

**PENGARUH *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM*
CELLS PADA PERBAIKAN MODEL *PSORIASIS-LIKE*
MELALUI EKSPRESI IL-17 DAN IL-10**
(Studi Eksperimental *In Vivo* pada tikus Galur Wistar model psoriasis-like)

Tesis

Untuk Memenuhi Sebagian Persyaratan Mencapai Derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Tunggadewi Jiwandaru
MBK 24.23.01.0474

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

TESIS

PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL *STEM CELLS* PADA PERBAIKAN MODEL PSORIASIS-LIKE MELALUI EKSPRESI IL-17 DAN IL-10

(Studi Eksperimental In Vivo pada tikus Galur Wistar model psoriasis-like)

Disusun oleh

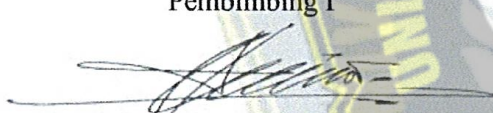
Tunggadewi Jiwandaru

MBK 24.23.01.0474

Yang telah dipertahankan di depan Tim Penguji 28 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

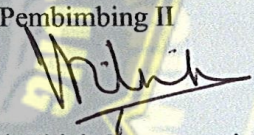
Menyetujui

Pembimbing I


Prof. Dr. dr. Agung Putra, Msi, Med
NIP. 210.199.050

Menyetujui,

Pembimbing II


Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes
NIP.220.198.045

Mengetahui,

Ketua program studi magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung




Uko Setiawan, SpB. FINACS
NIP. 210.123.10

HALAMAN PERNYATAAN

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



Semarang, 5 Juni 2025



(Tunggadewi Jiwandaru)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Tunggadewi Jiwandaru
Tempat / tanggal lahir : Jambi / 27 November 1992
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Pertiwi II Kota Jambi : Lulus tahun 1999
2. SD Hj. Isriati Baiturahman I : Lulus tahun 2001
3. SMP Kesatrian I Semarang : Lulus tahun 2007
4. SMAN 6 Semarang : Lulus tahun 2010
5. S1 FK UNISSULA : Lulus tahun 2014
6. Profesi Dokter FK UNISSULA : Lulus tahun 2016
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2023 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Ayah : Widoyono
2. Nama Ibu : Sri Priyantini M.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan izin-NyA, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis yang berjudul “PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL *STEM CELLS* PADA PERBAIKAN MODEL PSORIASIS-LIKE MELALUI EKSPRESI IL-17 DAN IL-10” Proposal Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Dengan demikian, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang mendalam kepada:

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

6. Dr.dr.Hj.Chodidjah,M.Kes selaku penguji I yang telah memberikan saran dan kritik demi kesempurnaan penyusunan hasil tesis.
 7. Prof. Dr. Siti Thomas Zulaikhah, SKM., M.Kes selaku penguji III yang telah memberikan saran, kritik dan membantu segala hal terkait dalam penyelesaian perbaikan tesis ini.
 8. Bapak, Ibu saya tercinta dan Ibu Mey Azhari yang telah memberikan doa, semangat, dukungan sehingga proposal tesis ini dapat disidangkan. Serta adik saya dan orang-orang yang peduli dengan saya dan tulus memberikan dukungannya. Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan, serta referensi yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan dan memerlukan pengembangan lebih lanjut agar benar-benar bermanfaat. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran untuk penyempurnaan proposal tesis ini, serta sebagai masukan bagi penulis dalam penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa depan.
- Akhir kata, Penulis berharap agar karya ini dapat memberikan manfaat yang berarti, bagi pengembangan ilmu pengetahuan maupun sebagai referensi bagi penelitian di masa mendatang.

ABSTRAK

Latar Belakang. Psoriasis suatu inflamasi kronik yang disebabkan gangguan beberapa jalur sinyal inflamasi yang melibatkan aktivasi dominan Th17. Pengobatan kortikosteroid, obat biologik topikal maupun injeksi hasilnya belum memuaskan. *Secretome hypoxia stem cell* (SH-MSCs) menjadi pilihan, mengingat potensi imunomodulator sekaligus imunoregulator untuk memperbaiki keseimbangan respon imun atau penguatan Treg. IL-10 mewakili aktivitas Treg, sedangkan IL-17 adalah produk utama Th17.

Tujuan. Mengetahui pengaruh SH-MSCs terhadap ekspresi IL-17 dan IL-10.

Metode. *Post-test Only Control group design* pada tikus Wistar yang semuanya diinduksi dengan imiquimod 5% 100mg selama 6 hari, dilanjutkan pemberian perlakuan hari ke 7 dosis ke 1, interval 24 jam diberikan dosis ke 2, pengambilan jaringan 4 hari paska dosis kedua. K1 inj. NaCl fisiologis s.c, K2 inj. Hydrocortison 50µl s.c, K3 inj. SH-MSC 100µl s.c, dan K4 Inj. SH-MSCs 200µl.

Hasil . Terdapat perbedaan rerata ekspresi IL-17 antara 4 kelompok ($p=0.002$). IL-17 terendah bermakna ($p<0.05$) pada kelompok K4 (injeksi SH-MSC 200µl). Terdapat perbedaan bermakna ekspresi IL-10 antara 4 kelompok ($p=0.000$). IL-10 tertinggi pada kelompok SH-MSC (K3 & K4) dengan $p<0.05$ Lesi kulit perbaikan nyata pada kelompok pemberian SH-MSC

Kesimpulan. Pemberian SH-MSC 100 µL dan 200 µL pada model *psoriasis-like* terbukti bermakna berpengaruh terhadap ekspresi IL-17 dan IL-10

Kata Kunci : Psoriasis Like, IL-17, IL-10, SH-MSCs

ABSTRACT

Introduction. Psoriasis is a chronic inflammatory disease caused by inflammatory signalling pathways involving Th17 activation. Corticosteroids, topical biological agents, haven't yielded expected results. Secretome hypoxia *stem cells* (SH-MSCs) are a promising therapeutic option, given their immunomodulatory and immunoregulatory potential, which improves the balance of the immune response or enhances Treg activity. IL-10 represents Treg activity, while IL-17 is the primary product of Th17.

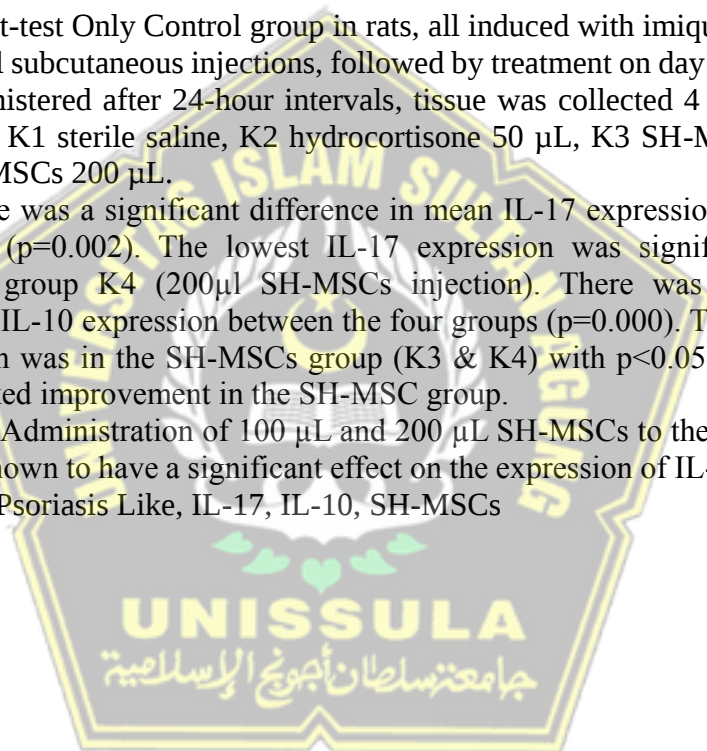
Objective. To determine the effect of SH-MSCs on the expression of IL-17 and IL-10.

Method. Post-test Only Control group in rats, all induced with imiquimod 100 mg for 6 days, all subcutaneous injections, followed by treatment on day 7 with dose 1, dose 2 administered after 24-hour intervals, tissue was collected 4 days after the second dose. K1 sterile saline, K2 hydrocortisone 50 µL, K3 SH-MSCs 100 µL, and K4 SH-MSCs 200 µL.

Result. There was a significant difference in mean IL-17 expression between the four groups ($p=0.002$). The lowest IL-17 expression was significantly lower ($p<0.05$) in group K4 (200µl SH-MSCs injection). There was a significant difference in IL-10 expression between the four groups ($p=0.000$). The highest IL-10 expression was in the SH-MSCs group (K3 & K4) with $p<0.05$. Skin lesions showed marked improvement in the SH-MSC group.

Conclusion. Administration of 100 µL and 200 µL SH-MSCs to the psoriasis-like model was shown to have a significant effect on the expression of IL-17 and IL-10.

Keywords: . Psoriasis Like, IL-17, IL-10, SH-MSCs



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK.....	viii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	x
DAFTAR SINGKATAN	xiii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiiiv
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	8
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	8
1.5.2. Manfaat Praktis.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1. Ekspresi Interleukin 17 pada psoriasis vulgaris.....	9
2.2. Ekspresi Interleukin 10 pada psoriasis vulgaris.....	11
2.3. Sekretom <i>stem cell</i> mesenkimal hipoksia	12
2.4. IL-10 mediator anti peradangan.....	18
2.5. Pemeriksaan Interleukin-17 dan Interleukin-10.....	20
2.6. Psoriasis Vulgaris.....	22
2.6.1. Patogenesis Psoriasis	23
2.6.2. Tipe Psoriasis ⁴⁴ :	25
2.7. Animal Model <i>Psoriasis-like</i>	27

BAB III KERANGKA TEORI , KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS.....	31
3.1. kerangka Teori.....	31
3.2. Kerangka Konsep.....	36
3.3. Hipotesis	36
BAB IV METODE PENELITIAN	37
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	37
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	38
4.2.1. Variabel Penelitian.....	38
4.2.2. Defenisi Operasional	38
4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian.....	39
4.3.1. Subyek Penelitian	39
4.3.2. Sampel Penelitian	39
4.4. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian.....	40
4.5. Besar Sampel	40
4.6. Alat dan Bahan.....	41
4.7. Cara Penelitian	41
4.8. Tempat dan Waktu Peneltian.....	48
4.9. Analisa Data.....	48
4.10. Alur Penelitian.....	50
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	51
5.1 Hasil Penelitian	52
5.2 Pembahasan.....	63
BAB VI KESIMPULAN.....	67
6.1 Kesimpulan	67
6.2 Saran	67
DAFTAR PUSTAKA	68

DAFTAR SINGKATAN

CCL: *C-C motif chemokine ligand*
DMEM: *Dulbecco modified eagle medium*
FBS: *Fetal Bovine Serum*
HIF1: *Hipoxia-inducible factor 1*
HLA: *Human leukocyte Antigen*
hUC-MSC : *Human Umbilical Cord Mesenchimal Stem cell*
IDO: *Indoleamin 2,3-dioxygenase*
IL-17 : *Interleukin 17*
JAK-STAT : *Janus kinase–signal transducer and activator of transcription*
kDa: *kilo Dalton*
mTor : *mammalian target of rapamycin*
NFκB: *Nuclear Factor kappa B*
NO: *Nitric Oxide*
P13Akt: *Phosphoinositide 3-kinase, protein kinase B*
PASI: *Psoriasis Area and Severity Index*
PBS: *Phosphate Buffer Saline*
PGE-2: *Prostaglandin E-2*
qPCR: *quantitative Polymerase Chain Reaction*
SH-MSC : *Secretome Hypoxia Mesenchimal Stem cell*
SNP : *Single Nucleotide Polymorphisms*
TGF-β: *Transforming Growth Factor beta*
TLF: *Transcription Factor like*
TLR: *Toll like receptor*
TNF-α : *Tumor necrosis factor alfa*
TSG-6: *stimulated Tumor necrosis factor gene-6*
TYK: *Tyrosin Kinase*
VEGF: *Vascular endothelial growth factor*

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas penelitian	5
Tabel 5.1 Perbedaan rerata Ekspresi IL-17 antar kelompok	60
Tabel 5.2. <i>P value</i> rerata Ekspresi IL-17 antara kelompok	61
Tabel 5.3 Perbedaan rerata Ekspresi IL-10 antar kelompok.....	62
Tabel 5.4 <i>P value</i> rerata Ekspresi IL-10 antara kelompok.....	62



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Proses kompleks peranan IL-17 pada psoriasis.....	10
Gambar 2. 2 Peranan STAT 3 dalam aktivasi sitokin ke target sel keratinosit serta keterlibatan T-helper 17. Baik STAT 3 di dalam sel target maupun T-helper 17 sama-sama memproduksi IL-17 berlebihan.....	14
Gambar 2. 3 Respon sel terhadap berbagai tipe <i>stem cell</i> MSC endogen pasien yang akhirnya mengakibatkan peradangan Makrofag 1 (pro-inflamasi) dan Makrofag 2 (anti-inflamasi). Serta keterlibatan interleukin 10 sebagai produk stokin dari anti inflamasi.	15
Gambar 2. 4 Berbagai sel yang mengeluarkan IL-10 beserta sel targetnya.	19
Gambar 2. 5 Patogenesis Psoriasis.....	23
Gambar 2. 6 Psoriasis eritroderma.....	27
Gambar 3. 1 Kerangka Teori.....	35
Gambar 3. 2 Kerangka Konsep.....	36
Gambar 4. 1 Skema Rancangan Penelitian.....	38
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	50
Gambar 5.1 Hasil kultur MSC.....	52
Gambar 5.2 Analisis <i>Flow cytometry</i> terhadap ekspresi CD90.1 , CD29, CD45 dan CD31.....	53
Gambar 5. 3 Gambar deferensiasi sel MSC.....	54
Gambar 5.4. Foto Komparasi Tikus sebelum induksi.....	55
Gambar 5.5 Foto makroskopis tikus sehat dan <i>psoriasis like</i>	56
Gambar 5.6 Pengamatan Lesi Kulit <i>Psoriasis Like</i>	59
Gambar 5.7 Hasil Validasi Psoriasis Like.....	59
Gambar 5.8 Grafik rerata ekspresi IL 17.....	61
Gambar 5.9 Grafik rerata ekspresi IL 10.....	62

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Psoriasis termasuk penyakit autoimun dengan manifestasi klinis plakot kemerahan berbatas tegas dengan sisik putih disertai peninggian permukaan kulit.¹ Psoriasis adalah gangguan imun jika terjadi secara terus-menerus bisa menyebabkan reaksi alergi kronik, berasal dari pengaturan tidak normal sel T (*dysregulated T cell*) lewat sel T-helper 17 yang dominan mencetuskan pelepasan Interleukin 17 (IL-17), IL-23, TNF- α sehingga terjadi autoinflamasi kronik berlanjut menjadi gangguan diferensiasi sel keratinosit dari epidermis²

ODEPA (orang dengan psoriasis) diperkirakan ada sekitar 1-3% penderita psoriasis di Indonesia.⁴ Laporan Survey Kesehatan Indonesia mengemukakan 1,6-1,7% orang terdiagnosis oleh penyakit alergi atau sekitar 877 ribu penduduk sehingga psoriasis termasuk di dalamnya.⁶ Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memaparkan psoriasis termasuk penyakit yang berpengaruh dalam mengurangi kualitas hidup seseorang karena plakot-plakot besar mengganggu keseharian dengan stigma penyakit kulit di masyarakat. Adanya perasaan takut, jijik dari anggapan masyarakat kalau penderita kurang merawat diri.⁷ Insidennya sendiri semakin meningkat seiring bertambahnya umur seseorang terutama ketika mencapai usia 50-69 tahun. Data global WHO mencatat kasus tertinggi psoriasis mencapai angka 11,4%. Psoriasis sendiri merupakan penyakit yang tidak terlalu banyak studinya di Indonesia sehingga tidak ada angka pasti berapa jumlah penderitanya.

Pengobatan psoriasis sering menggunakan kortikosteroid meskipun menimbulkan efek samping, dan penggunaan anti jamur ketoconazole. Kedua pengobatan tersebut kurang efektif untuk mengatasi efek inflamasi kronik yang terjadi, sehingga ketika pengobatan dihentikan, stratum corneum kembali membelah secara berlebihan. Pengobatan lain seperti *Methotrexate* dan *Cyclosporin* cukup efektif tetapi banyak efek samping yang berbahaya dan belum bisa mengurangi kekambuhan. Pengobatan Psoriasis yang belum memuaskan ini menjadi latar belakang masih perlunya menemukan obat yang lain.⁶ Kajian ini bertujuan untuk melihat apakah pemberian *Mesenchymal Stem cell* (MSCs) dapat menjadi pengobatan alternatif untuk memberikan hasil lebih memuaskan dibandingkan obat standar.

