

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-6* (IL-6)
DAN *INTERLEUKIN-33* (IL-33)**

**(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis*
Like yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedis

Elfia

MBK. 24.24.010483

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2026**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP EKSPRESI *INTERLEUKIN-6* (IL-6)
DAN *INTERLEUKIN-33***

**(IL-33) (Studi Eksperimental in Vivo Pada Mencit C57BL model
Atopic Dermatitis Like yang diinduksi MC903 (calcipotriol))**

disusun oleh

Elfia

MBK. 24.24.010483

yang dipertahankan didepan Tim Penguji
pada tanggal.....Februari 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



rof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.
DVE, Subsp. DKE, FINSVD, FAAD
NIP.210.109.110

Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS NIP.
210.113.160

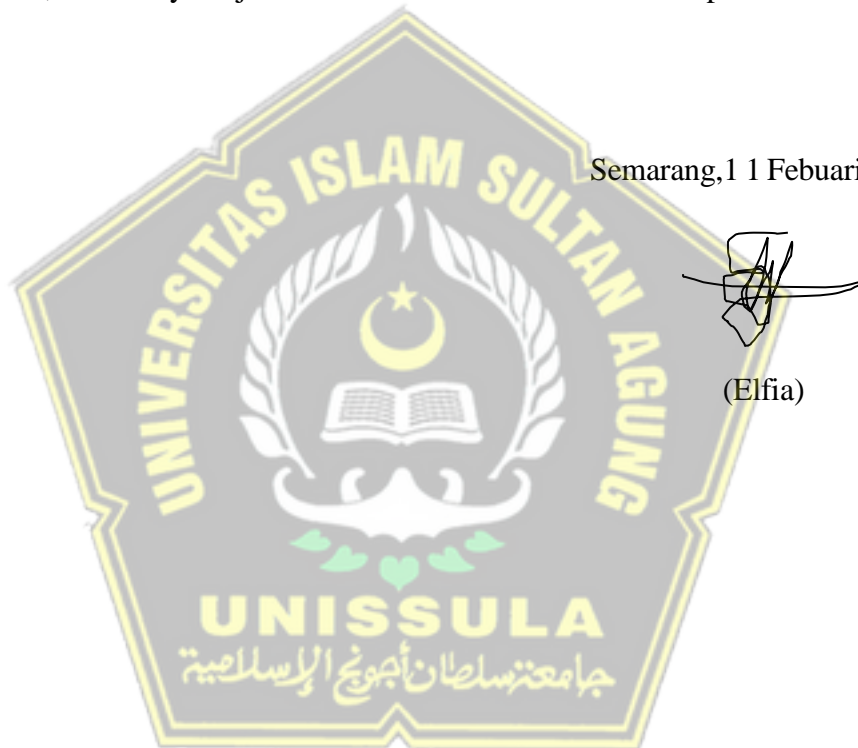
Mengetahui,
Ketua program Studi Magister Ilmu Biomedis
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo., M.kes
NIP.210.198.046

PERNYATAAN

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

Semarang, 11 Februari 2026



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Elfia
Tempat / tanggal lahir : Pangkalpinang, 12 Desember 2000
Agama : Khong Hu cu
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Melati : Lulus tahun 2006
2. SD Negeri 3 : Lulus tahun 2012
3. SMP St. Theresia : Lulus tahun 2015
4. SMA St. Yosef : Lulus tahun 2018
5. S1 Fakultas Kedokteran FK UKRIDA : Lulus tahun 2021
6. Profesi Dokter FK UKRIDA : Lulus tahun 2023
7. Magister Administrasi Rumah Sakit URINDO : Lulus tahun 2024
8. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Suami : -
Nama Anak : -

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “**Pengaruh Pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (Eh-Mscs)* Terhadap Ekspresi *Interleukin-6 (Il-6)* Dan *Interleukin-33 (Il-33)* (Studi Eksperimental in Vivo Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (calcipotriol))**” ini dapat penulis selesaikan.

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

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

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr.Eko Setiawan, Sp.B., FINACS, Selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu dan kesibukannya saat bimbingan tesis
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Dr.dr.Joko Wahyu Wibowo., M.Kes.
4. Prof.Dr.dr.Prasetyowati Subchan, Sp.D.V.E, Subsp.D.K.E,FINSDV,FAADV atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing satu.

5. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Dr.dr.Joko Wahyu Wibowo., M.Kes selaku penguji I dalam penelitian yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran, memberikan dorongan, semangat, dan bimbingan serta masukan kepada penulis selama proses penyusunan tesis.
7. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH selaku penguji II dalam penelitian yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran, memberikan dorongan, semangat, dan bimbingan serta masukan kepada penulis selama proses penyusunan tesis.
8. Dr.dr.Chodidjah.,M.Kes., PAK selaku penguji III dalam penelitian yang telah bersedia meluangkan waktu dan pikiran, memberikan dorongan, semangat, dan bimbingan serta masukan kepada penulis selama proses penyusunan tesis.
9. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
10. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
11. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
12. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan

lanjut agar benar-benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

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

Semarang, Februari 2026

Penulis



(Elfia)



