Chen J, Chen L. The roles of mesenchymal stem cell-derived exosomes in diabetes mellitus and its related complications. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13(October):1-16. doi:10.3389/fendo.2022.1027686
64. Xiong J, Hu H, Guo R, Wang H, Jiang H. Mesenchymal Stem Cell Exosomes as a New Strategy for the Treatment of Diabetes Complications. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12(April):1-10. doi:10.3389/fendo.2021.646233
65. Wang A, Li B, Su W, Zhang H, Hu R, Zhang Y, Zhao J, Ren R, Mu Y, Cheng Y, Lyu Z. Exosomes derived from diabetic microenvironment-preconditioned mesenchymal stem cells ameliorate nonalcoholic fatty liver

- disease and inhibit pyroptosis of hepatocytes. *Exp Cell Res.* 2024 Dec 1;443(2):114325. doi: 10.1016/j.yexcr.2024.114325. Epub 2024 Nov 7. PMID: 39521106.
66. Ling MTM, Govindaraju K, Lokanathan Y, Abidin AZ, Ibrahim B. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles for metabolic syndrome therapy: Assessing efficacy with nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Cell Biochem Funct.* 2023;41(8):1044-1059. doi:10.1002/cbf.3881
 67. Li Y, Tan J, Miao Y, Zhang Q. MicroRNA in extracellular vesicles regulates inflammation through macrophages under hypoxia. *Cell Death Discov.* 2021;7(1). doi:10.1038/s41420-021-00670-2
 68. Alexander M, Hu R, Runtsch MC, Kagele DA, Mosbrugger TL, Tolmachova T, Seabra MC, Round JL, Ward DM, O'Connell RM. Exosome-delivered microRNAs modulate the inflammatory response to endotoxin. *Nat Commun.* 2015 Jun 18;6:7321. doi: 10.1038/ncomms8321. PMID: 26084661; PMCID: PMC4557301.
 69. Bashir H, Majid S, Khan MS, Bhat MH, Hamid R, Ashraf R, Faiz S. Inter-relationship of Pro- and Anti- inflammatory Biomarkers with the development of Type 2 Diabetes Mellitus. *Heliyon.* 2022 Oct 31;8(11):e11329. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e11329. PMID: 36387548; PMCID: PMC9641208.
 70. Naz S, Shafique N, Sharif S, Manzoor F, Saifi SZ, Firasat S, Kaul H. Association of Interleukin 10 (IL-10) Gene with Type 2 Diabetes Mellitus by Single Nucleotide Polymorphism of Its Promotor Region G/A 1082. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr.* 2020;30(4):285-289. doi: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2020030714. PMID: 32894658.
 71. Hong EG, Ko HJ, Cho YR, Kim HJ, Ma Z, Yu TY, Friedline RH, Kurt-Jones E, Finberg R, Fischer MA, Granger EL, Norbury CC, Hauschka SD, Philbrick WM, Lee CG, Elias JA, Kim JK. Interleukin-10 prevents diet-induced insulin resistance by attenuating macrophage and cytokine response in skeletal muscle. *Diabetes.* 2009 Nov;58(11):2525-35. doi: 10.2337/db08-1261. Epub 2009 Aug 18. PMID: 19690064; PMCID: PMC2768157.
 72. Barry JC, Shakibakho S, Durrer C, Simtchouk S, Jawanda KK, Cheung ST, Mui AL, Little JP. Hyporesponsiveness to the anti-inflammatory action of interleukin-10 in type 2 diabetes. *Sci Rep.* 2016 Feb 17;6:21244. doi: 10.1038/srep21244. PMID: 26883847; PMCID: PMC4756700.
 73. Frankowski R, Kobierecki M, Wittczak A, Różycka-Kosmalska M, Pietras T, Sipowicz K, Kosmalski M. Type 2 Diabetes Mellitus, Non-Alcoholic Fatty Liver Disease, and Metabolic Repercussions: The Vicious Cycle and Its Interplay with Inflammation. *Int J Mol Sci.* 2023 Jun 2;24(11):9677. doi: 10.3390/ijms24119677. PMID: 37298632; PMCID: PMC10254034.