Penelitian sebelumnya membuktikan terapi topikal *Mesenchymal Stem cell* dosis 100 μ L & 200 μ L menurunkan sitokin proinflamasi.⁷ Meskipun kortikosteroid sama-sama memiliki efek menekan inflamasi, dan mengurangi ketebalan dari plak. Pemakaian berkepanjangan bisa menyebabkan penipisan kulit.⁸ Kortikosteroid belum efektif sebagai terapi utama psoriasis, selain itu terdapat efek samping penipisan kulit dan infeksi.⁹ Pengobatan *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem cells* (SH-MSCs) menjadi pilihan lain, karena berdasarkan riset sebelumnya MSC dan produknya (Secretome) bersifat immunoregulator yang dapat efektif dalam menangani autoimun.¹⁰ Berbagai penelitian sebelumnya menunjukkan adanya potensi dari MSCs terhadap ekspresi gen IL-17 dan IL-10 pada psoriasis.^{11 12} IL-17 dan IL-10 peranannya sangat penting pada patomekanisme inflamasi kronik Psoriasis. Psoriasis

termasuk autoimun yang dilatarbelakangi munculnya Th17 yang berlebihan pada individu akibat stimulasi berbagai rangsangan endogen maupun luar individu melalui aktivasi reseptor DC (*Dendritic Cell*). Produk utama TH17 adalah IL-17, sehingga sitokin ini tepat untuk menilai perjalanan penyakit Psoriasis.¹³ Patomekanisme melibatkan sistim *innate*, *adaptive*, dan berbagai *Inflammation signaling Pathway* yang melepaskan berbagai sitokin seperti IL-17, IL-21, TNF- α , IL-6, IL-23, IFN- α , IFN- β dan lainnya.¹⁴ MSCs berinteraksi dengan DCs dan subsets of T cells (Th1, Th2, Th17 and Tregs) untuk modulasi DCs tolerogenic yang dapat mendukung diferensiasi Th0 menjadi subset Tregs, penguatan aktivitas Treg akan meningkatkan pelepasan sitokin imunomodulator IL-10 and transforming growth Factor beta (TGF- β). Penelitian ini sangat penting untuk menilai IL-10 sebagai indikator terjadinya proses regulasi sistim imun untuk menekan aktivitas Th17.¹⁵

Beberapa studi injeksi MSCs terhadap tikus menunjukkan penurunan IL-17, IL-23 dan CCL 20.^{16 17} Penelitian lain dengan pemberian MSCs dari darah tali pusat manusia dapat menurunkan IL-6, IL-17 dan TNF- α .¹⁸ Pemberian *stem cell* dalam bentuk topikal masih perlu dikombinasikan dengan bahan lain untuk memberikan hasil memuaskan secara klinis.¹⁹

Pengembangan *stem cell* dalam terapi gangguan sistim imun terus dikembangkan. *Mesenchymall stem cells* (MSCs) , khususnya produk sekresinya yaitu *secretome* mengandung sitokin regulator TGF- β , IL-10, *growth factor* (VEGF), miRNA, IDO, PGE2 dan masih banyak lagi yang lebih

bersifat sebagai imunomodulator atau mengendalikan inflamasi yang berlebihan⁹

Studi di Cina telah menggabungkan pengobatan tradisional indirubin yang dikombinasi dengan MSC yang diambil dari tali pusat (hUC-MSCs). Sel mesenkimal sendiri termasuk sel yang imunogenesitasnya rendah, ekspansi tinggi secara in-vitro dan bisa digunakan secara efektif untuk pengobatan psoriasis.¹⁷ Sedangkan pengobatan kortikosteroid sistemik lewat oral pada penderita psoriasis eksarsebasi dilaporkan mengalami penambahan pelebaran lesi di tubuhnya, gejala radang sendi memberat sehingga sebagian besar pasiennya harus diganti pengobatannya. Hal ini diduga merupakan efek samping *rebound phenomenone* yang disebabkan dari pemakaian kortikosteroid¹¹

Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian ini untuk mengevaluasi pengaruh pemberian injeksi SH-MSCs (*Secretome Hypoxia Mesenchymall stem cells*) dosis 100 μ L & 200 μ L terhadap ekspresi IL-17 dan IL-10 pada model tikus galur Wistar *psoriasis-like*

1.2. Rumusan masalah

Apakah ada pengaruh pemberian *Secretome Hypoxia Mesenchymall stem cells* (SH-MSCs) terhadap perbaikan ekspresi IL-17 dan IL-10 tikus Wistar *Psoriasis-like*.

1.3. Tujuan Penelitian

1. Tujuan umum

Untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian SH-MSCs 100 μ L dan 200 μ L terhadap ekspresi IL-17 dan IL-10 pada tikus galur wistar model *psoriasis-like*.

2. Tujuan khusus

- Mengetahui perbedaan ekspresi IL-17 antara kelompok yang diberikan SH-MSCs 100 μ L dan 200 μ L dengan kelompok kontrol pada tikus wistar *psoriasis-like*
- Mengetahui perbedaan ekspresi IL-10 antara kelompok yang diberikan SH-MSCs 100 μ L dan 200 μ L dengan kelompok control ada tikus wistar *psoriasis-like*

1.4. Originalitas Penelitian

Berdasarkan tinjauan literatur yang penulis lakukan, penelitian tentang pemberian SH-MSCs berpengaruh terhadap ekspresi IL 10 dan IL 17 pada tikus galur wistar model *psoriasis-like* belum pernah dilakukan. Ada pula penelitian yang terkait dengan penelitian ini adalah

Tabel 1.1. Originalitas penelitian

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
Lee <i>et al.</i> 2016	Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells ameliorate psoriasis-like skin inflammation in mice.	Penelitian eksperimental dengan <i>post test only control group design</i>	Ekspreksi IL-6, IL-17 dan TNF α , kemokin CCL17, CCL20 dan CCL27, menurun. Serta studi <i>in vitro</i> menunjukan efek anti inflamasi dari MSC dan munculnya sel dendritik.
Zhang <i>et al.</i> 2020	Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate	Penelitian eksperimental dengan <i>post test only control</i>	Pemberian HucMSCs-Exo secara subkutan ke tikus diinduksi <i>Imiquimod</i> di hari 0,2 & 4. Lalu ekspresi IL-17, IL23,

Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil
	Psoriasis-like Inflammation	Skin <i>group design</i>	CCL 20, STAT3/p-STAT3 ditemukan menurun setelah diperiksa menggunakan <i>western blotting</i> , <i>flow cytometry</i> dan ELISA dengan rerata SD $p < 0,05$ dan $p < 0,01$.
Zhang <i>et al.</i> 2021	Topical Application of Mesenchymal Stem cell Exosomes Alleviates the Imiquimod Induced Psoriasis-Like Inflammation	Penelitian eksperimental dengan <i>post test only control group design</i>	Pemberian MSC eksosom topikal tiga hari berturut-turut pada tikus diinduksi <i>Imiquimod</i> selama lima hari sehingga mirip psoriasis berat, memiliki efek menurunkan IL-17, IL-23 dan aktivasi kompleks C5b-9 hasil $p < 0,05$ yang berarti signifikan.
Ren <i>et al.</i> 2023	Human Umbilical Cord- Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Psoriasis Through TNF- α /NF- κ B/ MMP13 Pathway	Penelitian eksperimental dengan <i>post test only control group design</i>	Pemberian MSC lewat infus intravena menurunkan ekspresi Rata rata ekspresi TNF- α lewat jalur NF- κ B/ MMP13 pada tikus diinduksi <i>Imiquimod</i> selama lima hari berturut-turut dengan nilai $p < 0,05$,
Carillo <i>et al.</i> 2022	Efficacy of stem cell secretome loaded in hyaluronate sponge for topical treatment of psoriasis	Penelitian eksperimental praklinis.	Pemberian MSC sekretom yang dibuat dari gelatin Wharton dengan dosis 100 mikrogram yang menunjukkan perubahan signifikan untuk perbaikan kulit
Wikanta <i>et al.</i> 2022	The Effect of Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem cells (SH-MSCs) Cream on IL-6 Gene Expression (In Vivo Study on Psoriasis-like Rats Model Induced by SH-MSCs)	Penelitian eksperimental dengan <i>post test only control group design</i>	Pemberian MSC sekretom hipoksia topikal sebanyak 100 μ L yang diinduksi <i>Imiquimod</i> 100 mg menunjukkan perubahan signifikan dengan menurunnya ekspresi gen IL-6.

Studi MSCs tahun 2016 ditemukan kalau sel MSCs dari plasenta manusia, menginhibisi aktivasi limfosit tanpa perlu melakukan penyocokan

HLA karena ekspresi molekul antigen leukosit manusia (HLA) pada MSCs sendiri rendah, sehingga bisa meregulasi respon imun. Sebelum hari ke satu dan setelah hari ke tujuh. Tikus diberikan injeksi intradermal IL-23 dan *Imiquimod* topikal. Hasilnya MSCs dapat menekan aktivitas inflamasinya

Studi beberapa tahun kemudian di Rumah Sakit Shandong 2020, membuktikan pemberian Eksosom dari plasenta manusia diberikan secara subkutan ke tikus diinduksi *Imiquimod* di hari ke dua & empat. Lalu ekspresi IL-17, IL23, CCL 20, STAT3/p-STAT3 ditemukan menurun setelah diperiksa menggunakan *western blotting*, *flow cytometry* dan ELISA, $p < 0,05$. Bukti ini menunjukkan Eksosom mencegah derajat keparahan dari Psoriasis.

Studi dari Singapura membuktikan pemberian MSCs eksosom secara topikal tiga hari berturut-turut pada tikus diinduksi *Imiquimod* selama lima hari sehingga mirip psoriasis berat, memiliki efek menurunkan IL-17, IL-23 dan menurunkan aktivasi kompleks C5b-9 pada stratum korneum dengan hasil $p < 0,05$ yang signifikan.

Studi berikut di Cina pada tahun 2023 menunjukkan, pemberian MSC lewat infus intravena menurunkan ekspresi Rata rata ekspresi TNF- α lewat jalur NF- κ B/ MMP13 pada tikus diinduksi *Imiquimod* selama lima hari berturut-turut dengan nilai $p < 0,05$.

Penelitian pada tahun 2022 sebuah penelitian eksperimental uji preklinis menggabungkan pemberian secretom yang dibuat dari gelatin Wharton menggunakan tikus yang diberi secretom 40-80 nanogram sekretom secara topikal yang dicampur spons hyaluronate dan disuntikan 100 μ g

hWJCM (*human Wharton's Jelly-derived mesenchymal stem cell secretome*) dengan menggunakan steroid *Clobetasol* sebagai *gold standart*. Hasil menunjukan adanya perbaikan skor PASI signifikan dibandingkan pemberian clobetasol dan fungsi organ tikus masih aman dan tidak menimbulkan kematian.

Penelitian terbaru tahun 2023 di Indonesia menunjukan pemakaian sekretom hipoksia secara topikal sebanyak 100 μ L dan 200 μ L menunjukan kinerja yang baik dengan memperbaiki kondisi *psoriasis-like* dan menurunkan ekspresi gen IL-6.

Perbedaan dengan penelitian-penelitian sebelumnya adalah penelitian ini menggunakan MSC sekretom dan adanya penambahan variabel IL-10 yang studinya tidak sesering IL-17 & IL-23.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Mengembangkan ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian pemberian sekretom hipoxia mesenkimal stem sel berpengaruh terhadap ekspresi IL-10 dan IL-17 pada tikus galur wistar model psoriasis-like.

Selain itu hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan penelitian selanjutnya.

1.5.2. Manfaat Praktis

Mengembangkan penggunaan bahan alternatif salah satunya tentang pengaruh pemberian pemberian sekretom hipoxia mesenkimal

stem sel berpengaruh terhadap ekspresi IL 10 dan IL17 pada tikus galur wistar model psoriasis-like.



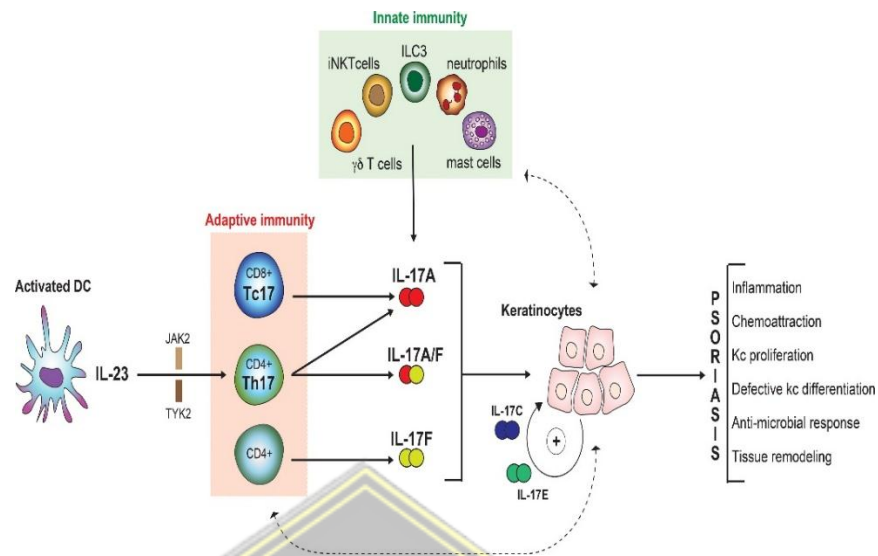
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekspresi Interleukin 17 pada psoriasis vulgaris

Interleukin sendiri adalah sekelompok sitokin yang diekspresikan oleh leukosit. Salah satunya adalah Interleukin 17. IL-17 sendiri terdiri dari IL-17A dan IL-17F yang terlibat dalam patogenesis psoriasis. Kedua interleukin ini paling banyak ditemukan di lesi kulit psoriasis dengan peningkatan protein secara signifikan.¹² IL-17 yang dikeluarkan oleh Sel T helper CD4⁺ Se. IL-17 A merangsang reaksi keratinosit serta rangsangan sel lain.¹³ Interleukin 17 sendiri adalah produk yang dihasilkan oleh fenotip sel T-Helper 17 disamping mengaktifkan sel Plasmasitoid dendritik yang awalnya sama-sama berupa sel Limfosit T naif.¹⁴

Keratinosit sendiri memiliki peran utama dalam patofisiologi psoriasis. Keratinosit memainkan fungsi penting dalam melepaskan kemokin, sitokin dan meningkatkan aktivitas inflamasi.¹⁵ Keratinosit yang distimulasi dan pasien dalam posisi stress melepaskan nukleotida miliknya sendiri bersamaan dengan peptida anti mikroba mengaktifkan sel plasmasitoid dendritik (pDC) dan menginisiasi proses awal dari psoriasis. Setelah sitokin dilepas dan kulit masuk ke proses awal terjadinya psoriasis munculan hiperplasi epidermis, infiltrasi zat inflamasi, pelepasan TNF- α , IL-1 dan T helper 1. Sel pDC sendiri akan mematurasi sel mieloid dendritic dan pelepasan TNF- α , IL-17, IL-21 dan IL-22.¹⁵



Gambar 2. 1 Proses kompleks peranan IL-17 pada psoriasis.¹⁴

Intervensi pengobatan psoriasis seperti penggunaan siklosporin terkini lebih menitik beratkan pada pemblokiran produksi IL-17. Beberapa signaling pathways atau sinyal transduksi mempengaruhi patologi proliferasi dari keratinosit, jalur NF- κ B mengatur ekspresi sitokin inflamasi, jalur JAK-STAT (*Janus Kinase- Signal Transducers and Activators of Transcription*) memediasi sinyal sitokin, jalur PI3K/Akt/mTOR (*mammalian target of rapamycin*). berkontribusi terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel dan jalur MAPK mengatur respons inflamasi. IL-17 yang lepas dari Th17 mengaktifkan Act1 (NF- κ B activator) lalu mengubah TAK1 (*transforming activated kinase*) faktor pertumbuhan kappa B yang nantinya akan memfosforilasi NF- κ B sehingga NF- κ B melepas sitokin proinflamasi dan proliferasi keratinosit.¹⁶

Kemunculan IL-22 yang dilepas Th17 ikut mengaktivasi fosforilasi protein JAK-STAT dan akhirnya akan memperkuat ekspresi gen pada sel

apoptosis, diferensiasi sel dan proliferasi sel. Hal ini yang mendasari dari penyebab penyakit autoimun termasuk psoriasis.¹⁷

Blokade ke produksi IL-17 ini dipercaya lebih efektif sebagai kunci ligan utama mengobati psoriasis, untuk mencegah efek ‘aliran arus bawah’ (*downstream line*) dimana pengobatan menjadi kurang efektif dikarenakan sudah terlalu banyak rantai reaksi inflamasi yang terjadi jika dilakukan setelah IL-17 sudah terbentuk. Beberapa studi untuk membuat anti IL-17 juga dilakukan, mulai dari menggunakan sinar UVB, membuat antibodi monoclonal secukinumab dan ixekizumab, menunjukkan pemakaiannya memberi perubahan signifikan pada indeks klinis psoriasis / *Psoriasis Area and Severity index* (PASI). Hal ini menunjukkan pentingnya IL-17 dalam respon keterlibatannya di patogenesis psoriasis.¹⁸

2.2. Ekspresi Interleukin 10 pada psoriasis vulgaris

Sel imun penting yang berperan, seperti sel dendrit memproduksi dua tipe Sel T Helper satu dan sub tipe sel T Helper dua. Sel Th₁ berperan pada proses pro-inflamasi seperti pembelahan sel tidak normal dari keratinosit. Sedangkan Th₂ sebagai mediator anti inflamasi memproduksi Interleukin 10.¹⁹ Hal ini terjadi di proses patogenesis psoriasis sel Th₁ yang nantinya akan menimbulkan pembentukan antigen limfosit Sel Th₁, produksi sitokin IFN— γ , sekresi IL-2 dan TNF. Peran IL-10 meningkatkan kemampuan adaptif sel T regulator. Ekspresi gen IL-10 yang dilakukan pemeriksaan qPCR pada sampel kulit orang normal dibandingkan kulit penderita psoriasis, lebih banyak

ditemukan pada orang kulit sehat. Menunjukkan peran keterlibatan IL-10 dalam proses regulasi keseimbangan inflamasi yang terjaga pada kulit orang sehat.²⁰

Pada penelitian yang dilakukan pada penderita psoriasis dengan komplikasi artritis pemberian sitokin IL-10 selama 28 hari memberikan perbaikan klinis signifikan pada cairan biopsi synovial yang diperiksa. Hal ini menunjukkan peranan penting IL-10 sebagai sitokin anti inflamasi secara *in vivo*.²¹

Meskipun di suatu penelitian di Irak pada pasien psoriasis fase awal menunjukkan ekspresi IL-10 yang tidak terlalu tinggi, diduga karena adanya proses peralihan respons T-helper 1 pro-inflamasi ke T-helper 2 bersifat anti inflamasi yang ekspresinya semakin lama semakin meningkat beriringan dengan durasi lamanya penyakit psoriasis.²² Para peneliti mulai membuat model secara matematis untuk memetakan penyakit psoriasis lewat *cytokine signaling* untuk memahaminya lewat pergerakan kinetis sel imun. Lewat penggunaan *stem cell* dalam menekan inflamasi psoriasis dan menghentikan pembelahan keratinosit berlebih, dengan memproduksi TGF- β dan IL-10.²³

2.3. Sekretom *stem cell* mesenkimal hipoksia

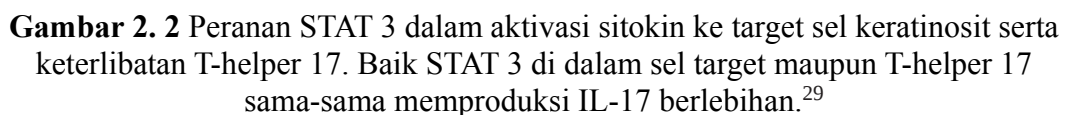
Pada patofisiologi psoriasis yang dimediasi oleh sel T-Helper 17 pengobatan klasik dengan metotreksat, siklosporin dipakai sebagai penanganan penyakit autoimun ini. Adapun pemakaian anti-TNF- α seperti infliximab untuk memblok mediator tapi semuanya tidak efektif karena tidak bersifat selektif dan pemakaian jangka panjang imunosupresan membuat resiko infeksi ikut meningkat. Oleh karena itu dikembangkanlah pengobatan

imunomodulator menggunakan *stem cell*. Efek anti-inflamasi yang dimiliki sekretom dari *stem cell* mesenkim (MSC).²⁴