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1. Tujuan Umum.....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Originalitas Penelitian.....	6
1.5. Manfaat penelitian	8
1.5.1. Manfaat Teoritis.....	8
1.5.2. Manfaat Praktis	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. <i>Interleukin-33</i> (IL-33).....	9
2.2. <i>Interleukin-6</i> (IL-6).....	10
2.3. Dermatitis	11
2.4. Dermatitis Atopik (DA).....	12
2.5. <i>Mesenchymal Stem Cell</i> (MSCs).....	13
2.6. <i>Exosome Mesenchymal Stem Cell</i> (E-MSCs).....	14

2.7. <i>Induksi Exosome MSCs</i> dengan teknik Hipoksia.....	15
2.8. <i>Efek Dermatitis</i> terhadap <i>Interleukin-6 (IL-6)</i> dan <i>Interleukin-33 (IL-33)</i>	17
2.9. <i>Efek Exosome MSCs</i> terhadap <i>Interleukin-6 (IL-6)</i> dan <i>Interleukin-33 (IL-33)</i>	18
2.10. Calcipatriol	19
BAB III KERANGKATEORI, KERANGKAKONSEP, HIPOTESIS	21
3.1. Kerangka Teori	21
3.2. Kerangka Konsep	24
3.3. Hipotesis	24
BAB IV METODE PENELITIAN.....	25
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	25
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	25
4.2.1. Variabel Penelitian.....	25
4.2.2. Definisi Operasional	26
4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	27
4.3.1. Subyek penelitian.....	27
4.3.2. Sampel Penelitian	28
4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian	28
4.3.4. Besar Sampel	29
4.4. Alat dan Bahan	29
4.4.1. Alat	29
4.4.2. Bahan.....	30
4.5. Cara Penelitian.....	30
4.5.1. Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	30
4.5.2. Prosedur Isolasi <i>Mesenchymal Stem Cell</i> dari <i>Umbilical Cord</i>	30
4.5.3. Proses <i>Hypoxia</i>	31
4.5.4. Pembuatan <i>Exosome</i> Hipoksia MSCs.....	32
4.5.5. Pemaparan Dermatitis Atopik dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Penelitian.....	32

4.5.6. Terminasi dan Pengambilan Jaringan	35
4.5.7. Ekstraksi <i>RNA</i> dan Sintesis <i>cDNA</i>	35
4.5.8. Prosedur Pewarnaan Histologi dan Imunohistologi	37
4.5.9. Prosedur Pembacaan Ekspresi IL-6 dan IL-33 dengan <i>Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i>	38
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.7. Analisa Data.....	39
4.8. Alur Penelitian.....	41
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
5.1. Hasil Penelitian.....	42
5.1.1. Gambaran Umum Mesenchymal Stem Cell.....	42
5.1.2. Hasil Validasi EH-MSC (<i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i>)	42
5.1.3. Hasil Validasi Dermatitis-like	45
5.1.4. Ekspresi IL-6	49
5.1.5. Ekspresi IL-33	50
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	52
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	57
6.1. Kesimpulan.....	57
6.2. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	59
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR SINGKATAN

CAT	: <i>Catalase</i>
CLC	: <i>Cardiotrophin Like Cytokine</i>
CNTF	: <i>Ciliary Neeurotrophic Factor</i>
CT-1	: <i>Cardiotrophin</i>
DA	: <i>Dermatitis Atopic</i>
E-MSCs	: <i>Exosome Mesnchymal Stem Cell</i>
EDSC-Exos	: <i>Adipose Derived Stem Cells</i>
EH-MSC	: <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i>
FIH-1	: <i>Factor Inhibbting</i>
FLG	: <i>Filaggrin</i>
IgE	: <i>Imunoglobulin</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-33	: <i>Interleukin-33</i>
ISAAC	: <i>The International Study of Asthma and Allergies in Childhood</i>
LIF	: <i>Leeukimia Inhibitory Factor</i>
OSM	: <i>Oncostatin</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	: <i>Real Time Polymerase Chain Reaction</i>
SOD	: <i>Superoxide Dysmuthase</i>
SIRT	: <i>Sirtulin</i>
TFF	: <i>Tangential Flow Filtrastion</i>
Th	: <i>T Helper</i>
Th1	: <i>Sel T helper 1</i>
Th2	: <i>Sel T helper2</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
AD	: <i>Atopicdematitis</i>
IL-11	: <i>Interleukin 11</i>
ILC2	: <i>Sel Limfosit bawaan tipe 2</i>
IL 27	: <i>Interleukin 27</i>
Ca ²⁺	: <i>Ion kalsium</i>