 74. Tanti JF, Ceppo F, Jager J, Berthou F. Implication of inflammatory signaling pathways in obesity-induced insulin resistance. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;3(JAN). doi:10.3389/fendo.2012.00181

75. Howard JK, Flier JS. Attenuation of leptin and insulin signaling by SOCS proteins. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2006;17(9):365-371. doi:10.1016/j.tem.2006.09.007
76. Almeria C, Weiss R, Roy M, Tripisciano C, Kasper C, Weber V, Egger D. Hypoxia Conditioned Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Induce Increased Vascular Tube Formation in vitro. *Front Bioeng Biotechnol*. 2019 Oct 23;7:292. doi: 10.3389/fbioe.2019.00292. PMID: 31709251; PMCID: PMC6819375.
77. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022;28(5):966-977. doi:10.1089/TEN.TEB.2021.0145,
78. Beegle J, Lakatos K, Kalomoiris S, Stewart H, Isseroff RR, Nolte JA, Fierro FA. Hypoxic preconditioning of mesenchymal stromal cells induces metabolic changes, enhances survival, and promotes cell retention in vivo. *Stem Cells*. 2015 Jun;33(6):1818-28. doi: 10.1002/stem.1976. Epub 2015 May 11. PMID: 25702874; PMCID: PMC10757456.
79. 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):453-472. doi:10.4252/wjsc.v14.i7.453
80. Han YS, Lee JH, Yoon YM, Yun CW, Noh H, Lee SH. Hypoxia-induced expression of cellular prion protein improves the therapeutic potential of mesenchymal stem cells. *Cell Death Dis*. 2016;7(10):1-11. doi:10.1038/cddis.2016.310
81. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022;28(5):966-977. doi:10.1089/ten.teb.2021.0145
82. Yang M, Chen J, Chen L. The roles of mesenchymal stem cell-derived exosomes in diabetes mellitus and its related complications. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1027686. doi:10.3389/FENDO.2022.1027686/XML/NLM
83. Liang ZY, Xu XJ, Rao J, Yang ZL, Wang CH, Chen CM. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomal MiRNAs Promote M2 Macrophages Polarization: Therapeutic Opportunities for Spinal Cord Injury. *Front Mol Neurosci*. 2022;15:926928. doi:10.3389/FNMOL.2022.926928/BIBTEX
84. Xu G, Yang F, Ding CL, Wang J, Zhao P, Wang W, Ren H. MiR-221 accentuates IFN's anti-HCV effect by downregulating SOCS1 and SOCS3. *Virology*. 2014 Aug;462-463:343-50. doi: 10.1016/j.virol.2014.06.024. Epub 2014 Jul 12. PMID: 25019494.
85. Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, Chavey C, Freidinger K, Hilton DJ, Hotamisligil GS, Van Obberghen E. SOCS-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue of obese mice. *J Biol Chem*. 2001 Dec 21;276(51):47944-9. doi: 10.1074/jbc.M104602200. Epub 2001 Oct 16. PMID: 11604392.

86. Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal stem cell-based immunomodulation: Properties and clinical application. *Stem Cells Int.* 2018;2018. doi:10.1155/2018/3057624
87. Magalhães DA, Kume WT, Correia FS, Queiroz TS, Allebrandt Neto EW, Santos MPD, Kawashita NH, França SA. High-fat diet and streptozotocin in the induction of type 2 diabetes mellitus: a new proposal. *An Acad Bras Cienc.* 2019 Mar 21;91(1):e20180314. doi: 10.1590/0001-3765201920180314. PMID: 30916157.
88. Chen X, Liu Z, Liu W, Wang S, Jiang R, Hu K, Sheng L, Xu G, Kou X, Song Y. NF- κ B-Inducing Kinase Provokes Insulin Resistance in Skeletal Muscle of Obese Mice. *Inflammation.* 2023 Aug;46(4):1445-1457. doi: 10.1007/s10753-023-01820-7. Epub 2023 May 12. PMID: 37171694.
89. Rieusset J, Bouzakri K, Chevillotte E, Ricard N, Jacquet D, Bastard JP, Laville M, Vidal H. Suppressor of cytokine signaling 3 expression and insulin resistance in skeletal muscle of obese and type 2 diabetic patients. *Diabetes.* 2004 Sep;53(9):2232-41. doi: 10.2337/diabetes.53.9.2232. PMID: 15331532.