Penggunaan *stem cell* telah dikembangkan sejak ditemukan dekade terakhir. Adapun salah satu produk *stem cell* yang dipakai adalah produk dari *stem cell* mesenkim (MSC) yang diperoleh dari turunan lapisan mesodermal yang nantinya akan menjadi osteoblast, sel bakal adiposa dan kondrosit. *Stem cell* MSC dapat diambil dari *Wharton's jelly*, berasal dari tali umbilikus bayi. Salah satu penelitian yang mengembangkan *Wharton's jelly* dari umbilikus manusia diduga lebih aman karena pengambilannya tidak seinvasif *stem cell* mesenkim (MSC) yang diambil dari donor tulang belakang dan tidak perlu melewati perijinan etik yang rumit. Serta *stem cell* dari *Wharton's jelly* juga meminimalisir resiko *stem cell* berproliferasi menjadi tumor.²⁵

Sel sekretom memiliki peran dalam mengendalikan berbagai mediator seperti NF- κ B p65 and p50, TNF- α , IL-10. Lewat jalur degradasi I κ B- α dan p65 translokasi, serta aktivasi sel regulator T (Treg). Setelah sekretom disuntikan, terdapat penurunan signifikan ekspresi mRNA NF- κ B (p65 and p50). Kemampuan multifungsi sekretom inilah yang berguna untuk meredakan inflamasi yang disebabkan oleh Makrofag 1 sehingga polarisasinya yang berubah ke Makrofag 2 (M2) bisa terjadi dan Makrofag M2 yang bersifat imunomodulator dapat memproduksi IL-10.²⁶

Hasil studi penggunaan *stem cell* mesenkim pada situasi ketidakseimbangan hormonal oleh kurangnya interleukin 10, SH-MSCs dalam keadaan hipoksia berhasil meningkatkan kinerjanya, dapat meningkatkan



Stem cell mesenkim (MSC) saat awal pengembangannya sendiri, merupakan *stem cell* multipoten yang bisa menggantikan berbagai sel tubuh

dengan induksi *growth factor* lewat faktor endotel vaskuler (VEGF), faktor 1 hipoksia induksi (HIF1 α) dan sitokin inflamasi lainnya dan menjadikan MSC sebagai faktor mendukung angiogenesis. Pada penderita psoriasis faktor angiogenesis secara klinis tampak sebagai proliferasi kapiler berlebih yang muncul lebih dulu dibanding lesi terlihat sebelumnya. Ekspresi berlebih dari VEGF dan HIF1 α ini menimbulkan gen angiogenesis meningkat. Hal ini lalu menjadi perhatian lebih dari para peneliti untuk terus mengembangkan terapi *stem cell*.³⁰



Gambar 2. 3 Respon sel terhadap berbagai tipe *stem cell* MSC endogen pasien yang akhirnya mengakibatkan peradangan Makrofag 1 (pro-inflamasi) dan Makrofag 2 (anti-inflamasi). Serta keterlibatan interleukin 10 sebagai produk stokin dari anti inflamasi.³⁰

Meskipun begitu, penelitian terbaru menunjukkan kecenderungan sifat tumor dari *stem cell* MSC berpotensi dikendalikan lewat pengaturan tumor *niche* yaitu suatu situasi lingkungan mikroskopik yang sangat berpengaruh terhadap kelangsungan hidup sel tumor salah satunya lewat kemampuan sel *Natural Killer* (NK) untuk mengenali sel tumor di tubuh, dengan asumsi

pemakaian *stem cell* beresiko menyebabkan angiogenesis vascular tidak normal. Sel NK adalah inti dari ketahanan tubuh dalam melawannya dengan mengaktifkan jalur antioksidan Nrf2 yang nanti akan meningkatkan aktivitas anti tumor secara *in vivo*.³¹ Suatu studi tinjauan sistematis terbaru efek *stem cell* MSC terhadap psoriasis menunjukan, sel MSC sehat memberikan efek ke lingkungan mikro sebagai imunomodulator lewat, menekan produksi sel B, menghambat aktivitas sitotoksik sel NK sehingga hanya menyerang sel tumor.³² Pengobatan dengan *stem cell* sekretom sendiri juga meningkatkan mekanisme *tumor homing* jadi hanya sel NK sehat yang dipertahankan.³³

Regulasi *stem cell* memerlukan kondisi hipoksia atau kekurangan oksigen untuk mempertahankan sifat regenerasi dirinya dan memperbaiki sel dewasa. Jumlah pembelahan *stem cell* meningkat hingga 20% dalam kondisi oksigen dibawah 5% memudahkan peneliti untuk memproduksinya sebagai terapi. Proses hipoksia ini melewati ekspresi HIF-1 α dan VEGF³⁴

Beberapa faktor seperti kualitas, keamanan dan efikasi dari laboratorium juga mempengaruhi supaya bisa mendapatkan hasil kultur *stem cell* yang sehat. Dengan memperhatikan standarisasi ini kejadian tidak diinginkan seperti, perubahan profil protein yang dieksresikan dan kualitas sekretom tidak sehat bisa diminimalisir.³⁵ Persiapan produksi sekretom sendiri terdiri dari mengamati kultur sel dalam periode tertentu sebelum dimasukan ke mesin sentrifusi untuk mengambil medium yang berisi sekretomnya.³⁶

Faktor-faktor berpengaruh dalam memproduksi sekretom adalah: kondisi kesehatan dari donor; kultur medium yang dipakai; konfluensi sel;

seberapa lama pengamatan dilakukan; keadaan lingkungan mikroskopik, pencucian sekretom serta faktor produksi lain-lain. Kondisi kesehatan pendonor berpengaruh pada kualitas fungsional sekretom yang diinginkan. Sehingga perlu diperhatikan kesesuaian profil dengan penderita.³⁶ Kultur medium yang dipakai berpengaruh terhadap perkembangan sekretom, ketika peneliti menggunakan darah sapi atau FBS (*fetal bovine serum*) sebagai medium, ditemukan resiko kontaminasi selalu ada dan adanya resiko reaksi imun ke penerima donor.³⁷ Tetapi pemberian medium yang bebas serum cenderung mensekresikan faktor angiogenik lebih tinggi sehingga sel target memproduksi lebih banyak pembuluh darah.³⁸ Konfluensi sel sekretom yang diharapkan sekitar 70-90% pada tiga hari pertama proses kultur hingga pengamatan hari ke 7 hingga 10 berikutnya. Lingkungan mikroskopik yang dicari untuk mempengaruhi proses *autocrine* sehingga mendukung aktivitas parakrin dan kultur sel dapat mengeluarkan reaksi imunomodulator pada sel target saat diberikan ke pendonor. Serta perlakuan prakondisi seperti hipoksia menggunakan gas nitrogen untuk meningkatkan kinerjanya.³⁰ Atau pun prakondisi lain seperti suplementasi selenium.³⁹

Setelah melewati itu, sekretom dimasukan ke sentrifusi untuk memisahkan sel mati beserta proteinnya, produk sisa material jaringan tak terpakai dan serpihan sel dari supernatant. Terdapat beragam waktu sentrifusi tergantung ukuran berat molekul yang diharapkan/ *molecular weight cut off* (MWCO) dari < 3 kDa, > 1000 kDa hingga < 6 kDa. Jika yang dicari adalah seluruh komponen sekretom utuh sekitar <3 kDa, jika yang diinginkan untuk

model iskemik jantung >1000 kDa dari sekretom. Faktor lain-lain yang dapat berdampak adalah proses pemindahan kultur, pengendalian kontaminasi saat pemindahan seperti ekspresi pH, oksigen dan suhu yang dikendalikan oleh komputer bisa meminimalisir ini semua jika diproduksi dalam skala besar.⁴⁴ Ekspresi suhu penyimpanan sel kultur sekitar 4 °C untuk mempertahankan viabilitas sel. Tetapi hal ini tidak menghentikan proses kematian selnya yang akan terus bertambah jika disimpan lebih dari 2 bulan. Hal ini bisa dihindari dengan menaikkan suhu penyimpanan dibawah -20 °C sampai -80 °C untuk eksosom.³⁶

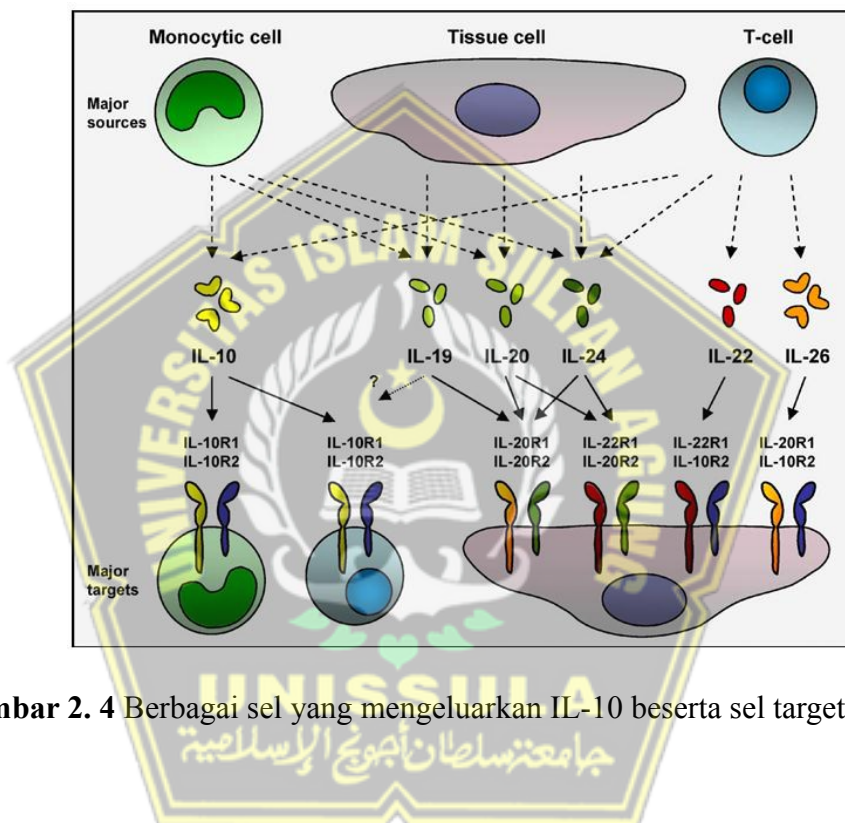
2.4. IL-10 mediator anti peradangan

Sel mengeluarkan sitokin yang akan mempengaruhi kinerja sel target. Ikatan sitokin ini bisa menyebabkan serangkaian peristiwa salah satunya adalah perubahan alur ekspresi gen, perubahan struktur sitoplasma hingga dilepasnya molekul vesikel. Adapun berbagai sitokin ini dikelompokkan berdasarkan struktur dan fungsinya. Sitokin kelas I terdiri: IL-2, IL-4, IL-4, IL-6 dan IL-12 sedangkan Sitokin kelas 2 salah satunya berisi: IFNs (Interferon) tipe I, IL-10, IL-19 dan seterusnya. Setelah penemuannya terdapat 6 jenis protein dari Interleukin-10 pada tahun 2001 akhirnya disendirikan karena keterlibatannya dalam fungsinya sebagai imunomodulator dari susunan genom dan lokusnya.

40

Adapun IL-10 berada di kromosom 1 (1q32) di tempat yang sama dengan IL-19, IL-20 dan IL-24. Tetapi ciri khas IL-10 memiliki beberapa Nukleotida tunggal polimorfik (SNP) pada struktur genomiknya yang memiliki

peran penting dalam mediator imun.⁴¹ Salah satu dari jenis SNP ini adalah rs1800871 (-819T/C) yang sering dikaitkan dengan penyakit autoimun. Kelainan polimorfik pada gen (-819T/C) menunjukkan pasien lebih beresiko menderita penyakit autoimun serta ekspresi IL-10 yang cenderung lebih rendah dibanding orang sehat.⁴⁰



Gambar 2. 4 Berbagai sel yang mengeluarkan IL-10 beserta sel targetnya.²⁹

Pada suatu studi terapeutik menunjukan IL-10 dapat mengendalikan inflamasi yang dijembatani oleh respon sel Th1, peningkatan produksi monokin. IL-10 men menekan produksi makrofag, sitokin dan kemokin. Mengendalikan presentasi aglutinasi ke sel dendrit (CD) lewat menekan CD80/CD86 dan ekspresi MHC. Semua aktivitas ini menunjukan IL-10 berguna dalam menghambat perluasan lesi inflamasi²⁰ dan kerusakan jaringan penderita psoriasis dengan radang sendi.²¹

2.5. Pemeriksaan Interleukin-17 dan Interleukin-10

Pemeriksaan ekspresi interleukin 17 dan 10 dalam serum bisa dilakukan dengan berbagai cara salah satunya dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Adapun pemeriksaan ini membutuhkan pranala DNA sebagai sampel, dNTPs (Deoxynucleotide triphosphates); buffer PCR; magnesium klorida (MgCl₂) dan enzim polimerase DNA. Beberapa tahap yang dilakukan adalah: pertama denaturasi awal pranala DNA, kedua denaturasi pranala DNA, ketiga penempelan primer ke tempat pranala (*annealing*), keempat pemanjangan pranala asli/primer (*extension*), lalu yang terakhir pemantapan proses pemanjangan (*post-extension*). Tahap kedua hingga keempat dilakukan berulang kali sehingga tiap siklus didapat duplikasi sejumlah DNA. Primer yang digunakan berpengaruh pada hasil yang akan dihasilkan PCR. Primer sendiri berfungsi membatasi fragmen DNA target yang akan diduplikasi dan menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang diperlukan untuk eksistensi RNA. Data urutan protein DNA yang diinginkan bisa didapat dari database GenBank. Oleh sebab itu dibutuhkan tipe (*reverse transcription PCR*) RT-PCR untuk mengubah primer mRNA untuk mendeteksi ekspresi gen IL-17.⁴²

Ada keuntungan RT-PCR⁴³:

- a. Bisa mengukur asam nukleat dalam rentang fleksibel yang sangat luas atau lebar (lebih dari 5 log).
- b. Memiliki sensitivitas yang tinggi, mampu mendeteksi kurang dari 5 salinan sekuensing target sehingga memungkinkan untuk menganalisis sampel

yang sedikit seperti biopsi klinik, atau yang sangat kecil dari tangkapan laser mikrodiseksi

- c. Dapat menganalisis ekspresi gen yang sangat halus bahkan pada Tingkat rendah sekalipun dengan standar internal dan perhitungan yang tepat, rerata 1-2%,
- d. Relatif cepat dan terjangkau.⁴³
- e. Reaksi PCR dilakukan pada wadah tertutup sehingga meminimalkan kemungkinan kontaminasi silang dari lingkungan terbuka laboratorium

Keterbatasan RT PCR³⁹:

- a. Kerja RT PC dapat mengalami penghambatan oleh senyawa yang terkandung dalam sampel biologi yang digunakan seperti Hb dan urea di bidang forensik dan klinik.
- b. Reaksi pada PCR yang memerlukan RNA pada tahap enzimatik dapat menimbulkan beberapa masalah karena RNA lebih labil dibandingkan DNA.³⁹
- c. Keterbatasan PCR yang utama bukan terletak pada teknologinya namun lebih disebabkan karena faktor human error atau kesalahan pada manusia yakni pengembangan uji yang tidak benar dan ketidakbenaran analisis,
- d. Penggunaan PCR untuk analisis ekspresi gen memerlukan set primer RT-PCR yang harus didesain dan divalidasi dengan kriteria yang tepat supaya spesifisitas dan keakuratan hasil yang diperoleh sesuai standar.

Penderita psoriasis memiliki ekspresi yang tinggi dari IL-17A dan IL-17F yang sama-sama berkontribusi dalam inflamasi jaringan. Sitokin IL-

IL-17A, IL-17E dan IL-17F bertanggung jawab atas penumpukan neutrofil dan kumpulan abses epidermal. Sedangkan IL-10 yang berperan sebagai imunomodulator dapat menghambat Limfosit Th1 melepaskan TNF, IL-6, IL-12, dan *granulocyte colony-stimulating-factor* (G-CSF). Mereka menemukan, ekspresi gen IL-10 dan IL-23A pada kulit penderita psoriasis cenderung lebih rendah dibandingkan sampel kulit orang sehat. Menunjukkan ketidakseimbangan regulasi imun pada penderita.⁴⁰

2.6. Psoriasis Vulgaris

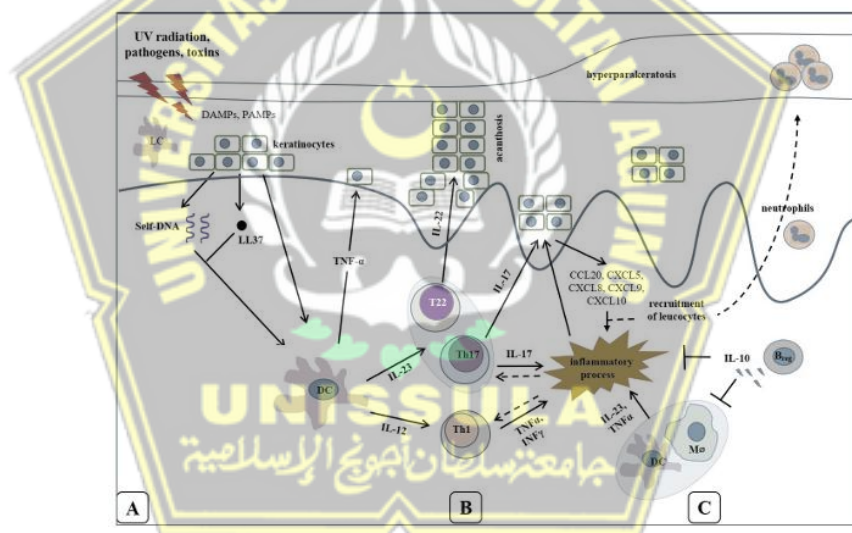
Psoriasis Vulgaris adalah kelainan peradangan pada kulit bersifat kronik dan residif, terdapat kelainan genetik yang mendasarinya. Karakteristik khas ketidaknormalan pertumbuhan dan diferensiasi bagian kulit epidermis. Bisa timbul di semua usia, terutama usia remaja hingga 30 tahun. Pengobatan selama ini hanya meredakan gejala sementara jadi bisa disebut kalau psoriasis merupakan penyakit seumur hidup. Untungnya, penyakit ini tidak membahayakan jiwa tetapi dapat mempengaruhi serta mengganggu pekerjaan, kehidupan pribadi hingga kualitas hidup pasien.⁴⁴ Bila tidak ditangani dengan baik, psoriasis dapat memburuk sehingga timbul komplikasi dan komorbiditas.⁴⁵