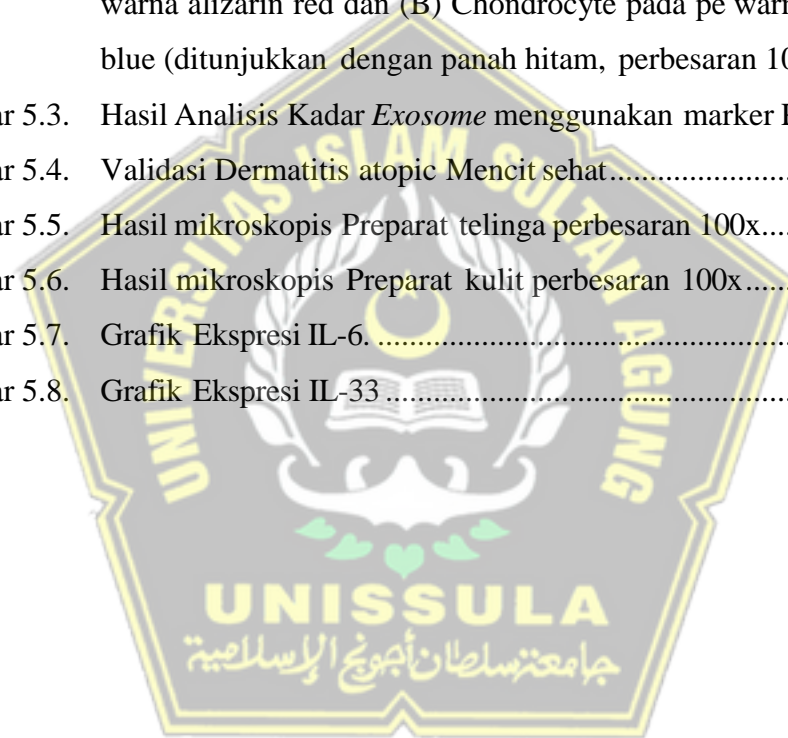
DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1.	Data Hasil Analisis Ekspresi IL-6.....	49
Tabel 5.2.	Data Hasil Analisis Ekspresi IL-33.....	51



DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1.	Kerangka Teori	23
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	24
Gambar 4.1.	Alur Rancangan Penelitian	25
Gambar 4.2.	Alur Penelitian	41
Gambar 5.1.	Morfologi MSC.	43
Gambar 5.2.	(A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pe warna alizarin red dan (B) Chondrocyte pada pe warna an alician blue (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).....	44
Gambar 5.3.	Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i> menggunakan marker P291	45
Gambar 5.4.	Validasi Dermatitis atopik Mencit sehat	45
Gambar 5.5.	Hasil mikroskopis Preparat telinga perbesaran 100x.....	47
Gambar 5.6.	Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x.....	47
Gambar 5.7.	Grafik Ekspresi IL-6.	50
Gambar 5.8.	Grafik Ekspresi IL-33	52



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pre Study Atopic Dermatitis Timeline	67
Lampiran 2. Mencrit C57BL model <i>Atopic Dermatitis Like</i> yang diinduksi MC903	68
Lampiran 3. Histologi <i>Atopic Dermatitis Like</i>	69
Lampiran 4. Surat Ijin Penelitian	71
Lampiran 5. <i>Ethical Clearance</i>	72
Lampiran 6. Surat Keterangan Penelitian	73
Lampiran 7. Statistik Ekspresi IL-6 dan IL-33	76
Lampiran 8. Dokumentasi	84



ABSTRAK

Dermatitis atopik adalah gangguan kulit inflamasi kronis yang ditandai dengan lesi gatal, eritematosa, dan bersisik yang terkait dengan disregulasi imun dan peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi, khususnya interleukin-6 dan interleukin-33. Eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang dikondisikan hipoksia telah menunjukkan potensi imunomodulator dan dapat mengatur jalur inflamasi yang terlibat dalam dermatitis atopik. Studi *in vivo* eksperimental ini menggunakan desain kelompok kontrol pasca-uji acak pada tikus betina C57BL dengan lesi mirip dermatitis yang diinduksi oleh MC903 topikal. Hewan-hewan tersebut dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat, kontrol negatif, kelompok yang diberi deksametason, dan dua kelompok perlakuan yang menerima eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia secara subkutan dengan dosis 100 mikrogram per kilogram berat badan dan 200 mikrogram per kilogram berat badan. Tingkat ekspresi interleukin-6 dan interleukin-33 dalam jaringan kulit dan telinga dianalisis menggunakan reaksi berantai polimerase real-time kuantitatif dan dievaluasi secara statistik menggunakan uji nonparametrik. Kelompok kontrol negatif menunjukkan ekspresi sitokin tertinggi, sementara pemberian eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia secara signifikan mengubah ekspresi interleukin-6 dan interleukin-33 dibandingkan dengan kontrol. Temuan ini menunjukkan bahwa eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia memberikan efek imunomodulator dalam model tikus peradangan seperti dermatitis atopik dan dapat mewakili strategi terapi potensial untuk gangguan kulit inflamasi.

Latar Belakang: Dermatitis atopik adalah gangguan kulit inflamasi kronis yang ditandai dengan lesi gatal, eritematosa, dan bersisik yang terkait dengan disregulasi imun dan peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi, khususnya interleukin-6 dan interleukin-33. Eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang dikondisikan hipoksia telah menunjukkan potensi imunomodulator dan dapat mengatur jalur inflamasi yang terlibat dalam dermatitis atopik.

Metode: Studi eksperimental *in vivo* ini menggunakan desain kelompok kontrol pasca-uji acak pada tikus betina C57BL dengan lesi mirip dermatitis yang diinduksi oleh MC903 topikal. Hewan-hewan tersebut dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat, kontrol negatif, kelompok yang diberi deksametason, dan dua kelompok perlakuan yang menerima eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia secara subkutan dengan dosis 100 mikrogram per kilogram berat badan dan 200 mikrogram per kilogram berat badan. Tingkat ekspresi interleukin-6 dan interleukin-33 pada jaringan kulit dan telinga dianalisis menggunakan reaksi berantai polimerase real-time kuantitatif dan dievaluasi secara statistik menggunakan uji nonparametrik.