90. Carlini V, Noonan DM, Abdalalem E, Goletti D, Sansone C, Calabrone L, Albini A. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. *Front Immunol.* 2023 Jun 8;14:1161067. doi: 10.3389/fimmu.2023.1161067. PMID: 37359549; PMCID: PMC10287165.
91. Oveili E, Vafaei S, Bazavar H, Eslami Y, Mamaghanizadeh E, Yasamineh S, Gholizadeh O. The potential use of mesenchymal stem cells-derived exosomes as microRNAs delivery systems in different diseases. *Cell Commun Signal.* 2023 Jan 23;21(1):20. doi: 10.1186/s12964-022-01017-9. PMID: 36690996; PMCID: PMC9869323.
92. Wang X, Gu H, Qin D, Yang L, Huang W, Essandoh K, Wang Y, Caldwell CC, Peng T, Zingarelli B, Fan GC. Exosomal miR-223 Contributes to Mesenchymal Stem Cell-Elicited Cardioprotection in Polymicrobial Sepsis. *Sci Rep.* 2015 Sep 8;5:13721. doi: 10.1038/srep13721. PMID: 26348153; PMCID: PMC4562230.
93. Nakano M, Kubota K, Kobayashi E, Chikenji TS, Saito Y, Konari N, Fujimiya M. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells improve cognitive impairment in an Alzheimer's disease model by increasing the expression of microRNA-146a in hippocampus. *Sci Rep.* 2020 Jul 1;10(1):10772. doi: 10.1038/s41598-020-67460-1. PMID: 32612165; PMCID: PMC7330036.
94. Martin-Rufino JD, Espinosa-Lara N, Osugui L, Sanchez-Guijo F. Targeting the Immune System With Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles: What Is the Cargo's Mechanism of Action? *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:482639. doi:10.3389/FBIOE.2019.00308/XML/NLM
95. Zhou B, Ba T, Wang L, Li Y. Research progress of mesenchymal stem cell exosomes in multiple organ inflammatory diseases. *Discussion of Clinical Cases.* 2024;10(3):12. doi:10.5430/dcc.v10n3p12

96. Huang C, Li H, Zhang Z, Mou T, Wang D, Li C, Tian L, Zong C. From Mechanism to Therapy: The Role of MSC-EVs in Alleviating Radiation-Induced Injuries. *Pharmaceutics*. 2025 May 16;17(5):652. doi: 10.3390/pharmaceutics17050652. PMID: 40430942; PMCID: PMC12114651.
97. Liu W, Long Q, Zhang W, Zeng D, Hu B, Liu S, Chen L. miRNA-221-3p derived from M2-polarized tumor-associated macrophage exosomes aggravates the growth and metastasis of osteosarcoma through SOCS3/JAK2/STAT3 axis. *Aging (Albany NY)*. 2021 Aug 13;13(15):19760-19775. doi: 10.18632/aging.203388. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34388111; PMCID: PMC8386545.
98. Kim YE, Sung DK, Bang Y, Sung SI, Yang M, Ahn SY, Chang YS. SOCS3 Protein Mediates the Therapeutic Efficacy of Mesenchymal Stem Cells against Acute Lung Injury. *Int J Mol Sci*. 2023 May 4;24(9):8256. doi: 10.3390/ijms24098256. PMID: 37175961; PMCID: PMC10179427.
99. Peng Y, Zhao JL, Peng ZY, Xu WF, Yu GL. Exosomal miR-25-3p from mesenchymal stem cells alleviates myocardial infarction by targeting pro-apoptotic proteins and EZH2. *Cell Death Dis*. 2020;11(5):1-15. doi:10.1038/S41419-020-2545-6;SUBJMETA=631,692,699,75,80,82;KWRD=CARDIOVASCULAR+DISEASES,CELL+DEATH
100. Xiao H, Gu Z, Wang G, Zhao T. The possible mechanisms underlying the impairment of HIF-1 α pathway signaling in hyperglycemia and the beneficial effects of certain therapies. *Int J Med Sci*. 2013;10(10):1412.
101. Kubo M, Hanada T, Yoshimura A. The SOCS family and regulation of JAK-STAT signaling. *Cytokine Growth Factor*. 2003;4:379-387.