Lesi yang biasa timbul berupa fenomena Koebner (adanya lesi baru yang mirip lesi psoriasis akibat trauma, misal gesekan, garukan). Infeksi dari streptokokus grup A, obat-obatan, stress dan merokok bisa menimbulkan kekambuhan hingga perburukan kelainan. Gejala lainnya seperti nyeri sendi,

sindroma metabolik dan keluhan komorbid.⁴⁶ Biasanya ada keluhan mirip pada keluarga pasien.⁴⁴

2.6.1. Patogenesis Psoriasis

Psoriasis sendiri adalah kelainan 23 genetic kompleks yang dipicu oleh beragam faktor resiko yang melibatkan proses beragam mulai dari inflamasi, presentasi antigen, sinyal sel dan pengaturan transkripsi. Makrofag yang bertugas memfagosit sel dan bertugas merepresentasikan antigen mendukung proses inflamasi, dengan ditemukannya peningkatan makrofag di lesi psoriasis. Makrofag juga mengeluarkan $\text{TNF-}\alpha$ yang merupakan mediator inflamasi.⁴⁶



Gambar 2. 5 Patogenesis Psoriasis.⁴⁶

Gambar di atas menunjukkan proses pathogenesis dimulai ketika A). Keratinosit rusak karena menerima ekspos dari trauma mekanik atau mikroba yang akan mengaktifasi sel APC (*antigen presenting cell*) seperti makrofag dan sel dendrit. B). APC termasuk sel Langerhans, sel dendrit, membuat sel B berinteraksi dengan sel T yang akhirnya mengaktifasi produksi sitokin pro-inflamasi. C). Sel B regulator memodulasi dengan mengeluarkan IL-10 yang

nantinya akan menghalanginya lewat aktivasi sel-sel leukosit lain termasuk makrofag 2 (M2) untuk menghentikan peradangan.⁴⁶

Dari beberapa faktor presdiposisi penderita psoriasis, ada salah satu kenalinan genetic yang dipengaruhi oleh beberapa lokus yang bertanggung jawab mengatur kode komponen sinyal transduksi NFκB kaskade salah satunya ILF3. ILF3 ini mempengaruhi protein pengikat RNA yang akan yang nantinya menjadi faktor transkripsi nukleus yang bertugas mengaktifkan ekspresi sel T.⁴⁶

Adapun gen dominan yang memicu perkembangan psoriasis adalah HLA-C*06:02.⁵⁵ Serta kelainan genetik suatu lokus bernama PSORS1 (*Psoriasis Susceptibility*) di kromosom 6p21. Area ini adalah tempat paling berpengaruh terhadap kejadian psoriasis meskipun masih diperdebatkan. PSOR1 ini terletak di kompleks histokompatibilitas kelas 1 dengan keberadaan HLA-C yang paling mungkin ada di gen PSORS1. Lebih dari 60% pasien membawa alel HLA-Cw0602 beresiko dua puluh kali lebih besar menderita psoriasis. Serta kelaian polimorfisme pada 30 nukleotida Tunggal (SNP), IL36RN dan CARD14, dua faktor terakhir dapat muncul secara independen dalam bentuk mutasi gen.⁴⁷

Faktor lingkungan yang memicu ada trauma fisik (misal:garukan) yang nanti akan menimbulkan fenomena Koebner, reaksi reaktif terhadap obat-obatan penderita jantung hipertensi seperti *beta-blocker*, obat kanal kalsium *blocker*, tetrasiklin dan obat anti inflamasi non steroid, infeksi streptokokus yang biasa ditemukan di anak-anak. Lalu stres psikologis⁷ karena aktivasi

hipotalamus melepaskan hormon kortikotrofin (CRH) yang berfungsi pada koordinasi respons stress yang ditemukan meregulasi CRH di kulit dan pada penderita psoriasis jumlah CRH meningkat dan membuat kambuh psoriasis. Yang terakhir ada faktor obesitas merokok dan minum-minuman alkohol ⁴⁷

Studi terbaru menunjukkan psoriasis sering diasosiasikan dengan penyakit autoimun kronis yang bisa dimasukkan ke kategori MAS (*Multiple Autoimmune Syndrome*) tipe 3 bersamaan dengan penyakit sindroma Sjögren dan Lupus dalam keterlibatan HLA. Di penelitian ini pasien-pasien psoriasis diperiksa darahnya dan ditemukan 46,3% kelainan serum yang mengarah ke penyakit autoimun lain seperti vitiligo, radang sendi rematik, tiroiditis autoimun dan IBD.⁴⁸ Studi lainnya juga menunjukkan keterikatan antara pasien psoriasis dengan penyakit autoimun diduga karena memiliki jalur reaksi Th17 yang serupa.⁴⁹

2.6.2. Tipe Psoriasis⁴⁴ :

1. Psoriasis tipe plak.

- Plak eritematosa berbatas tegas dengan skuama berwarna putih keperakan berlapis (karakteristik).
- Predileksi pada siku, lutut, kulit kepala, lumbosakral, palmar dan plantar, genitalia dan perianal.

2. Psoriasis gutata

- Onset akut, umumnya terdapat pencetus berupa infeksi streptokokal pada saluran pernafasan atas.

- Plak merah muda berukuran seperti tetesan air dengan skuama (serpihan putih) tebal di atasnya.
- Predileksi pada badan dan ekstremitas.

3. Psoriasis pustulosa generalisata dan lokalisata

Generalisata atau psoriasis von Zumbusch.

- Khas ditandai oleh pustul steril yang mengenai sebagian besar area tubuh dan ekstremitas.
- Pada kasus yang berat pustul dapat bergabung dan membentuk kumpulan pus (*lake of pustules*).
- Fungsi perlindungan kulit hilang dan pasien rentan terhadap infeksi, hilangnya cairan dan nutrisi.
- Sering disertai dengan gejala sistemik misalnya demam dan malaise lokalisata.
- Predileksi di telapak tangan, ujung jari dan kuku.
- Pustul dapat terletak di atas plak.
- Sangat mengganggu keseharian karena sulit menggunakan tangan atau kaki akibat radang.
- Sering resisten terhadap pengobatan.

4. Psoriasis inversa

Lesi terdapat di daerah lipatan, glans penis, aksila.

5. Eritroderma psoriatika

- Eritema yang luas dengan skuama yang dapat mengenai sampai 100% luas permukaan tubuh.

- Fungsi perlindungan kulit hilang dan pasien rentan terhadap infeksi, temperatur tubuh tak dapat terkontrol, terjadi hilangnya cairan dan protein masif.
- Sering disertai dengan gejala sistemik yaitu demam dan malaise
- Dapat mengancam jiwa karena bisa terjadi kegagalan organ⁵⁰



Gambar 2. 6 Psoriasis eritroderma.⁵⁰

6. Psoriasis arthritis

Biasanya menyerang banyak sendi terutama interfalang distal, proksimal falang, metakarpal

7. Psoriasis Kuku

2.7. Animal Model *Psoriasis-like*

Penelitian psoriasis di hewan uji merupakan sesuatu yang menantang dikarenakan penyakit ini tidak ada secara alamiah di hewan laboratorium. Sebagai "model penyakit," psoriasis telah mengajarkan

banyak tentang proses fundamental pada gangguan inflamasi kronis. Gangguan inflamasi sistemik yang terutama memengaruhi kulit dan sendi, Psoriasis mencakup disregulasi dan interaksi kompleks dari sistem imun bawaan dan adaptif serta komponen lain seperti epitel, vaskulatur, dan sistem saraf kulit.

Ada akumulasi bukti bahwa mekanisme autoimun dan autoinflamasi memicu penyakit ini. Sebagai perwakilan dari imunitas adaptif, sel T memainkan peran penting dalam psoriasis. Memang, hubungan psoriasis dengan alel HLA tertentu, keberhasilan terapeutik imunomodulasi yang diarahkan pada sel T, deteksi kemungkinan autoantigen, atau model hewan yang berpusat pada sel T menunjukkan peran penting sel T dalam penyakit ini. Kita tahu saat ini bahwa grup CD4, sel TH penghasil IL-17 (TH17) adalah dalang utama dalam psoriasis. Pelepasan IL-17 (terutama IL-17A) memicu hiperplasia epidermal dan berkontribusi pada aktivasi sel imun, sehingga menciptakan reaksi inflamasi. Penemuan bahwa sel lain seperti sel T CD81 epidermal serta sel dari respons imun bawaan seperti granulosit neutrofilik, sel mast, dan makrofag juga dapat mengandung IL-17 telah menyebabkan perubahan paradigma dan telah melambungkan sistem imun bawaan kembali menjadi pusat perhatian penelitian psoriasis. Sel limfoid bawaan tipe 3 juga menghasilkan IL-17A.⁵¹

Oleh karena itu beberapa penelitian melakukan pengembangan untuk membuat model hewan *psoriasis-like* misal dengan model *xenotransplantation* dimana lesi dengan plak dari pasien psoriasis

ditransplantasikan ke tikus imunodefisiensi tapi cara ini sulit dilakukan karena sedikitnya pasien donor yang mau memberikan lapisan kulitnya. Lalu ada membuat tikus model lewat teknologi manipulasi genetik. Cara ini lebih beragam karena bisa disesuaikan dengan keinginan peneliti. Tetapi pembiayaannya termasuk lebih mahal.⁵²

Cara lain dengan menginjeksi sitokin secara intradermal. Sitokin yang disuntikan bisa berisi IL-23, IL-12 dan IL-17 untuk membuat beragam karakteristik inflamasi *psoriasis-like* pada hewan model. Meskipun model ini lebih murah dari tikus genetik buatan tapi fenotipnya terbatas karena cepat sembuh sendiri setelah suntikannya dihentikan dan penyakit *psoriasis-like* yang ditampilkan hanya dalam fase akut, ketika proses alami psoriasis umumnya adalah inflamasi kronis. Dan hasil yang diharapkan sulit dikontrol karena perbedaan waktu injeksi, tipe hewan yang diuji dan faktor mikroskopik lingkungan lain dari laboratorium tempat tikus itu dipelihara.⁵²

Imiquimod adalah agonis *toll-like receptor* (TLR) pemberian obat ini adalah cara yang paling sering digunakan untuk membuat tikus model *psoriasis-like*. Pengolesan Imiquimod biasanya dilakukan di telinga atau bagian dorsal/punggung hewan dan ditemukan menghasilkan karakteristik lesi kulit yang mirip *psoriasis-like* secara klinis pada manusia. Keunggulannya obat mudah didapat dan lebih murah dari penyuntikan sitokin. Kelemahannya adalah belum ada studi valid tentang resiko pemberian berlebihan, bias peneliti disaat penilaian kulit secara makroskopis dan mikroskopis waktu pemeriksaan histopatologi.⁵²

BAB III

KERANGKA TEORI , KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1. kerangka Teori

Psoriasis adalah penyakit kronik pada kulit yang dipengaruhi multifaktor yaitu genetik dan lingkungan. Terdapat 80 gen suseptibilitas psoriasis teridentifikasi, adapun lingkungan yang dapat melatarbelakangi antara lain keringnya kulit akibat iklim/cuaca, polusi udara (oksidasi) yang mengeringkan kulit, dan psikis/stress.^{17 53}

Kelainan kulit berupa proliferasi berlebihan keratinosit (*keratinocyte hyperproliferation*) dan deferensiasi abnormal. Selain itu terjadi gangguan keseimbangan sitokin dan infiltrasi sel radang. Selain itu terjadi gangguan keseimbangan sitokin dan infiltrasi sel radang.⁵⁴

Individu Psoriasis mengalami kelebihan sitokin Th17 yaitu IL-17, sebaliknya terjadi penekanan sitokin regulator IL-10, kondisi ini memicu aktivasi dan inflamasi keratinosit. Sitokin inflamasi lain yang meningkat seperti IL-23 dan TNF- α .¹⁷ Beberapa signaling pathways atau sinyal transduksi mempengaruhi patologi proliferasi dari keratinosit, jalur NF- κ B mengatur ekspresi sitokin inflamasi, jalur JAK/STAT memediasi sinyal sitokin, jalur PI3K/Akt/mTOR berkontribusi terhadap pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel dan jalur MAPK mengatur respons inflamasi.¹⁶

IL-17 yang dilepas Th17 terikat pada reseptor keratinosit mengaktifkan Act1 (NF- κ B activator), selanjutnya melalui *transforming growth factor- β -activated kinase* (TAK1), sehingga terjadi fosforilasi IKK (*inhibitor of nuclear*

factor-kappa B kinase) berantai ke fosforilasi NF- κ B, maka menguatkan ekspresi gen NF- κ B yang menstimulasi pelepasan sitokin proinflamasi dan proliferasi keratinosit. Penguatan ekspresi gen NF- κ B, juga berasal dari jalur sitokin TNF- α berasal dari Th1 yang terikat di reseptor TRADD keratinosit (*Tumor necrosis factor receptor type 1-associated death domain*), hasilnya fosforilasi *mitogen - activated protein kinase* (MAPK) hasil akhirnya sama fosforilasi NF- κ B.

Peran IL-22 yang dilepas oleh Th17 turut andil dalam aktivasi sinyal fosforilasi JAK (*Janus kinase*)-STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription) *proteins*, JAK memediasi pensinyalan dari berbagai macam sitokin yang terlibat dalam respons imun, termasuk interleukin, interferon, dan faktor pertumbuhan. IL-22 sekaligus aktifkan fosforilasi TYK2 diikuti sinyal berantai fosforilasi P13Akt, dan mTor (*mammalian target of rapamycin*). STAT adalah protein yang mengaktifkan proliferasi sel T baik Th1, Th2, dan T17, gangguan regulasi ini menyebabkan berbagai penyakit salah satunya autoimun. Peran mTOR (*serin/treonin kinase*) yang bertindak sebagai pengatur utama pertumbuhan sel, metabolisme, proliferasi, dan kelangsungan hidup sebagai respons terhadap isyarat lingkungan seperti nutrisi, tingkat energi, faktor pertumbuhan, dan stres. Gangguan fungsi mTor menyebabkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol.¹⁶

Fosforilasi JAK-STAT menguatkan ekspresi gen yang mengatur proliferasi sel, diferensiasi, dan apoptosis sel. Gangguan pengaturan ini menyebabkan berbagai penyakit termasuk autoimun dalam kasus ini Psoriasis.¹⁷

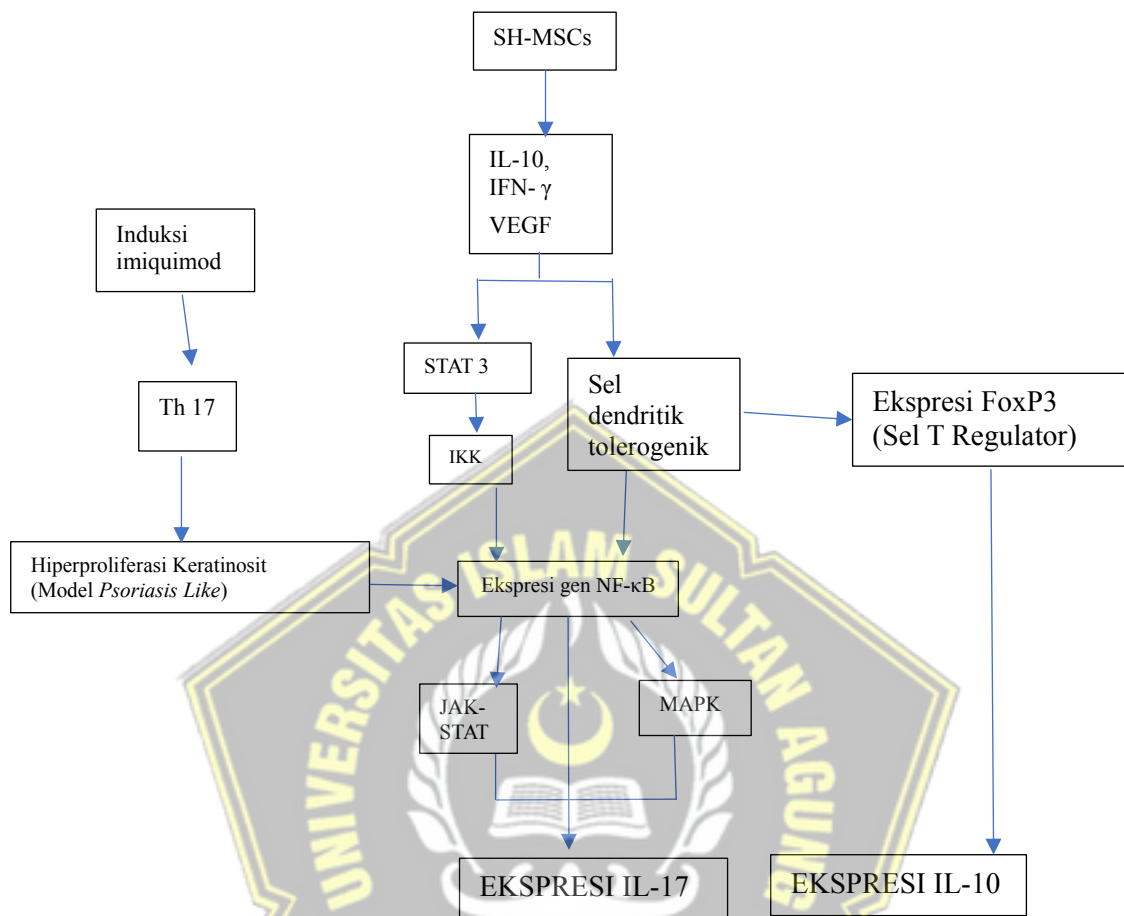
Sekretom dari *stem cell* adalah kumpulan protein, sitokin, faktor pertumbuhan, dan vesikel ekstraseluler yang disekresikan oleh *stem cell*. *Stem cell* mesenkimal (MSC) memiliki sekretom yang sangat kaya yang memberikan efek parakrin (komunikasi antarsel) untuk meningkatkan modulasi imun, perbaikan jaringan, dan antiinflamasi. Ketika sel induk dikultur dalam kondisi hipoksia, sekretomnya meningkatkan sekresi faktor imunomodulatori dan regeneratif seperti: TGF- β (imunosupresi), IL-10 (anti-inflamasi), dan *Growth Factor* untuk penyembuhan dan perbaikan berupa VEGF yang seimbang untuk menghambat formasi abnormal pembuluh darah (angiogenesis).⁹

Treg mempunyai peran besar dalam pengaturan respons imun dan pencegahan penyakit autoimun. Konsep terapi memperkuat Treg menjadi terapi pilihan yang menjanjikan. *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem cells* (SH-MSCs) menjadi pilihan yang tepat. Beberapa studi sebelumnya pengaruh MSCs mendukung keberadaan Treg yang berarti dapat menurunkan pengaruh sel Th17, Th1 maupun Th2. SH-MSCs mengandung sitokin regulator IL-10, TGF- β , yang meningkatkan diferensiasi sel Treg lebih kuat. Produk terlarut dari MSCs yaitu *Secretome* mengandung banyak TGF- β yang terbukti secara *in vivo* meningkatkan Treg.⁵⁵

MSCs dan sekretomnya mempunyai kemampuan mobilitas menuju jaringan yang mengirimkan sinyal bahaya (inflamasi) termasuk dari sel imun (makrofag, sel dendritik, neutrofil). Kemampuan immunoregulator tergantung sinyal TLR yang diterima. Kemampuan modulasi imun melalui sekresi faktor

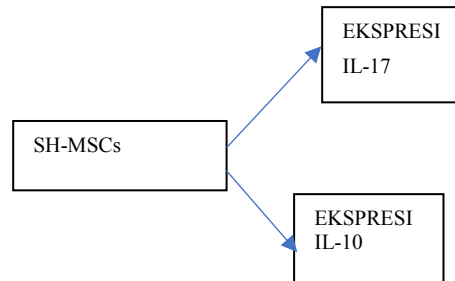
terlarut bersifat immunosupresif yaitu IL-10, IFN- γ , VEGF, yang mendukung adanya makrofag M2 anti-inflamasi, DCs tolerogenik dan Treg.⁵⁵

Secara keseluruhan variabel bebas SH-MSCs menghasilkan IL-10, IFN- γ VEGF (variabel antara) yang nanti akan menginduksi sel dendritic tolerogenik (variabel antara) yang nantinya akan meningkatkan ekspresi FoxP3 (variabel antara) sebagai penanda khas sel T regulator (Treg). Treg berperan sebagai imunomodulator dan aktivasinya akan meningkatkan produksi IL-10 yang diukur lewat ekspresi IL-10 (variabel terikat). Sedangkan *imiquimod* merupakan induksi yang dilakukan untuk merangsang aktivasi sel T *helper* 17 (variabel antara) dan mengakibatkan hiperproliferasi keratinosit (variabel antara) yang merupakan pembelahan sel secara berlebihan yang merupakan ciri psoriasis. Hal ini mengakibatkan meningkatkan ekspresi NF- κ B yang nantinya akan berperan dalam regulasi aktivasi sinyal seperti JAK-STAT, IKK dan MAPK mereka secara bersamaan akan sama-sama melepaskan IL-17 yang akhirnya memperparah kondisi inflamasi kulit di subkutan.