Hasil: Kelompok kontrol negatif menunjukkan ekspresi sitokin tertinggi, sedangkan pemberian eksosom yang berasal dari sel punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia secara signifikan mengubah ekspresi interleukin-6 dan interleukin-33 dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kesimpulan: Temuan ini menunjukkan bahwa eksosom yang berasal dari sel

punca mesenkimal yang diinduksi hipoksia memberikan efek imunomodulator pada model tikus peradangan mirip dermatitis atopik dan dapat mewakili strategi terapeutik potensial untuk gangguan kulit inflamasi.

Kata kunci: Dermatitis, Atopik, Eksosom; Hipoksia, Interferon-gamma, Interleukin-6, Interleukin-33, Sel Punca Mesenkimal



ABSTRACT

Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disorder characterized by pruritic, erythematous, and scaly lesions associated with immune dysregulation and increased expression of proinflammatory cytokines, particularly interleukin-6 and interleukin-33. Hypoxia-conditioned mesenchymal stem cell-derived exosomes have demonstrated immunomodulatory potential and may regulate inflammatory pathways involved in atopic dermatitis. This experimental in vivo study used a randomized post-test only control group design in female C57BL mice with dermatitis-like lesions induced by topical MC903. The animals were divided into five groups: healthy control, negative control, dexamethasone-treated group, and two treatment groups receiving subcutaneous hypoxia-induced mesenchymal stem cell-derived exosomes at doses of 100 micrograms per kilogram body weight and 200 micrograms per kilogram body weight. Expression levels of interleukin-6 and interleukin-33 in skin and ear tissues were analyzed using quantitative real-time polymerase chain reaction and statistically evaluated using nonparametric tests. The negative control group demonstrated the highest cytokine expression, while administration of hypoxia-induced mesenchymal stem cell-derived exosomes significantly altered interleukin-6 and interleukin-33 expression compared with controls. These findings indicate that hypoxia-induced mesenchymal stem cell-derived exosomes exert immunomodulatory effects in a murine model of atopic dermatitis-like inflammation and may represent a potential therapeutic strategy for inflammatory skin disorders.

Background: Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disorder characterized by itchy, erythematous, and scaly lesions associated with immune dysregulation and increased expression of proinflammatory cytokines, specifically interleukin-6 and interleukin-33. Exosomes derived from hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells have shown immunomodulatory potential and may regulate the inflammatory pathways involved in atopic dermatitis.

Methods: This in vivo experimental study used a randomized post-assay control group design in female C57BL mice with dermatitis-like lesions induced by topical MC903. The animals were divided into five groups: healthy control, negative control, dexamethasone-given group, and two treatment groups that received exosomes derived from hypoxia-induced mesenchymal stem cells subcutaneously at a dose of 100 micrograms per kilogram of body weight and 200 micrograms per kilogram of body weight. The expression levels of interleukin-6 and interleukin-33 in skin and ear tissues were analyzed using quantitative real-time polymerase chain reactions and statistically evaluated using nonparametric assays.

Results: The negative control group showed the highest cytokine expression, whereas exosomes derived from hypoxia-induced mesenchymal stem cells significantly altered the expression of interleukin-6 and interleukin-33 compared to the control group.

Conclusions: These findings suggest that exosomes derived from hypoxia-induced mesenchymal stem cells exert immunomodulatory effects in mouse models of inflammation similar to atopic dermatitis and may represent a potential

therapeutic strategy for inflammatory skin disorders.

Keywords: *Dermatitis, Atopic, Exosome; Hypoxia, Interferon-gamma, Interleukin- 6, Interleukin-33, Mesenchymal Stem Cells; Real-time polymerase chain reactions.*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dermatitis atopik adalah kelainan kulit eksim yang umum terjadi, bersifat kronik-kambuh, inflamasi, dan gatal, baik pada anak-anak maupun dewasa. Patogenesis Dermatitis atopik bersifat kompleks dan melibatkan beberapa faktor. Pruritus berperan penting dalam beban penyakit, secara signifikan memperburuk kualitas hidup pasien atopik dengan membatasi produktivitas dan aktivitas sehari-hari. Diagnosis Dermatitis atopik masih bergantung pada pengalaman tenaga kesehatan profesional, dan terdapat beberapa kebutuhan yang belum terpenuhi terkait kriteria diagnostik, penatalaksanaan, dan pengenalan beban penyakit.¹ IL-33 terlibat dalam patogenesis dermatitis atopik melalui berbagai mekanisme, dan sumbu IL-33-ILC2 yang merupakan mediator utama untuk Dermatitis atopik manusia. IL-33 disekresikan secara ekstraseluler dari keratinosit oleh *pruritus* atau oleh fungsi sawar kulit yang berkurang. IL-33 mengurangi fungsi sawar kulit, dan IL-31, yang diinduksi oleh IL-33, menyebabkan gatal pada kulit.² Selanjutnya, peran protektif IL-6 dalam konteks kulit selama peradangan kulit dan penyembuhan luka telah terbukti meningkatkan perbaikan dan regenerasi kulit. Efek IL-6 pada fungsi keratinosit juga telah dilaporkan dengan baik dimana IL-6 telah terbukti meningkatkan migrasi dan proliferasi. IL-6 dilaporkan memberikan efek perlindungan pada kulit selama peradangan.³

Berbagai penelitian menyatakan bahwa prevalensi dermatitis makin

meningkat setiap tahun sehingga menjadi masalah kesehatan besar. *The international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC)* menyatakan bahwa prevalensi dermatitis bervariasi antara sebesar 0,3% hingga 20,5% di 56 negara. Prevalensi dermatitis di Asia Tenggara bervariasi antar negara mulai dari 1,1% pada usia 13-14 tahun di Indonesia sampai 17,9% pada usia 12 tahun di Singapura.⁴ Di Indonesia, prevalensi dermatitis mengalami peningkatan setiap tahunnya, berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar oleh Departemen Kesehatan Tahun 2018, prevalensi nasional dermatitis di Indonesia adalah 6,8% dan cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya.