Gambar 3. 1 Kerangka Teori

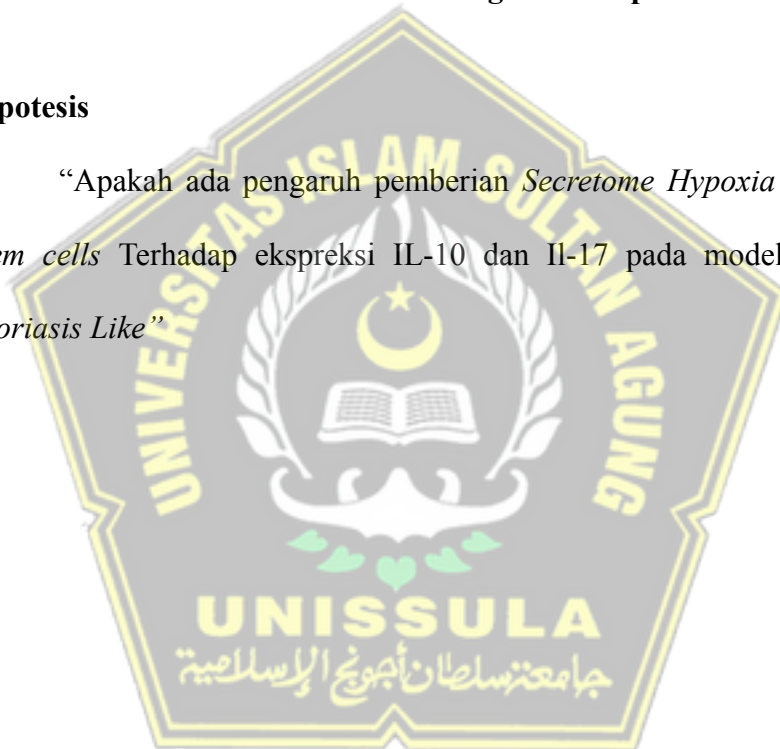
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3. 2 Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

“Apakah ada pengaruh pemberian *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem cells* Terhadap ekspresi IL-10 dan IL-17 pada model tikus Wistar *Psoriasis Like*”



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian merupakan eksperimental in vivo dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group*. Objek penelitian adalah tikus jantan galur wistar dengan bobot badan 200 gr (cv = 5%). Penelitian ini menggunakan 4 kelompok dengan rincian sebagai berikut: 2 kelompok perlakuan, 1 kelompok perlakuan kontrol negative, 1 kelompok kontrol positif dan 1 ekor tikus sehat untuk validasi. Pengukuran data dilakukan sesudah intervensi.

S : Subjek Penelitian (Tikus) Sehat

A : Adaptasi

V : Validasi

R : Randomisasi

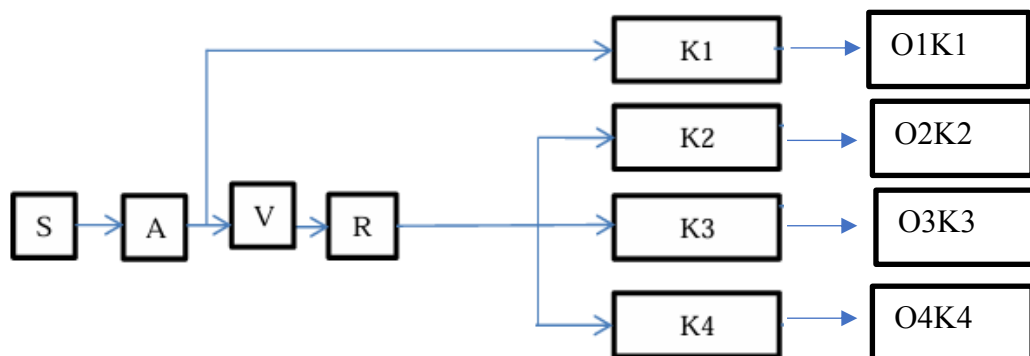
Kelompok 1 : K1: Kontrol negatif, tikus induksi *Imiquimod* model Psoriasis-like dengan injeksi NaCl 0,9% subkutan.

Kelompok 2 : K2: Kontrol positif Tikus induksi *Imiquimod* model Psoriasis Like dengan Injeksi hidrokortison 0,05 ml subkutan.

Kelompok 3 : K3: Tikus induksi *Imiquimod* model Psoriasis Like pemberian Injeksi subkutan SH-MSCs sebanyak 100 µL.

Kelompok 4: K4: Tikus induksi *Imiquimod* model Psoriasis Like pemberian injeksi subkutan SH-MSCs sebanyak 200 µL

OK : Observasi Kelompok



Gambar 4. 1 Skema Rancangan Penelitian

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.2.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah injeksi larutan SH-MSCs dosis 100 μ L. dan 200 μ L

4.2.2.1. Variabel Terikat

Variabel antara pada penelitian ini adalah ekspresi gen IL-17 dan IL-10

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Larutan Sekretom hipoksia MSCs (SH-MSCs)

Larutan SH-MSCs yang akan diinjeksikan secara topikal subkutan berisi larutan yang mengandung molekul larut dan vesikel ekstraseluler yang disekresikan oleh MSC. Molekul larut meliputi faktor biologis aktif seperti sitokin, kemokin, dan faktor pertumbuhan. Sekretom diperoleh dari medium hasil prekondisi MSC secara hipoksia, kemudian difiltrasi dengan menggunakan Tangential Flow Filtration.

Larutan SH-MSCs diberikan ke K3 100 μ L. untuk K4 sebanyak 200 μ L untuk tiap ekor tikus. Skala: Ordinal

4.2.2.2. Ekspresi protein IL-17

Ekspresi IL-17 adalah jumlah protein IL-17 relatif yang dilepaskan jaringan lapisan keratinosit pada sampel penelitian, dianalisis menggunakan RT-PCR Skala: Rasio

4.2.2.3. Ekspresi protein IL-10

Ekspresi IL-10 adalah jumlah protein IL-10 relative yang dilepaskan jaringan lapisan keratinosit pada sampel penelitian, dianalisis menggunakan RT-PCR Skala: Rasio

4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subjek Penelitian

Subjek pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Wistar berusia 8-12 minggu dengan bobot badan 200 gr yang dinyatakan layak digunakan untuk penelitian oleh peneliti.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi sampel penelitian adalah tikus jantan putih galur Wistar dengan kriteria sebagai berikut:

1. Umur 8-12 minggu
2. Tikus kondisi psoriasis-like setelah induksi *Imiquimod* 100 mg selama 6 hari, validasi fase penebalan keratinosit dengan pewarnaan HE dan pengamatan makroskopis kulit menggunakan kriteria adanya eritema, skuama berlapis, plak dan iritasi.

3. Bobot badan 200 gr

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan galur Wistar dengan kriteria:

1. Tikus yang sakit sebelum masa penelitian.

4.3.3.3. Kriteria Drop Out

Tikus yang mati selama penelitian.

4.4. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara Randomized Sampling. Tikus putih jantan galur Wistar dibagi menjadi 4 perlakuan yaitu perlakuan K1 (hanya diberi larutan NaCl 0,9% subkutan), K2 (diberikan injeksi hidrokortison 0,05 ml subkutan) pada hari ke 14, (K3 (Pemberian injeksi SH-MSCs dosis 100 μ L) pada hari ke 14 & 16, dan K4 (Pemberian injeksi SH-MSCs dosis 200 μ L) pada hari ke 14 & 16. Tikus sehat & sakit divalidasi dengan pemeriksaan histopatologi sebelum perlakuan di hari ke 14. Induksi *Imiquimod* 100 mg seluas 37,5 mg/cm² ⁵⁶. Lalu diterminasi hari ke 20 setelah perlakuan.

4.5. Besar Sampel

Besar sampel yang diperluksan dalam peneitian ini menggunakan rumus sampel eksperimental dari Federer dengan rumus:

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t = banyaknya perlakuan

n = banyaknya sampel setiap perlakuan

4.6. Alat dan Bahan

4.6.1. Alat

Penelitian ini menggunakan peralatan berupa perlengkapan kultur sel yang terdiri *Biosafety Cabinet* (BSC), mikropipet, inkubator CO₂, dissecting kit, dan flask 25T. Kondisi kultur hipoksia didapatkan dengan menggunakan hypoxic chamber. Oxygen meter digunakan untuk mengukur ekspresi oksigen di dalam hypoxic chamber. Selain itu penelitian ini juga menggunakan *Imiquimod* untuk menginduksi psoriasis-like, steril spuit untuk menginjeksi larutan SH-MSCs. Alat yang digunakan untuk analisis ekspresi gen IL-17 dan IL-10.

4.6.2. Bahan

Bahan dari penelitian ini terdiri dari bahan kultur yang tersusun atas tali pusat tikus, NaCl 0.9%, PBS, DMEM, FBS, fungizone, dan penstrep. Sedangkan bahan yang digunakan untuk proses perlakuan adalah *Imiquimod* 100 mg.

4.7. Cara Penelitian

4.7.1 Perolehan Ethical Clearance

Ethical clearance penelitian didapatkan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Dengan nomor surat No. 440/ VIII/2025/Komisi Bioetik.

4.7.2 Prosedur Isolasi Mesenchymal *Stem cell* dari Umbilical Cord

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

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

4.7.3 Proses Hipoksia

1. MSC yang telah mencapai 80% konfluensi ditambahkan medium komplit hingga 10 mL.
2. Flask yang telah berisi MSC kemudian masukkan ke dalam hypoxic chamber.

3. Gas nitrogen disalurkan melalui katup inlet dan oxygen meter ditempatkan pada lubang sensor untuk mengukur konsentrasi oksigen di dalam chamber.
4. Nitrogen ditambahkan hingga jarum indikator menunjukkan konsentrasi 5% oksigen.
5. Chamber yang telah berisi flask diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. setelah 24 jam, media kultur diambil dan disaring dengan menggunakan TFF (*Tangential flow filtration*) untuk mendapatkan SH-MSC yang selanjutnya sesuai dengan dosis K3 dan K4.

4.7.5 Pembuatan model *Psoriasis-like* (induksi), Perlakuan dan Pembuatan Preparat pada Subyek Percobaan

1. Tikus yang sudah diadaptasi selama 1 minggu.
2. Rambut pada bagian punggung tikus potong hingga bersih.
3. Hewan dioleskan *Imiquimod cream* 5% 100 mg dioles di kulit punggung selama 6 hari.
4. Dilakukan validasi secara makroskopis dengan memeriksa lesi skuama dan eritema di tubuh tikus sesuai penilaian makroskopis (eritema, skuama berlapis, plak dan iritasi) serta mikroskopis menggunakan Hematoksilin Eosin untuk menganalisis penebalan keratinosit di stratum korneum.
5. Validasi dilakukan dengan modifikasi penelitian terdahulu untuk menciptakan kondisi psoriasis-like yang diinduksi *Imiquimod*. Maksud tidak dicukur terlebih dahulu untuk menciptakan kondisi baseline kulit yang sama-sama normal di awal dan melihat proses pertumbuhan proliferasi keratinosit antara tikus sehat dan tikus diinduksi *Imiquimod* 100 mg.⁵⁷

6. Pemberian injeksi subkutan SH-MSD 100 μ L (K3) dan 200 μ L (K4) pada hari ke 14 dan ke 16. Tikus kontrol negatif diberikan perlakuan suntikan NaCL fisiologis 50 μ L. Diamati perubahan kulit dan kondisi kesehatan tikus sampai hari dilakukan terminasi dan pengambilan jaringan.
7. Sampel kulit pada semua kelompok diambil untuk dibuat preparat histologi dengan metode parafin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).
 - Sampel kulit tikus pada semua kelompok diambil dan difiksasi dalam larutan NBF 10%
 - Sampel kulit dibilas dengan alkohol 70% sampai bersih dari sisa larutan fiksatif.
 - Sampel kulit dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut masing-masing selama 30 menit untuk proses dehidrasi.
 - Sampel kulit dimasukkan ke dalam toluol sampai jernih atau transparan selama 1 jam.
 - Infiltrasi ke dalam parafin dilakukan di dalam oven pada suhu 56-60°C dengan cara memasukkan sampel kulit ke dalam campuran toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Sampel kulit dimasukkan ke dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III masing-masing perlakuan selama 30 menit.
 - Embedding, sampel kulit dari parafin murni ditanamkan ke dalam cetakan blok parafin yang telah berisi parafin cair dan ditunggu hingga parafin mengeras.

- Sampel kulit dalam blok paraffin diiris dengan ketebalan irisan sebesar 6 μm menggunakan mikrotom.
- Irisan sampel jaringan ditempelkan pada gelas benda dengan cara mengoleskan Mayer's albumin dan ditetesi sedikit akuades lalu dipanaskan di atas hot plate hingga irisan menempel dengan sempurna.
- Sediaan histologis dideparafinasi dengan cara dimasukkan ke dalam xylol selama 24 jam.
- Staining (pewarnaan) dilakukan dengan pewarna hematoksin-eosin. Kandungan xylol diserap dengan kertas saring, kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, dan akuades masing masing dilakukan selama 1-2 menit. Preparat dimasukkan ke dalam pewarna Hematoksin selama 5-10 detik, lalu dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Proses selanjutnya preparat dicelupkan ke dalam alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% masing-masing selama 3-5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam eosin selama 5-10 menit, kemudian dicelupkan ke alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96% masing-masing selama 3-5 menit, lalu dikeringkan dengan kertas saring. Preparat dimasukkan ke dalam xylol selama 15 menit, kemudian sediaan histologis ditetesi canada balsam.
- Preparat ditutup kaca penutup, diberi label, dan disimpan dalam kotak sediaan.

4.7.6 Ekstraksi RNA dan sintesis cDNA

1. Sampel kulit sebanyak 100 mg kemudian dipotong menjadi bagian bagian kecil dimasukkan kedalam tube yang telah terisi 50 mL RNA Iso Plus. Sisi lain, PBMCs sebanyak 107 sel masing-masing ditransfer ke mikro tube dan diberi 50 mL RNA Iso Plus. Potongan kulit ditumbuk menggunakan micropastle dan ditambahkan lagi RNA Iso Plus sebanyak 50 mL dan disimpan di suhu ruang selama 5 menit. Ditambahkan 20 mL chloroform kemudian lakukan pemusingan hingga larutan menjadi putih susu.
2. Inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 menit, serta disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C hingga larutan dalam tube terlihat memiliki 3 lapisan. Lapisan yang paling atas berupa RNA (fase liquid), lapisan kedua berupa DNA (fase semisolid) dan lapisan bawah mengandung debris-debris sel.
3. Lapisan paling atas dipindahkan ke tabung centrifuge baru dan volumenya diukur, dan ditambahkan isopropanol dengan volume yang sama dengan RNA yang diambil dari lapisan paling atas.
4. Tabung Eppendorf digoyang-goyangkan hingga muncul benang benang putih, kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 10 menit pada suhu 40°C. Supernatan dibuang sampai terlihat pelet berwarna putih di dasar tabung.
5. Setelah kering ditambahkan 100 mL etanol 70% dalam larutan (Diethyl pyrocarbonat) DEPC lalu bolakbalikkan berulang kali serta disentrifugasi kembali pada 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 40°C.

6. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 30-50 μm . Campuran diinkubasi pada suhu 55 $^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit. Selanjutnya didapatkan total RNA solution dan disimpan pada suhu -80 $^{\circ}\text{C}$. RNA dikuantifikasi dengan Nanodrop. Hasil kuantifikasi dihitung untuk dijadikan 3000 ng.

- Sintesis cDNA dengan membuat campuran A dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung, 1 μL OligoDT serta PCR water hingga mencapai volume 10 μL , kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 70 $^{\circ}\text{C}$.
- Campuran A ditambah dengan campuran B yang terdiri dari 5X buffer 4 μL , DEPC-Treated H₂O 5 μL , ReverTraAce 1 μL . Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 25 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit, 42 $^{\circ}\text{C}$ selama 50 menit dan 85 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit.

4.7.7 Pembacaan IL-17 dan IL-10 dengan *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

1. Ekspresi gen IL-17(A) dan IL-10 dianalisis menggunakan *quantitative Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR).
2. Campurkan 1 μL cDNA sampel, 2x SensiFAST SYBR no ROX Mix sebanyak 10 μL , forward primer 0,8 μL , reverse primer 0,8 μL dan NFW 7,4 μL . Primer IL-17A yang digunakan adalah R: 5'- GTC CTC CAG TCC AGT AGA TG -3'dan F 5'- TAA GCT CCA AGA CAA AGG GTC - 3'

Primer IL-10 yang digunakan adalah R: 5'-TCC ATC ATG CCT GGC TCA-3' dan F: 5'-GGT GTT TTA GCT TTT CAT TTT-3' (*Genebank accession number*: NM_010548)

3. Proses qPCR dilakukan menggunakan suhu 95°C selama 2 menit, 95°C selama 5 detik dan 56°C selama 20 detik selama 40 siklus. Proses qPCR dilakukan dengan menganalisis *probe* terhidrolisis pada panjang gelombang 520 nm. Peningkatan ekspresi gen dianalisis dalam rasio peningkatan terhadap *house keeping gen* dengan menggunakan software EcoStudy.

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

4.8.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Integrated *Laboratory of Stem cell and Cancer Research* (SCCR) dan FK Unissula Semarang.

4.8.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juli-Agustus 2025

4.9. Analisa Data

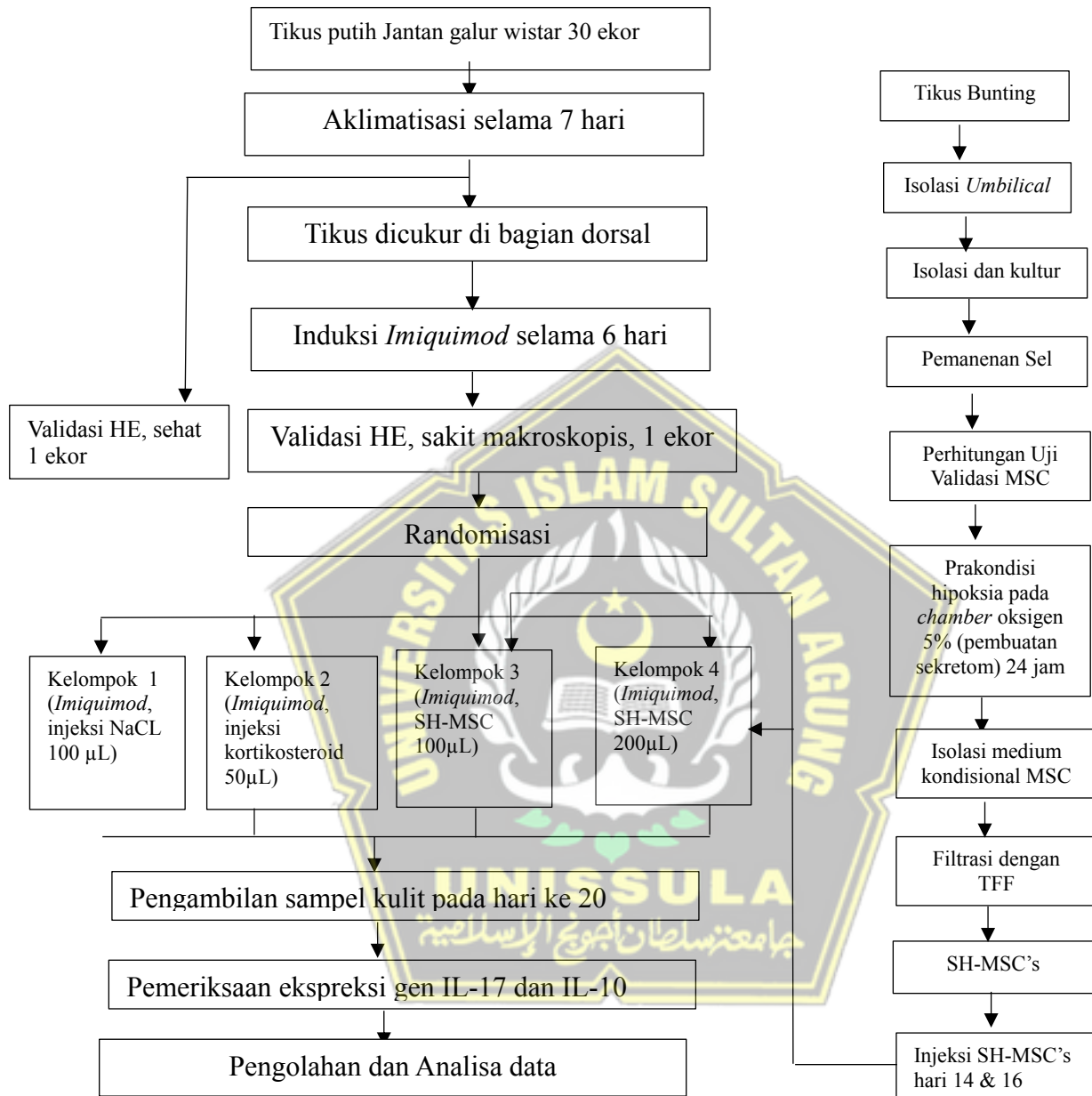
Data yang diperoleh dari penelitian ini selanjutnya akan dilakukan uji deskriptif menggunakan skala data rasio. Analisis normalitas dan variasi data kemudian dilakukan menggunakan uji Shapiro Wilk dan Levene's Test. Pada sebaran data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), dilakukan uji beda One Way Anova. Jika terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok penelitian setelah uji One Way Anova, maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian. Jika data ada yang tidak normal dilakukan transformasi lalu dilakukan uji Tamehen.

Pada sebaran data tidak normal ($p < 0,05$), dilakukan uji Kruskal Wallis. Jika terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada semua kelompok

penelitian setelah uji Kruskal Wallis, maka dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian. Pengolahan analisis data pada penelitian ini menggunakan aplikasi dekstop SPSS 27.0 for Windows.



4.10. Alur Penelitian



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian pemberian secretom hipoxia mesenkimal stem sel terhadap ekspresi IL 10 dan IL17 pada tikus galur wistar model *psoriasis-like*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilaksanakan di laboratorium *Stem cell and Cancer Research* (SCCR) Semarang, selama bulan Juli - Agustus 2025

Penelitian ini memakai tikus jantan galur wistar sebagai subjek penelitian, dengan total 24 ekor tikus seperti rumus *Federer*. Semua kelompok terdiri dari tikus jantan galur wistar sehat model *psoriasis-like* yang diinduksi *imiquimod* dan diberi injeksi subkutan topikal seluas 2 x 2 cm di bagian dorsal tikus. Tikus-tikus ini dibagi menjadi empat kelompok sesuai perlakuan yang diberikan.⁵¹⁵⁶ Adapun pembagian tikus menjadi empat kelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan: Kelompok 1 (K1) terdiri dari tikus jantan galur wistar dicukur sudah diinduksi *Imiquimod* diberi NaCl 0,05 ml, Kelompok 1 (K2) terdiri dari tikus jantan galur wistar dicukur sudah diinduksi *Imiquimod* 100 mg diberi injeksi subkutan topikal Hidrokortison 0,05 ml,. Kelompok 1 (K3) terdiri dari tikus jantan galur wistar dicukur sudah diinduksi *Imiquimod* diberi injeksi subkutan SH-MSCs 100 μ L. Kelompok 1 (K4) terdiri dari tikus jantan galur wistar dicukur sudah diinduksi *Imiquimod* diberi injeksi subkutan SH-MSCs 200 μ L.

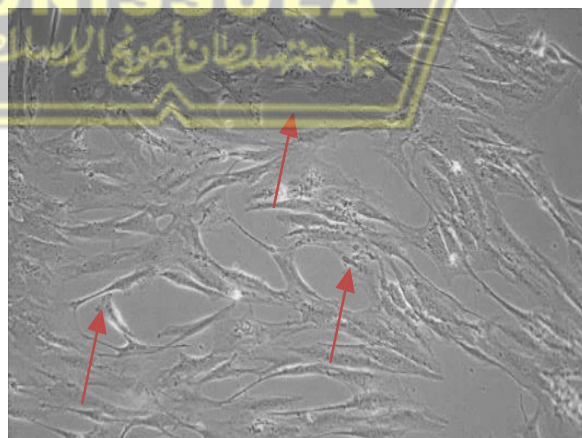
SH-MSCs yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari tali pusar tikus yang berusia 21 hari dan sedang bunting. Validasi MSCs melibatkan penilaian

kemampuan diferensiasi menjadi sel-sel tulang (osteogenik) dan sel-sel tulang (adipogenik) analisis karakteristik fenotif sel dengan menggunakan metode *flowcytometry*. Setelah sel-sel ini lulus uji validasi, selanjutnya dilakukan inkubasi dalam kondisi hipoksia.

5.1 Hasil Penelitian

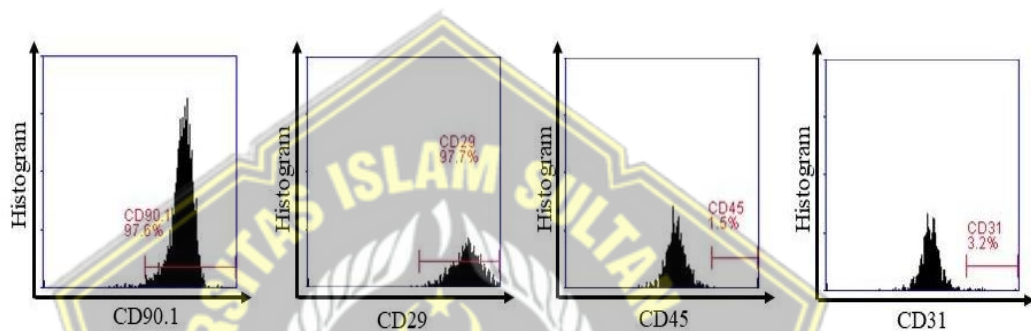
5.1.1 Isolasi dan diferensiasi MSCs menjadi osteosit dan berdeferensiasi menjadi Adiposit

MSCs yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari tali pusat tikus bunting 21 hari, isolasi MSC di Laboratorium SCCR. Selanjutnya, hasil isolasi ini dikultur pada flask plastik yang telah dilengkapi dengan medium khusus. Setelah mencapai pasase ke-5, hasil kultur MSCs menunjukkan gambaran sel yang melekat pada dasar flask dengan morfologi yang menyerupai sel berbentuk *spindle-like cell* saat diamati di bawah mikroskop, ditunjukkan pada gambar berikut.



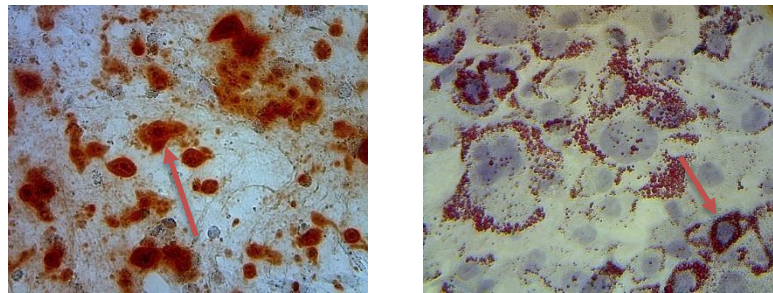
Gambar 5.1 Hasil kultur MSCs. Tampak sel berbentuk *spindle-like* dengan pembesaran 100x.

Validasi isolasi MSCs diperiksa melalui penggunaan flow cytometry untuk menguji kemampuan MSCs dalam mengungkapkan berbagai penanda permukaan yang khusus. Temuan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa MSCs mampu mengekspresikan CD90.1 sebanyak 97,6%, CD29 sebanyak 97,7%, sementara CD45 hanya diekspresikan sekitar 1,5%, dan CD31 sekitar 3,2%, seperti pada gambar 5.2.



Gambar 5.2 Analisis *Flow cytometry* terhadap ekspresi CD90.1 , CD29, CD45 dan CD31

Penelitian ini juga menguji kemampuan MSCs untuk mengalami diferensiasi menjadi jenis sel dewasa yang berbeda. MSCs diberi medium yang dirancang khusus untuk memfasilitasi diferensiasi menjadi osteosit dan adiposit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MSCs mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan adiposit, yang dapat diidentifikasi melalui endapan kalsium serta pengamatan adanya lemak berwarna merah dalam pewarnaan *Alizarin Red* dan pewarnaan *oil Red dye* pada masing-masing kultur osteogenik dan adipogenik.



Gambar 5. 3 Gambar deferensiasi sel MSCs

MSCs mampu berdeferensiasi menjadi osteosit (kiri) dan (kanan) berdiferensiasi menjadi Adiposit setelah pemberian pewarnaan *alizarin red* dan *oil red* pada pembesaran 100x (ditunjukkan dengan panah hitam)

5.1.2 *Profiling* kandungan biomolekuler SH-MSCs

Setelah menginkubasi MSCs dari tali pusat dalam kondisi hipoksia selama 24 jam, *Conditional Medium* dikumpulkan, yaitu medium pertumbuhan dari SH-MSC. Dalam penelitian ini, para peneliti mengisolasi sitokin dan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam medium SH-MSCs untuk mendapatkan SH-MSCs yang murni. Peneliti menggunakan strategi TFF berdasarkan kombinasi berat molekul dengan batasan yang telah ditentukan dalam penelitian sebelumnya. Peneliti mengisolasi molekul tersebut menggunakan kaset filter dengan tiga kategori berat molekul, yaitu 10-50 kDa sebanyak 50%, 50-100 kDa sebanyak 25%, dan 100-300 kDa sebanyak 25%. Setelah proses penyaringan, peneliti melakukan karakteristik untuk mengukur tingkat sitokin dan faktor pertumbuhan yang terkandung dalam SH-MSCs menggunakan uji ELISA. SH-MSC diketahui mengandung VEGF 500,20 pg/mL, IFN- γ 44,04 pg/mL, dan IL-10

5.1.3 Validasi pembuatan animal model *Psoriasis Like*

Berdasarkan hasil validasi tikus model *Psoriasis like* (gambar 5.4) membuktikan bahwa *imiquimod* meningkatkan pertumbuhan keratinosit dengan perlahan munculnya skuama dan peningkatan penebalan kulit setelah pemberian induksi selama 6 hari berturut-turut dinilai jika dibandingkan dengan kulit tikus sehat. Adapun penilaian yang telah disesuaikan dinilai berdasarkan penebalan kulit baik secara makroskopis dan histologi, adanya eritema (kemerahan) & skuama.⁵⁸ gambar berikut:



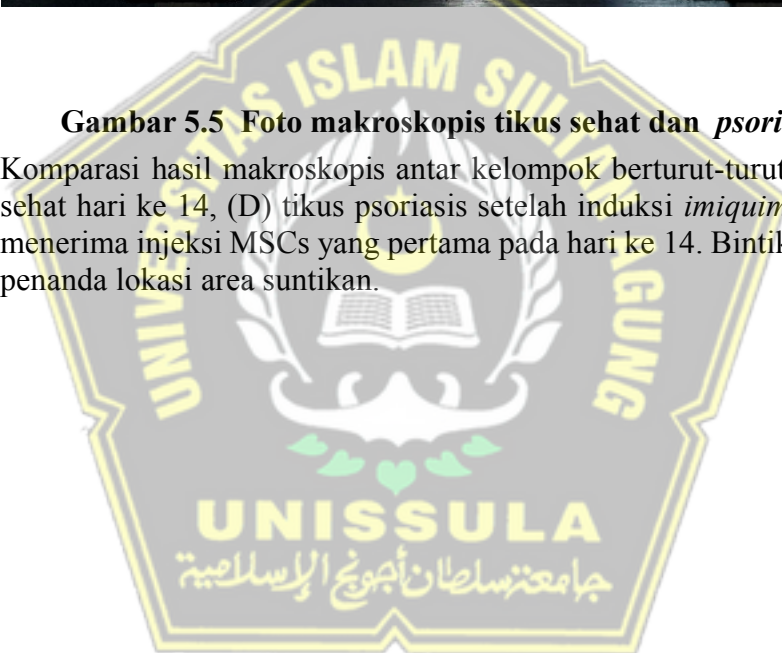
Gambar 5.4. Foto Komparasi Tikus sebelum induksi

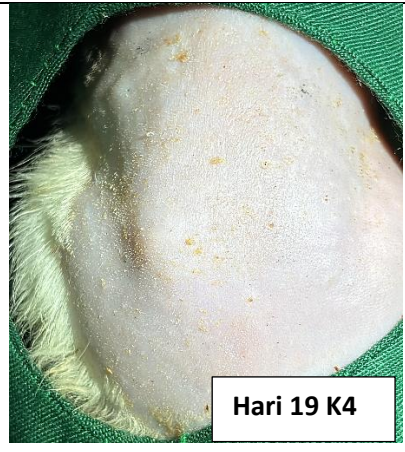
Makroskopis tikus hari ke 8 sebelum induksi. (A) tikus sehat dicukur hari ke 8 setelah aklimatisasi, (B) tikus *psoriasis like* hari ke 8 sebelum induksi *imiquimod*



Gambar 5.5 Foto makroskopis tikus sehat dan *psoriasis like*.

Komparasi hasil makroskopis antar kelompok berturut-turut dari C) tikus sehat hari ke 14, (D) tikus psoriasis setelah induksi *imiquimod* 6 hari dan menerima injeksi MSCs yang pertama pada hari ke 14. Bintik hitam adalah penanda lokasi area suntikan.