Pengobatan topikal yang paling banyak dipelajari untuk dermatitis atopik adalah kortikosteroid, inhibitor *kalsineurin*, inhibitor JAK, dan inhibitor *fosfodiesterase*. Salah satu artikel pertama yang memanfaatkan hidrokortison dalam pengobatan Dermatitis atopik diterbitkan pada tahun 1952, dan steroid topikal terus menjadi andalan pengobatan sejak saat itu. Meskipun sangat efektif dalam penanganan Dermatitis atopik, steroid topikal memiliki daftar panjang potensi efek samping seperti *atrofi* kulit, *telangiectasia*, dan bahkan penarikan parah ketika steroid topikal dihentikan.⁵ Pada dermatitis atopik, calcipatriol dapat digunakan karena merupakan bentuk aktif dari vitamin D3, yang dapat memperbaiki gangguan pada lapisan pelindung kulit. Ini dilakukan dengan merangsang ekspresi protein yang berkaitan dengan lapisan pelindung kulit, mengurangi gejala dermatitis, serta mengatur peptida antimikroba yang dihasilkan oleh kulit. Temuan ini

menunjukkan bahwa *kalsitriol* mungkin berguna dalam terapi dermatitis atopik.

Dermatitis atopik yang berkaitan dengan th2, *calcipotriol* secara tidak langsung mempengaruhi respons imun th2, sementara *calcipotriol* memengaruhi transkripsi gen sitokin th2 yang berhubungan dengan perkembangan fase akut penyakit seperti dermatitis atopik.⁶

Exosome yang berasal dari sel punca telah terbukti menunjukkan efek biologis sel punca, dan oleh karena itu penggunaan *Exosome* yang berasal dari sel punca telah dipelajari secara luas di bidang dermatologi.^{7,8} Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh *Cho et al.* menunjukkan bahwa pemberian *Exosome* turunan ASC manusia secara intravena atau subkutan secara signifikan mengurangi gejala mirip Dermatitis atopik dan menurunkan ekspresi sitokin Th2.⁹ *Exosome* yang dilepaskan oleh *mesenchymal stem cells* (MSCs) yang dikondisikan dalam lingkungan hipoksia (EH-MSCs) telah menunjukkan peningkatan kemampuan imunomodulator dibandingkan MSC normal. Dalam konteks dermatitis atopik, yang ditandai oleh dominasi sitokin proinflamasi seperti *Interleukin-33* (IL-33) dan *Interleukin-6* (IL-6), EH-MSCs berpotensi menekan ekspresi kedua sitokin tersebut. IL-33 dikenal sebagai "alarmin" yang dilepaskan oleh sel epitel yang rusak dan berperan penting dalam aktivasi sel *T helper 2* (Th2), sedangkan IL-6 adalah *sitokin pleiotropik* yang memicu respons inflamasi sistemik. Kondisi hipoksia meningkatkan produksi *Exosome* yang membawa molekul antiinflamasi dan regulator imun, yang mampu menekan ekspresi sitokin alarmin seperti IL-33

pada jaringan yang rusak. Hal ini menunjukkan bahwa EH-MSCs bukan hanya bekerja pada jalur inflamasi klasik (seperti IL-6), tetapi juga mengatur respons awal epitel terhadap cedera melalui modulasi IL-33.¹⁰ Penelitian sebelumnya IL-33 meningkat pada kulit lesi pasien dengan dermatitis atopik dan menimbulkan rasa gatal.⁵⁴ IL-33 Dalam penelitian yang dilakukan oleh Huang, *et al.* *Exosome* yang berasal dari *hypoxia-MSC* berhasil menurunkan ekspresi IL-33 dan IL-6 secara signifikan pada model Mencit C57BL Betina dengan dermatitis atopik yang diinduksi oleh *house dust mite*. Penurunan ekspresi kedua sitokin ini mengurangi aktivasi eosinofil dan *mast cell*, yang berperan penting dalam patogenesis dermatitis. Selain itu, *Exosome* dari EH-MSCs juga meningkatkan regenerasi jaringan epitel dan menurunkan skor klinis peradangan kulit.¹¹ Penelitian serupa yang dilakukan oleh Lee, *et al.* juga menemukan bahwa pemberian *Exosome* dari EH-MSCs, MSC hipoksia pada kulit Mencit C57BL Betina dengan dermatitis atopik menyebabkan penurunan signifikan IL-6 di jaringan lesi, yang berkontribusi terhadap penurunan reaksi inflamasi lokal dan sistemik.¹² Dari beberapa kajian diatas maka dari itu penelitian ini bermaksud membuktikan efek dari (MSCs) terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33) pada Mencit C57BLBetina model *Atopic Dermatitis Like*.