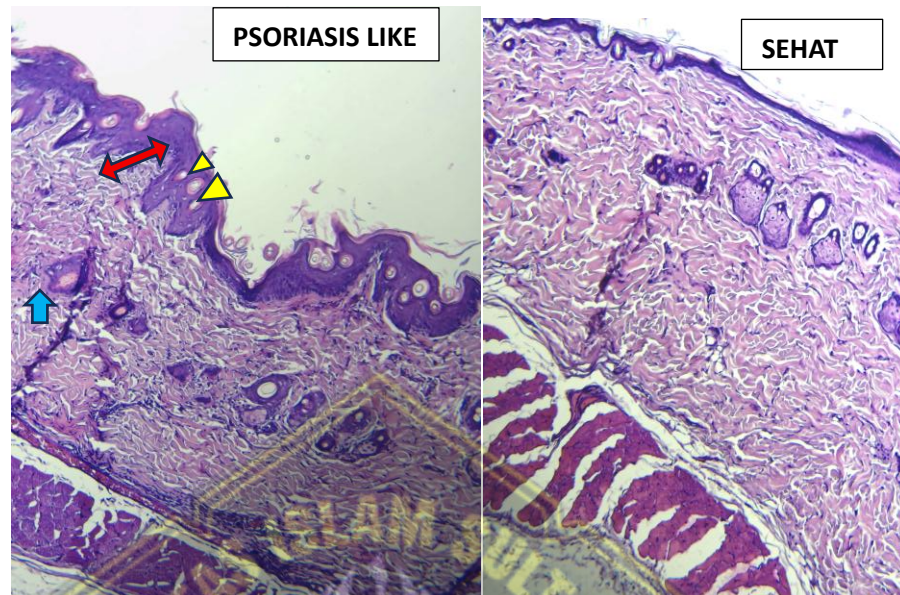
K1 (Kontrol NaCl)	K2 (Kontrol Hidrokortison)	K3 (SH-MSC 100 μ L)	K4 (SH-MSC 200 μ L)
 Hari 13 K1	 Hari 13 K2	 Hari 13 K3	 Hari 13 K4
 Hari 18 K1	 Hari 19 K2	 Hari 19 K3	 Hari 19 K4

Gambar 5.6 Pengamatan Lesi Kulit *Psoriasis Like*

Pengamatan lesi kulit berturut-turut mulai setelah mendapat suntikan kedua (hari ke 16), sampai dengan hari sebelum diterminasi (hari ke 19) pada tikus *psoriasis like*. Tampak kelompok perlakuan pemberian SH-MSCs 100 μ L (K3) dan 200 μ L (K4) menunjukkan adanya pengurangan skuama yang lebih nyata (permukaan kulit lebih bersih) dan luka bekas suntikan yang membaik, sedangkan kelompok kontrol negative skuama masih tebal warna keperakan, K2 (Hydrocortison) skuama berkurang.

Titik hitam merupakan penanda lokasi suntikan.

Kondisi perlakuan hewan coba yang mengalami pengelupasan kulit berlebih, dilakukan analisa histopatologi pewarnaan HE. Hasil analisa pewarnaan HE kelompok tikus yang diinduksi dengan *Imiquimod* 100 mg selama 6 hari mengalami penebalan (sekitar stratum korneum dan berskuama), hasil pengamatan preparat *psoriasis like* mengkonfirmasi penebalan epidermis (akantosis) menandakan pengelupasan epidermis yang cepat, sedangkan pada kelompok sehat terdapat stratum korneum relatif tipis tanpa akantosis, susunan sel normal tanpa infiltrasi sel, hal ini menunjukkan bahwa tikus model *psoriasis like* tervalidasi, seperti yang terlampir pada gambar 5.7 berikut:



Gambar 5.7 Hasil Validasi Psoriasis Like

Komparasi hasil pengecatan HE hari ke 14 antara tikus sehat dicukur dan tikus *psoriasis like* diinduksi *imiquimod*. Panah biru menunjukan dilatasi vaskuler. Segitiga kuning merupakan parakeratosis dengan nuclei. Panah merah bolak-balik Adalah penebalan epidermis.

5.1.5 Efek pemberian injeksi SH-MSCs 100 μ L & 200 μ L pada ekspresi gen IL-17 dan IL-10

Pada tabel 5.1 deskriptif dari uji tes normalitas Saphiro-Wills ditemukan $P=0.076$ ($P>0.05$) artinya distribusi normal. Lalu dilanjutkan uji *anova*, dari uji *anova* terdapat perbedaan bermakna dari ekspresi IL-17 antar kelompok namun dari test homogenitas uji varian (*lavene test*) ditemukan varian data yang tidak homogen. Saat transformasi varian tetap tidak homogen. Maka dilakukan uji alternatif *Nonparametric test* yaitu uji *Kruskal Wallis*

Tabel 5.1 Perbedaan rerata Ekspresi IL-17 antar kelompok

variabel	K1	K2	K3	K4	P value
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	
Ekspresi IL-17	1.00 ± 0.0	1,39 ± 0.51	0.82 ± 0.12	0.52 ± 0.19	0.002
<i>Shapiro-Wilk</i>					0.76 (0>0.05)
<i>Levene's Test</i>					0.03 (p<0.05)

Data tabel 5.1 menunjukkan rerata ekspresi IL-17 berbeda bermakna ($p=0.002$) antara Empat kelompok (K1,K2,K3 dan K4), kadar terendah pada kelompok K4 (SH-MSCs 200 μ L).

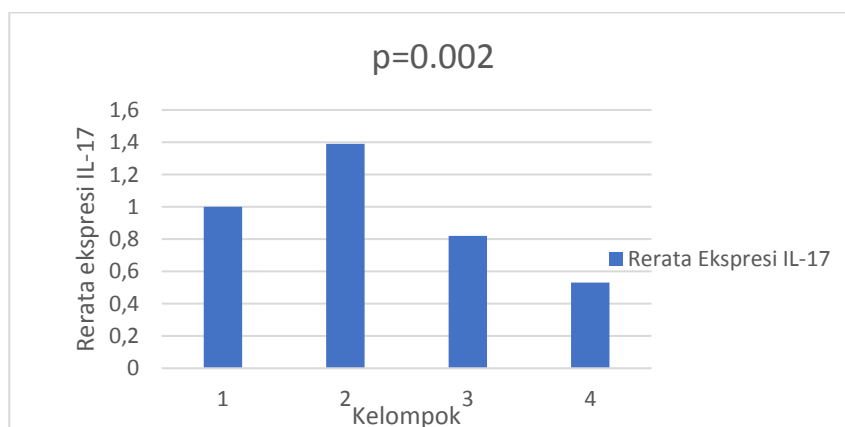
Langkah selanjutnya untuk mengetahui antara kelompok manakah yang berbeda menggunakan uji *Mann Whitney* antara dua kelompok. Seperti tabel di bawah ini :

Tabel 5.2 Nilai p value perbedaan rerata Ekspresi IL-17 antara kelompok

p*value IL-17	K1	K2	K3	K4
K1		0.04	0.002	0.002
K2			0.05	0.02
K3				0.03

*Mann-Whitney Test

Nilai p value dari tabel 5.2, perbedaan bermakna ekspresi IL-17 antara kelompok yang diberikan SH-MSCs dosis 100 μ L dan 200 μ L dibanding kelompok kontrol negative maupun positif. Tampak K2 & K3 tidak ada perbedaan $p=0.055$.



Gambar 5.8 Grafik rerata ekspresi IL 17

Kadar terendah bermakna ($p=0.002$) rerata Ekspresi IL17 pada kelompok K4 ($p<0.05$).

Dari data ekspresi IL-10 telah dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilks* hasilnya distribusi data tidak normal $p=0.019$ ($p<0.05$) kemudian dilakukan transformasi data, hasilnya tetap tidak normal dengan $p=0.002$ ($p<0.05$) hal ini tidak bisa menggunakan uji anova maka dilakukan uji *Nonparametric* yaitu uji *Kruskal Wallis*.

Tabel 5.3 Perbedaan rerata Ekspresi IL-10 antar kelompok dinilai dari *p value*

Variabel	K1	K2	K3	K4	P value
	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	Mean (SD)	
Ekspresi IL-17	1.00 ± 0.0	1.98 ± 0.69	3.15 ± 0.75	3.76 ± 0.16	0.000
<i>Shapiro-Wilk</i>					0.002 ($0>0.05$)
<i>Levene's Test</i>					0.004

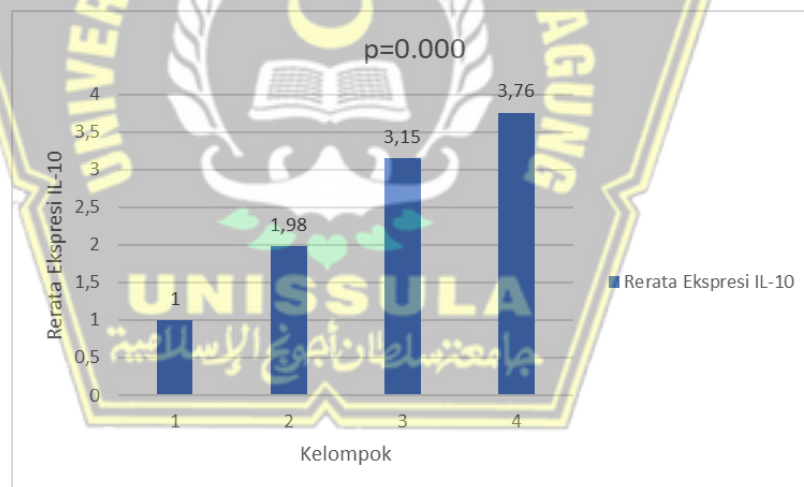
Dari Tabel 5.3, hasil uji *Kruskal Wallis* didapat ada perbedaan bermakna ($p=0.000$) rerata ekspresi IL-10 antara Empat kelompok (K1,K2,K3 dan K4), kadar tertinggi IL-10 pada kelompok K4 (pemberian SH-MSCs 200 μ L).

Langkah selanjutnya untuk mengetahui antara kelompok manakah yang berbeda menggunakan uji Mann Whitney antara dua kelompok. Seperti tabel ini:

Tabel 5.4 Nilai *p Value* antar Kelompok IL-10

<i>p*value</i> IL-10	K1	K2	K3	K4
K1		0.002	0.002	0.002
K2			0.025	0.004
K3				0.378

Nilai *p value* dari tabel 5.4, terdapat perbedaan bermakna ekspresi IL-10 antara kelompok yang diberikan SH-MSCs dosis 100 μ L maupun 200 μ L dengan kelompok kontrol negative maupun kontrol positif. Kadar tertinggi bermakna ekspresi IL-10 pada kelompok yang diberikan SH-MSCs 200 μ L



Gambar 5.9 Grafik rerata ekspresi IL 10

Kadar tertinggi bermakna rerata Ekspresi IL10 pada kelompok K4 (pemberian SH-MSCs 200 μ L), $p=0.000$ ($p<0.05$).

5.2 Pembahasan

Psoriasis adalah penyakit inflamasi kronik yang memiliki keterlibatan autoimun sebagai salah satu proses patogenesisnya.¹⁷ Adapun beberapa faktor predisposisi seperti obat-obatan, sindroma metabolik serta kelainan genetik mendasar polimorfisme gen HLA-C yang juga berperan pada penyakit autoimun lain seperti peradangan sendi rematik dan penyakit radang usus (*IBD*)⁵⁹

Penelitian yang dilakukan kali ini menggunakan induksi topikal krim *imiquimod* 100 mg menyebabkan kulit tikus muncul plak, skuama serta tanda-tanda peradangan secara makroskopis sehingga menyerupai gejala psoriasis (*psoriasis-like*). Secara patogenesis psoriasis menunjukkan gejala uniformis soal hiperproliferasi sel di jaringan kutan dan subkutan ditandai pengelupasan secara serentak dan menimbulkan skuama. Ini sesuai dengan studi lain yang mencoba berbagai cara induksi *psoriasis-like* baik lewat rekayasa genetik⁵¹, transplantasi sel kulit psoriasis ke kulit sehat⁵², ataupun menggunakan injeksi IL-23. Kemunculan lesi yang paling sering dari beragam hewan model ini ada perubahan: 1.) epidermis mulai dari parakeratosis, hiperplasi, akantosis; 2.) vaskuler, meningkatnya aktivitas vaskuler seperti vasodilatasi; 3.) perubahan secara imun, ditemukannya infiltrasi sel mast, sel limfosit dan sel dendrit. Ini semua juga ditemukan pada validasi mikroskopik dan sesuai dengan studi terdahulu.⁵¹

Proses membuat hewan model psoriasis tidak mudah dikarenakan perbedaan target genetik dari manusia ke hewan lalu, kebanyakan penelitian hewan model *psoriasis-like* berada dalam lingkungan terkontrol dan hal itu berbanding terbalik dengan penderita psoriasis pada manusia lebih cenderung multifaktorial.⁶⁰

Penelitian ini didapatkan hasil ada perbedaan bermakna dalam ekspresi IL-17 antar kelompok. Ini sesuai dengan penelitian sebelumnya, pada penelitian sebelumnya menggunakan sekretom campuran dengan *hyaluronic acid* selama 9 hari pemberian menunjukkan perbaikan skor PASI secara makroskopis.²⁵

Hasil uji statistik ekspresi IL-17 menggunakan uji non parametrik sudah sesuai ketika salah satu data tidak normal tapi juga bisa tetap dilakukan uji *annova* melalui transformasi data dan dilanjutkan uji *Tamhane*. Pengujian *kruskall wallis* dengan $p=0.002$ menunjukkan hasil ekspresi IL-17 menurun secara signifikan dengan pemberian sekretom. Hasil ekspresi IL-10 meningkat dengan $p=0.000$ dianalisis hasil data tidak normal dilakukan *saphiro wilk* membuktikan hipotesis jika hasil ekspresi IL-10 meningkat bermakna setelah pemberian injeksi sekretom sebanyak dua kali. Hasil rerata ekspresi IL-17 dari analisis PCR menunjukkan hasil tidak berbeda jauh dikarenakan tidak adanya kelompok sehat tanpa perlakuan yang bisa dimasukkan sebagai pembagi sehingga hasilnya 1.00 seperti terlampir.^{70 71}

Patogenesis dari psoriasis sendiri terjadi akibat aktivasi jalur inflamasi mulai dari NF- κ B, MAPK, dan JAK-STAT. Ketika faktor lingkungan dan predisposisi genetik muncul membuat pertahanan imun bawaan yang diinisiasi aktivasi NF- κ B yang nantinya akan mengaktifkan TNF- α , IL-1 β lewat TLR. Nanti NF- κ B tak aktif menempel ke sitoplasma I κ B mengaktifkan ligan terhadap reseptor sehingga enzim I κ B kinase (IKK) aktif mendegradasi I κ B yang nanti aktifkan NF- κ yang berpindah lokasi ke inti sel dan mengaktifkan gen pro-inflamasi (contoh: IL-6, IL-23, IL-17). IL-23 turut berperan dalam perubahan sel monosit mengaktifasi sel Th 17 yang nantinya akan membuat reaksi berantai pro-

inflamasi ke jaringan keratinosit, Dikarenakan perannya, maka SH-MSC dinilai memiliki kemampuan untuk untuk menanggulangi psoriasis dan mencegah efek ‘aliran arus bawah’ dan menghentikan reaksi inflamasi berantai yang akan terjadi saat IL-17 sudah terbentuk.¹⁸ TLR sendiri berfungsi mengenali mikroba dan memberi sinyal bahaya dari jaringan dan merupakan bagian dari sistem imun bawaan. TLR inilah yang nantinya mempengaruhi sinyal NF- κ B dan IRF (faktor pengatur interferon). Adapun contoh kelainan produksi TLR berlebih pada penderita lupus karena peningkatan produksi IFN kronis.

Faktor lain juga mempengaruhi hasil, bisa jadi hasil makroskopisnya bisa berkembang lebih memuaskan dibanding penelitian ini. Faktor tersebut Adalah ,paparan induksii, dari hasil analisis penelitian terdahulu, paparan induksi lebih lama membuat peralihan respon Th 1 (pro-inflamasi) ke Th 2 (anti infalamasi) sehingga ekspreksi yang ditemukan juga semakin banyak.²² Faktor lain juga bisa disebabkan oleh jumlah dosis yang kurang atau dibutuhkannya gabungan pemberian terapi lain supaya bisa memberikan hasil lebih signifikan melihat beberapa studi menggunakan agen biologis lain seperti *clabetasol*.⁶¹

Selain itu faktor human *error* juga bisa terjadi, di saat penelitian titik suntikan tidak ikut terambil sampel kulit yang diperiksa, lokasi penyuntikan yang kurang konsisten bisa juga menjadi penyebab, dikarenakan tikus terus menerus bergerak dan memberikan respon menggaruk tempat suntikan dan menggosokan punggungnya di dinding tempat tinggalnya. Terdapat 2 kelompok tikus dari K1 & K3 dilaporkan menggaruk punggungnya dekat lokasi suntikan setiap sesudah diberi perlakuan. Di saat penelitian pada hari ke 18 satu tikus dari K1 ditemukan

meninggal, tikus tersebut sejak perlakuan pertama memang cenderung sedikit makan dan berat badannya kurang dari 200 gr dibandingkan tikus lainnya.

Beberapa tikus dari kelompok K2 & K3 sekitar 4 ekor saat hari ke 12 saat induksi ditemukan mengalami diare. Tapi ketika induksi *imiquimod* berakhir dan menginjak hari ke 15, diare langsung berhenti. Terdapat berbagai faktor, bisa jadi karena hewan model mengalami respon alergi terhadap *imiquimod* atau pengaruh pemberian kortikosteroid injeksi karena disregulasi sel T yang menganggap *imiquimod* sebagai benda asing.⁶² Adapun pemilihan injeksi hidrokortison karena dinilai sebagai steroid yang lebih aman dipakai jangka Panjang secara pemberian subkutan dan mudah didapat dalam praktek klinik.⁶³

Hasil penelitian ini sesuai penelitian terdahulu terhadap penekanan aktivitas ekspresi sitokin inflamasi ekspresi IL-17, IL23, CCL 20 pada mencit pada pemberian sel MSC selama tujuh hari.¹⁷ Pemilihan pemberian sekretom memiliki hasil sesuai dengan penelitian terdahulu dengan eksosom dimana ekspresi STAT3/p-STAT 3 sebagai salah satu jalur pembentukan agen inflamasi mengalami penurunan kadar di ELISA.⁷⁵ Pemilihan pemberian dua kali pada penelitian ini sesuai dengan studi dari Singapura eksosom secara topikal tiga hari berturut-turut pada tikus diinduksi *Imiquimod* selama lima hari sehingga mirip psoriasis berat, memiliki efek menurunkan IL-17, IL-23 dan menurunkan aktivasi kompleks C5b-9 pada stratum korneum, menunjukkan kinerja yang tidak jauh berbeda meskipun diberikan lewat suntik.⁷⁶ Pemberian injeksi *stem cell* lewat suntik dilakukan dengan infus juga sudah sesuai dengan hasil terdahulu⁷⁷ Pemberian dosis sebanyak

100 μ L dan 200 μ L sesuai penelitian sebelumnya dimana bedanya diberikan secara topikal perbaikan kondisi *psoriasis-like* dan menurunkan ekspresi gen IL-6.⁷

Kekurangan peneliti disini tidak melakukan pengukuran penebalan kulit secara berkala, hanya dilakukan saat validasi tikus sebagai data tambahan. Lalu penanda lokasi suntikan seharusnya menggunakan spidol yang permanen tanpa menggunakan bahan yang mempengaruhi hasil pemberian perlakuan atau induksi. Serta tidak adanya kelompok sehat.