1.2. Rumusan Masalah

“Apakah terdapat pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap ekspresi

Interleukin-6 (IL-6) dan Interleukin-33 (IL-33) pada Mencit model C75BL Betina Atopic Dermatitis Like?'

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian *EH-MSCs* terhadap ekspresi *Interleukin-6 (IL-6)* dan *Interleukin-33 (IL-33)* pada Mencit model C75BL Betina *Atopic Dermatitis Like*.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan ekspresi *Interleukin-6 (IL-6)* antar kelompok *EH-MSCs* dibandingkan dosis 100 µg/kgBB dengan dosis 200 µg/kgBB dengan kelompok kontrol pada Mencit model C75BL Betina *Atopic Dermatitis Like*.
2. Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan ekspresi *Interleukin-33 (IL-33)* antar kelompok *EH-MSCs* dibandingkan dosis 100 µg/kgBB dengan dosis 200 µg/kgBB dengan kelompok kontrol pada Mencit model C75BL Betina *Atopic Dermatitis Like*.

1.4. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
1	Xinyu Qiu, <i>et al</i> , 2020	<i>Exosomes released from educated mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing via promoting angiogenesis.</i>	Pemberian <i>exosome</i> yang dilepaskan dari sel punca mesenkimal (MSCs)	<i>Exosome</i> yang dilepaskan dari MSCs yang telah didedukasi mampu mempercepat penyembuhan luka kulit dengan cara meningkatkan <i>angiogenesis</i> (pembentukan pembuluh darah baru). Mekanismenya melibatkan aktivasi jalur AKT/eNOS pada sel endotel, yang berperan dalam proses <i>angiogenesis</i> .
2	Hernán Gonzalez-King, <i>et al</i> , 2017	<i>Hypoxia Inducible Factor-1α Potentiates Jagged 1-Mediated Angiogenesis by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes</i>	Pemberian <i>Exosome</i> yang dihasilkan dari sel punca mesenkimal (MSCs) <i>overekspresi Hypoxia Inducible Factor-1α</i> (HIF-1 α)	<i>Exosome</i> yang berasal dari MSC yang secara stabil mengekspresikan HIF-1 α memiliki peningkatan kapasitas angiogenik sebagian melalui peningkatan pengemasan Jagged1.

3	Byong Seung Cho, et al, 2018	<i>Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis</i>	Pemberian <i>Exosome</i> MSC yang berasal dari (ASC <i>exosomes</i>)	<i>Exosome</i> ASC dapat menjadi modalitas terapi bebaseel yang menjanjikan untuk pengobatan Dermatitis Atopik
4	Huang, S., Wang, H., Zheng, H., Li, W., Shi, J., Shen, C., & Tao, R.,2023	<i>Association between IL-6 polymorphisms and atopic dermatitis in Chinese Han children</i>	<i>Polimorfisme</i> gen IL-6	Terdapat asosiasi signifikan antara variasi gen IL-6 tertentu dengan kerentanan terhadap dermatitis atopik pada anak-anak etnis Han di Tiongkok
5	Shin et al., 2020	<i>Exosomes from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells promote epidermal barrier repair by inducing de novo synthesis of ceramides in atopic dermatitis</i>	Pemberian <i>exosome</i> dari <i>Human Adipose Tissue-Derived MSCs</i>	<i>Exosome</i> meningkatkan sintesis <i>ceramide de novo</i> , memperbaiki fungsi barrier epidermis, dan berpotensi sebagai terapi dermatitis atopik.

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi penyembuhan Dermatitis, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33) pada Mencit model C75BL Betina *Atopic*

Dermatitis Like sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

1.5. Manfaat penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33) pada Mencit C75BLBetina model *Atopic Dermatitis Like*.

1.5.2. Manfaat Praktis

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin-33 (IL-33)*

IL-33 merupakan sitokin yang berfungsi sebagai alarm, yang dikeluarkan saat jaringan mengalami kerusakan. Sel-sel kekebalan yang berasal dari jaringan, seperti ILC2 (Sel Limfoid Bawaan Kelompok 2), sel mast, dan Treg, secara terus-menerus mengekspresikan reseptor ST2 dan menjadi sasaran utama IL-33 dalam tubuh. IL-33 juga memicu subset sel ekstra yang krusial untuk imunitas tipe 2 serta peradangan alergi, termasuk sel Th2, basofil, eosinofil, makrofag M, dan DC. Sel imun lain, seperti NK, sel iNKT, dan neutrofil, secara terus-menerus mengekspresikan ST2, dan levelnya meningkat saat mendapat rangsangan. Pada jenis sel tertentu, ST2 dapat diinduksi dan diekspresikan secara fleksibel, tergantung pada kondisi mikro lingkungan jaringan. Sebagai contoh, IL-12 dapat menginduksi reseptor ST2 pada sel Th1 dan sel T CD8, sementara IL-33 berperan penting dalam mengaktifkan sel-sel tersebut. Oleh karena itu, IL-33 ialah sitokin yang bersifat pleiotropik dengan peranan signifikan dalam imunitas tipe 2 dan tipe 1, serta dalam peradangan baik alergi maupun non-alergi, dan dalam respons regulasi.

Pada sel epitel, termasuk keratinosit, IL-33 yang aktif secara biologis diekspresikan secara konstitutif, dan biasanya disimpan dalam inti sel. Setelah terjadi kerusakan sel atau stres, IL-33 dilepaskan dengan cepat sebagai alarmin untuk mengaktifkan sistem imun bawaan. Pada manusia Dermatitis

atopik, IL-33 berlimpah pada lesi keratinosit epidermis.¹⁴

IL-33 terlibat dalam patogenesis Dermatitis atopik melalui berbagai mekanisme, dan sumbu IL-33-ILC2 mungkin merupakan mediator utama untuk Dermatitis atopik manusia. IL-33 disekresikan secara ekstraseluler dari keratinosit oleh *pruritus* atau oleh fungsi sawar kulit yang berkurang. IL-33 mengaktifkan ILC2 untuk menghasilkan sitokin tipe 2 dan membentuk lesi Dermatitis atopik. IL-33 mengurangi fungsi sawar kulit, dan IL-31, yang diinduksi oleh IL-33, menyebabkan gatal pada kulit. Lebih jauh, berkenaan dengan IL-4, yang merupakan sitokin penting untuk aktivasi ILC2, *antibodi anti-IL-4R*, *dupilumab*, telah diterapkan secara klinis pada Dermatitis atopik.¹⁴

2.2. Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 (IL-6) bertindak sebagai sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi yang memainkan peran penting dalam mekanisme pertahanan host. Struktur proteinnya terdiri dari empat α -heliks panjang, yang mengandung dua situs pengikatan gp130 dan satu situs pengikatan IL-6R α .¹⁵ Keluarga IL-6 terdiri dari IL-6, IL-11, IL-27, *Oncostatin M* (OSM), *Ciliary Neurotrophic Factor* (CNTF), *Cardiotrophin 1* (CT-1), *Leukemia Inhibitory Factor* (LIF) dan *Cardiotrophin-Like Cytokine* (CLC).¹⁶ Sitokin-sitokin ini dikelompokkan menjadi satu keluarga karena penggunaan umum subunit reseptor gp130. Dermatitis atopik adalah penyakit kulit radang kambuh kronis yang terkait dengan ketidakseimbangan antara *T helper 1* (Th1) dan Th2 Sel. Sitokin yang dihasilkan oleh Th2 sel menginduksi produksi *immunoglobulin E* (IgE).

Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin pleiotropik yang menyebabkan produksi *Ig* oleh sel B, pelepasan protein fase akut oleh hepatosit, diferensiasi sel T dan aktivasi sel induk *hemopoietic*.

Selain itu, IL-6 meningkatkan produksi *IgE* yang diinduksi IL-4, Sel T yang berasal dari pasien dengan Dermatitis atopik menunjukkan peningkatan produksi IL-6 jika dibandingkan dengan kontrol nonatopik. Neonatus berisiko tinggi mengembangkan atopi telah meningkatkan produksi monosit IL-6.¹⁷ IL-6 mengerahkan fungsi *pleiotropik* nya melalui dua jalur pensinyalan utama. Dalam jalur transduksi sinyal klasik, IL-6 mengikat IL-6R pada membran sel dan kemudian mengikat gp130 pada membran untuk mengaktifkan JAK dan memulai transduksi sinyal intraseluler. Dalam jalur transduksi sinyal trans, bagian ekstraseluler IL-6R dapat dihidrolisis oleh protease untuk membentuk IL-6R yang larut (sIL-6R). IL-6 mengikat sIL-6R untuk membentuk kompleks, yang kemudian mengikat gp130 pada membran sel untuk memulai transduksi sinyal intraseluler. Keduanya kemudian dapat mengaktifkan jalur pensinyalan hilir, termasuk JAK-STAT, PI3K/AKT dan MAPK, untuk mengirimkan berbagai sinyal biologis ke berbagai jaringan dan sel. Karena banyak sel tidak mengekspresikan IL-6R pada Dermatitis atopik, dan semua sel dapat mengekspresikan gp130, sel yang tidak dapat merespons jalur pensinyalan klasik dapat merespons jalur pensinyalan trans.¹⁸

2.3. Dermatitis

Dermatitis merupakan peradangan pada kulit (epidermis dan dermis) yang disebabkan oleh berbagai faktor intrinsik, sehingga menimbulkan perubahan klinis berupa lesi kulit polimorfik seperti kemerahan, bengkak, papula, melepuh, bersisik, penebalan kulit, dan sebagainya, disertai rasa gatal. Lesi *pleomorfik* ini tidak selalu muncul bersamaan dan dalam beberapa kasus hanya beberapa tanda yang muncul (*oligomorfisme*). Dermatitis cenderung kambuh dan mungkin menjadi penyakit kronis. Istilah dermatitis dan eksim sering digunakan secara bergantian untuk menggambarkan sekelompok gangguan kulit dengan presentasi klinis yang serupa.¹⁹

Penyebab dermatitis mungkin berasal dari faktor eksternal (eksogen), seperti paparan zat kimia (misalnya deterjen, asam, alkali, minyak, semen), faktor fisik (misalnya paparan cahaya dan suhu), atau mikroorganisme (misalnya bakteri dan jamur). Atau, dermatitis dapat dipicu oleh faktor internal (endogen), seperti dermatitis atopik. Penyebab beberapa kasus lainnya tidak diketahui.¹⁹