BAB VI

KESIMPULAN

6.1 Kesimpulan

6.1.1 Pemberian SH-MSC 100 μ L dan 200 μ L pada model *psoriasis-like* terbukti bermakna berpengaruh terhadap ekspresi IL-17 dan IL-10

6.1.2 Ada perbedaan bermakna rerata ekspresi IL-17 antara kelompok yang diberikan SH-MSC 100 μ L dan SH-MSC 200 μ L dengan kelompok kontrol negatif maupun kelompok kontrol positif.

6.1.3 Ada perbedaan bermakna rerata ekspresi IL-10 antara kelompok yang diberikan SH-MSC 100 μ L dan SH-MSC 200 μ L dengan kelompok kontrol negative maupun kelompok kontrol positif.

6.2 Saran

6.2.1 Jika penelitian diulang dengan metode yang sama maka sebaiknya ditambahkan penilaian validasi modifikasi PASI untuk tikus model *psoriasis-like*.

6.2.2 Bisa ditambahkan usulan variabel IL-23 yang berperan dalam inflamasi akut.

6.2.3 Desain menggunakan *Pre-Post study design* sehingga bisa terlihat lebih baik untuk perbandingannya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mutmainna et al. Psoriasis vulgaris. *J Med Prof.* 2020;2(2):129–34.
2. Stănescu AMA, Cristea AMA, Bejan GC, Vieru M, Simionescu AA, Popescu FD. Allergic Contact Cell-Mediated Hypersensitivity in Psoriasis: A Narrative Minireview. *Med.* 2022;58(7):1–10.
3. Kemala, Fidhia; Goentoro et al. Psoriasis Vulgaris [Internet]. 14 November 2023. 2023 [cited 2025 Aug 11]. p. 1. Available from: <https://helohehat.com/penyakit-kulit/psoriasis/psoriasis-vulgaris/>
4. BPS. Dalam Angka Dalam Angka. Kota Kediri Dalam Angka. 2018;1–68.
5. Wijaya GN, Hidayat LL. Self-stigma dan kualitas hidup orang dengan psoriasis: Menilik peranan self-compassion sebagai moderator. *Pers Psikol Indones.* 2023;11(2):188–212.
6. Novianto E, Budianti W, Fitri E, Wiryadi B, Soebaryo R, Pusponogoro E, et al. Indonesian clinical practice guidelines for systemic and biologic agents for adults with plaque psoriasis. *J Gen - Proced Dermatology Venereol Indones.* 2021;5(3):152–70.
7. Wikanta ET, Subchan P, Putra A. The Effect of Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) Cream on IL-6 Gene Expression (In Vivo Study on Psoriasis-like Rats Model Induced by SH-MSCs). 2023;06(03):1173–7.
8. Ricardo JW, Gosch M, Wang Y, Wright DN, Jorizzo J. Risk of skin atrophy induced by short-term topical corticosteroid use in atopic dermatitis lesional skin: A systematic review. *JAAD Int [Internet].* 2023;12:165–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2023.05.012>
9. Gabros, Sarah; Nessel Trevor; Zito P. Topical Corticosteroids [Internet]. Jan 2025. Miami: StatPearls; 2025. 2 p. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532940/>
10. Wortel I, Meer LT van der, Kilberg MS, Leeuwen FN van. Mesenchymal Stem Cell Immunomodulation: Mechanisms and Therapeutic potential. *Physiol Behav.* 2017;176(3):139–48.
11. Ren X, Zhong W, Li W, Tang M, Zhang K, Zhou F, et al. Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Psoriasis Through TNF- α / NF- κ B / MMP13 Pathway. 2023;46(3).
12. Kuang PP, Liu XQ, Li CG, He BX, Xie YC, Wu ZC, et al. Mesenchymal stem cells overexpressing interleukin-10 prevent allergic airway inflammation. *Stem Cell Res Ther [Internet].* 2023;14(1):1–15. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03602-2>
13. Zhou X, Chen Y, Cui L, Shi Y, Guo C. Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte perspective. *Cell Death Dis.* 2022;13(1).
14. Sieminska I, Pieniawska M, Grzywa TM. The Immunology of Psoriasis—Current Concepts in Pathogenesis. *Clin Rev Allergy Immunol [Internet].*

- 2024;66(2):164–91. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12016-024-08991-7>
15. Dashti M, Mohammadi M, Dehnavi S, Sadeghi M. Immunomodulatory interactions between mesenchymal stromal/stem cells and immune cells in psoriasis: therapeutic potential and challenges. *Stem Cell Res Ther* . 2025;16(1).
 16. Djaya AMES. Diagnosis Dan Tatalaksana. *J Med Utama*. 2019;02(01):402–6.
 17. Lee YS, Sah SK, Lee JH, Seo K won, Kang K sun. Human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells ameliorate psoriasis-like skin inflammation in mice. *Biochem Biophys Reports* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrep.2016.10.002>
 18. De La Cruz-Vargas JA, Gómez H, Talavera JE, Gonzales-Rospigliosi C, Córdova Salazar AA, Pichardo-Rodriguez R. Prognostic Relevance of Inflammatory Cytokines IL-6 and TNF-Alpha in Patients with Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Curr Oncol*. 2025;32(6):1–17.
 19. Yaghoubi A, Azarpira N, Karbalay-Doust S, Daneshi S, Vojdani Z, Talaei-Khozani T. Prednisolone and mesenchymal stem cell preloading protect liver cell migration and mitigate extracellular matrix modification in transplanted decellularized rat liver. *Stem Cell Res Ther*. 2022;13(1):1–18.
 20. Kuang YH, Zhu W, Lin G, Cheng LM, Qin Q, Huang ZJ, et al. Expert Consensus on the Application of Stem Cells in Psoriasis Research and Clinical Trials. *Aging Dis*. 2024;0.
 21. Kresch M, Weingarten M, Guenin S, Wei N, Elbogen E, Correa da Rosa J, et al. Risk of rebound psoriasis flare from systemic corticosteroid use in patients with psoriasis: A retrospective cohort study. *J Am Acad Dermatol* [Internet]. 2023;88(5):1182–3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2022.12.019>
 22. Mosca M, Hong J, Haderl E, Hakimi M, Liao W, Bhutani T. The role of il-17 cytokines in psoriasis. *ImmunoTargets Ther*. 2021;10(August):409–18.
 23. Liu T, Li S, Ying S, Tang S, Ding Y, Li Y, et al. The IL-23/IL-17 Pathway in Inflammatory Skin Diseases: From Bench to Bedside. *Front Immunol*. 2020;11(November):1–13.
 24. Brembilla NC, Boehncke WH. Revisiting the interleukin 17 family of cytokines in psoriasis: pathogenesis and potential targets for innovative therapies. *Front Immunol*. 2023;14(May):1–8.
 25. Nguyen LTH. Signaling pathways and targets of natural products in psoriasis treatment. *Explor Med*. 2022;3(4):345–67.
 26. Rendon A, Schäkel K. Psoriasis pathogenesis and treatment. *Int J Mol Sci*. 2019;20(6):1–28.
 27. Michelle A. Lowes, Chris B. Russell, David A. Martin, Jennifer E. Towne and JG, Krueger. The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by

- keratinocyte responses. *Trends Immunol.* 2014;34(4):174–81.
28. Roy AK, Roy PK. Treatment of Psoriasis by Interleukin-10 Through Impulsive Control Strategy: A Mathematical Study [Internet]. Springer Singapore; 2020. 313–332 p. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/978-981-15-0928-5_15
 29. Kutwin M, Migdalska-Sęk M, Brzezińska-Lasota E, Zelga P, Woźniacka A. An analysis of il-10, il-17a, il-17ra, il-23a and il-23r expression and their correlation with clinical course in patients with psoriasis. *J Clin Med.* 2021;10(24):1–17.
 30. McInnes IB, Illei GG, Danning CL, Yarboro CH, Crane M, Kuroiwa T, et al. IL-10 Improves Skin Disease and Modulates Endothelial Activation and Leukocyte Effector Function in Patients with Psoriatic Arthritis. *J Immunol.* 2001;167(7):4075–82.
 31. Ass. Prof. Dr. Talib Abdulla Hussein, Azhar Jassim Mohsen. Study of Serum Level of Interleukin 2, Interleukin 10 and Tumor necrosis factor- α in sample of Iraqi psoriasis patients. *J Coll Basic Educ.* 2022;21(91):49–60.
 32. Kushary S, Cao X, Ghosh T, Roy PK. A mathematical insight to control the disease psoriasis using mesenchymal stem cell transplantation with a biologic inhibitor. *Sci Rep* [Internet]. 2024;14(1):21897. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-71251-3>
 33. Sarycheva M V., Nadezhdina NA, Nadezhdin S V., Bondarev VP, Mycic A V., Burda YE, et al. Investigating the effect of multipotent mesenchymal stromal cells secretome on imiquimod-induced psoriasis in rats. *Int J Pharm Res.* 2019;11(4):1656–63.
 34. Carrillo D, Edwards N, Arancibia-Altamirano D, Otárola F, Villarroel C, Prieto CP, et al. Efficacy of stem cell secretome loaded in hyaluronate sponge for topical treatment of psoriasis. *Bioeng Transl Med.* 2023;8(2):1–17.
 35. Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Bisri T, Ilyas S, et al. The Role of Mesenchymal Stem Cell Secretome in the Inflammatory Mediators and the Survival Rate of Rat Model of Sepsis. *Biomedicines.* 2023;11(8).
 36. Lusiana L, Darlan DM, Trisnadi S, Putra A, Sumarawati T, Chodijah C, et al. Tropical Journal of Natural Product Research Hypoxia-Induced Mesenchymal Stem Cell Secretome Enhances IL-10 via STAT3 Pathway in a Rat PCOS Model. 2025;9(January):128–33.
 37. Dairov A, Sekenova A, Alimbek S, Nurkina A, Shakhatbayev M. Psoriasis : The Versatility of Mesenchymal Stem Cell and Exosome Therapies. 2024;1–25.
 38. Calautti E, Avallè L, Poli V. Psoriasis: A STAT3-centric view. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1).
 39. Hou R, Li J, Niu X, Liu R, Chang W, Zhao X, et al. Stem cells in psoriasis. *J Dermatol Sci* [Internet]. 2017;86(3):181–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2016.11.006>

40. Poznanski SM, Singh K, Ritchie TM, Aguiar JA, Fan IY, Portillo AL, et al. Metabolic flexibility determines human NK cell functional fate in the tumor microenvironment. *Cell Metab.* 2021;33(6):1205-1220.e5.
41. Diotallevi F, Di Vincenzo M, Martina E, Radi G, Lariccia V, Offidani A, et al. Mesenchymal Stem Cells and Psoriasis: Systematic Review. *Int J Mol Sci.* 2022;23(23).
42. Cho S, Choi SH, Maeng E, Park H, Ryu KS, Park KS. Boosting tumor homing of endogenous natural killer cells via therapeutic secretomes of chemically primed natural killer cells. *J Immunother cancer.* 2025;13(3):1–14.
43. Li G, Liu J, Guan Y, Ji X. The role of hypoxia in stem cell regulation of the central nervous system: From embryonic development to adult proliferation. *CNS Neurosci Ther.* 2021;27(12):1446–57.
44. Phelps J, Sanati-Nezhad A, Ungrin M, Duncan NA, Sen A. Bioprocessing of mesenchymal stem cells and their derivatives: Toward cell-free therapeutics. *Stem Cells Int.* 2018;2018(iii).
45. Chouaib B, Haack-Sørensen M, Chaubron F, Cuisinier F, Collart-Dutilleul PY. Towards the Standardization of Mesenchymal Stem Cell Secretome-Derived Product Manufacturing for Tissue Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2023;24(16).
46. Panchalingam KM, Jung S, Rosenberg L, Behie LA. Bioprocessing strategies for the large-scale production of human mesenchymal stem cells: A review Mesenchymal Stem/Stromal Cells - An update. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2015;6(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13287-015-0228-5>
47. Qu C, Brohlin M, Kingham PJ, Kelk P. Evaluation of growth, stemness, and angiogenic properties of dental pulp stem cells cultured in cGMP xeno-/serum-free medium. *Cell Tissue Res.* 2020;380(1):93–105.
48. Park J, Lee JH, Yoon BS, Jun EK, Lee G, Kim IY, et al. Additive effect of bFGF and selenium on expansion and paracrine action of human amniotic fluid-derived mesenchymal stem cells 06 Biological Sciences 0601 Biochemistry and Cell Biology. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):1–17.
49. Nahar N, Badhan RE, Ahmed S, Khan RR, Setu SK. Association of Interleukin-6 and Interleukin -10 Gene Polymorphisms with Susceptibility and Clinical Features of Systemic Lupus Erythematosus in Bangladeshi Population. 2024;7(4):76–85.
50. Sabat R. IL-10 family of cytokines. *Cytokine Growth Factor Rev* [Internet]. 2010;21(5):315–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cytogfr.2010.11.001>
51. Shoraya NS. Nilai Diagnostik Pemeriksaan PCR (Polymerase Chain Reaction), Mikroskopis Ziehl Neelsen Dan Pemeriksaan Tuberkulin Pada Anak Dengan Suspek Tuberkulosis Paru. *Univ Hasanuddin.* 2021;1.
52. Agustina AS, Fajrunni'mah R. Perbandingan Metode RT-PCR dan Tes

- Rapid Antibodi untuk Deteksi COVID-19. *J Kesehat Manarang*. 2020;6(Khusus):47.
53. Perdoski. *Panduan Praktik Klinis Dermatologi dan Venereologi*. 9th ed. Siswati A, editor. Perdoski. Jakarta: Perhimpunan Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin Indonesia; 2021. 1–516 p.
 54. von Stebut E, Boehncke WH, Ghoreschi K, Gori T, Kaya Z, Thaci D, et al. IL-17A in Psoriasis and Beyond: Cardiovascular and Metabolic Implications. *Front Immunol*. 2020;10(January):1–15.
 55. Kerstan A, Serfling E, Goebeler M. Current Developments in the Immunology of Psoriasis. 2020;(March).
 56. McCormick T, Ayala-Fontanez N, Soler D. Current knowledge on psoriasis and autoimmune diseases. *Psoriasis Targets Ther*. 2016;7.
 57. Vashist S, Mahajan V, Mehta K, Chauhan P. Association of Psoriasis with Autoimmune Disorders: Results of a Pilot Study. *Indian Dermatol Online J*. 2020;11(5):753–9.
 58. Duan K, Wang J, Chen S, Chen T, Wang J, Wang S, et al. Causal associations between both psoriasis and psoriatic arthritis and multiple autoimmune diseases: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study. *Front Immunol*. 2024;15(July):1–10.
 59. Mordiana, Riska; Santosa Y. Erythrodermic psoriasis. *Ophtamology and Dermatology* [Internet]. 2025;52(3):171–3. Available from: <https://doi.org/10.55175/edk.v52i3.1158>
 60. Michael P. Schön, MD, a, b Veit Manzke, MD, a and Luise Erpenbeck M. Animal models of psoriasis—highlights and drawbacks. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL*. 2020;147:439–55.
 61. Gangwar RS, Gudjonsson JE, Ward NL. Mouse Models of Psoriasis : A Comprehensive Review. *J Invest Dermatol* [Internet]. 2022;142(3):884–97. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2021.06.019>
 62. Chen L, Chen H, Mo L, He M, Zhao Y, Tan T, et al. Spatial distribution of residential environment, genetic susceptibility, and psoriasis: A prospective cohort study. *J Glob Health*. 2024;14.
 63. Ogawa K, Okada Y. The current landscape of psoriasis genetics in 2020. Vol. 99, *Journal of Dermatological Science*. Elsevier Ireland Ltd; 2020. p. 2–8.
 64. English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. Vol. 91, *Immunology and Cell Biology*. 2013. p. 19–26.
 65. Lariosa-Willingham K, Leonoudakis D, Simon F, Walker K, Guillaume P, Warren L, et al. Imiquimod-induced pruritus in female wild-type and knockin Wistar rats: underscoring behavioral scratching in a rat model for antipruritic treatments. *BMC Res Notes* [Internet]. 2023;16(1):1–7. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13104-023-06627-1>
 66. Jabeen M, Boisgard AS, Danoy A, Kholti N El, Salvi JP, Bouliou R, et al. Advanced characterization of imiquimod-induced psoriasis-like mouse

- model. *Pharmaceutics*. 2020;12(9):1–18.
67. Guillaume P, Rupp T, Froget G, Goineau S. Evaluation of Clobetasol and Tacrolimus Treatments in an Imiquimod-Induced Psoriasis Rat Model. *Int J Mol Sci*. 2024;25(17).
 68. Sartoris S, Del Pozzo G. Exploring the HLA complex in autoimmunity: From the risk haplotypes to the modulation of expression [Internet]. Vol. 265, *Clinical Immunology*. Verona: Clinical Immunology; 2024. Available from: <https://pdf.sciencedirectassets.com/272492/>
 69. Schön MP. Animal models of psoriasis: A critical appraisal. *Exp Dermatol*. 2008;17(8):703–12.
 70. Kozera B, Rapacz M. Reference genes in real-time PCR. *J Appl Genet*. 2013;54(4):391–406.
 71. Dahlan S. *Statistik untuk kedokteran dan kesehatan*. 15th ed. Dahlan S, editor. Jakarta: Penerbit Salemba; 2011. 314 p.
 72. Lu X, Wang H, Wang H, Xie F, Jiang C, Shen D, et al. Indirubin combined with umbilical cord mesenchymal stem cells to relieve psoriasis-like skin lesions in BALB / c mice. 2022;(November):1–15.
 73. Zhang, Pingxin; Ren Mao CZQMC. Gastrointestinal injury induced by immunomodulators: A review article. *Ther Adv Gastroenterol* [Internet]. 2023;16:1–6. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10126616/pdf/10.1177_17562848231158549.pdf
 74. Mallappa A, Nella AA, Sinaii N, Rao H, Gounden V, Perritt AF, et al. Long-term use of continuous subcutaneous hydrocortisone infusion therapy in patients with congenital adrenal hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;89(4):399–407.
 75. Dairov A, Sekenova A, Alimbek S, Nurkina A, Shakhatbayev M, Kumasheva V, et al. Psoriasis: The Versatility of Mesenchymal Stem Cell and Exosome Therapies. *Biomol* 2024, Vol 14, Page 1351. 2024 Oct;14(11):1351.
 76. Zhang B, Lai RC, Sim WK, Boon A, Choo H, Lane EB, et al. Topical Application of Mesenchymal Stem Cell Exosomes Alleviates the Imiquimod Induced Psoriasis-Like Inflammation. 2021;
 77. Ren X, Zhong W, Li W, Tang M, Zhang K, Zhou F, et al. Human Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stem Cells Alleviate Psoriasis Through TNF- α /NF- κ B/MMP13 Pathway. *Inflammation*. 2023 Jun;46(3):987–1001.