2.4. Dermatitis Atopik (DA)

Dermatitis atopik juga dikenal sebagai eksim atopik, adalah kondisi kulit inflamasi kronis yang ditandai dengan lesi kulit gatal, eritematosa, dan bersisik yang sering terlokalisasi pada permukaan fleksural tubuh. Kondisi ini dapat muncul dengan asma dan rinitis alergi sebagai bagian dari trias alergi; diperkirakan 30 persen anak-anak dengan dermatitis atopik mengembangkan asma di kemudian hari.²⁰

Cacat genetik pada protein *filaggrin* diduga menyebabkan dermatitis

atopik dengan mengganggu epidermis. Gangguan ini, pada gilirannya, mengakibatkan kontak antara sel-sel imun di dermis dan antigen dari lingkungan luar yang menyebabkan rasa gatal, garukan, dan peradangan yang hebat. Menggaruk kemudian dapat menyebabkan gangguan dan peradangan lebih lanjut pada penghalang kulit epidermis; ini telah dijelaskan sebagai siklus gatal-garuk.²⁰

Dermatitis atopik dapat muncul dalam tiga fase klinis. Dermatitis atopik akut muncul dengan *erupsi vesikular*, berair, dan berkerak. Dermatitis atopik subakut muncul dengan papula dan plak yang kering, bersisik, dan eritematosa. Dermatitis atopik kronis menunjukkan *likenifikasi* akibat garukan berulang. Presentasi dermatitis atopik yang lebih halus yang umumnya terjadi pada anak-anak adalah *pityriasis alba*, yang ditandai dengan plak *hipopigmentasi*, berbatas buruk dengan sisik halus. Dermatitis atopik cenderung melibatkan permukaan fleksural tubuh, leher anterior dan lateral, kelopak mata, dahi, wajah, pergelangan tangan, punggung kaki, dan tangan. Karena dermatitis atopik memiliki banyak tampilan, diagnosis bandingnya luas.²⁰

2.5. *Mesenchymal Stem Cell* (MSCs)

Sel punca atau stroma *mesenkimal Mesenchymal Stem Cell* (MSC) adalah sel punca dewasa multipotensi yang memiliki potensi proliferasi terbatas tetapi memiliki diferensiasi dan kapasitas pembaruan diri yang luas secara *in vitro* dan *in vivo*. Kemampuan MSC berupa multipotensi, kemampuan ekspansi, *hipoimmunogenisitas*, dan sifat *imunoregulasi*

menjanjikan untuk regenerasi jaringan.²¹

Di antara sel punca, MSC dianggap memiliki berbagai macam aplikasi terapeutik. MSC memiliki beberapa kemampuan biologis yang unik karena potensi terapeutik *imunomodulatori* dan regeneratifnya. MSC juga memiliki kemampuan untuk memodulasi respons humoral dan seluler. MSC memiliki potensi untuk mengeluarkan sitokin dan kemokin anti- inflamasi yang membuatnya cocok untuk mengobati gangguan autoimun.²¹ MSC dapat

meringankan gejala mirip dermatitis atopik dan perubahan patologis pada kulit dan organ imun. Pengurutan RNA dari irisan kulit punggung dan darah memberikan tanda ekspresi gen untuk perbaikan defek kulit, modulasi inflamasi dan imun oleh MSC, serta penanda molekuler dermatitis atopik umum untuk kulit dan darah, yang dapat bermanfaat untuk diagnosis klinis.⁵⁵

2.6. *Exosome Mesenchymal Stem Cell (E-MSCs)*

Exosome adalah vesikel berukuran nano, berkisar antara 30-200 nm, yang dilepaskan oleh setiap sel dalam tubuh manusia dan terdapat dalam semua cairan tubuh. *Exosome* menjalankan perannya dalam komunikasi antarsel karena membawa dan mengirimkan berbagai protein, asam nukleat, dan lipid tergantung pada jenis sel yang melepaskannya.²²

Jika dibandingkan dengan pengobatan transplantasi MSC, *Exosome* yang berasal dari MSC menunjukkan manfaat seperti keamanan yang lebih baik, stabilitas, dan kemudahan penyimpanan, pengangkutan, dan pemberian. *Exosome* yang dihasilkan dari *MSC* dapat membantu

penyembuhan jaringan dengan memberikan banyak senyawa terapeutik, yang lebih penting, miRNA. Setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh, *miRNA Exosome* berpartisipasi dalam kontrol gen pasca- transkripsi. *MiRNA Exosome* adalah pemain kunci dalam regulasi pasca- transkripsi ekspresi gen setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh. *MiRNA Exosome* memasuki sel target dan, menggunakan komplemen taritas sekuens parsial, bergabung dengan *mRNA* gen target. Tujuh nukleotida (nukleotida 2-8) di ujung 5' *miRNA* mencakup daerah benih, yang penting untuk pengenalan *mRNA*. *MiRISC* mengontrol translasi *mRNA* target dengan mengarahkan *miRNA* untuk menempel pada *mRNA* target.²⁴ Oleh karena itu, eksosom dapat mengatur fungsi sel untuk memodulasi peradangan, angiogenesis, fibrosis, dan regenerasi jaringan.⁵⁶

2.7. **Induksi Exosome MSCs dengan teknik Hipoksia**

Pada induksi MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan melepaskan berbagai molekul pro-regenerasi.²⁶⁻²⁸ Hal ini memunculkan teori *hypoxic preactivated MSCs-induced soluble molecule* yaitu berbagai molekul terlarut dalam medium dilepas MSCs yang mengalami hipoksia. Kondisi hipoksia pada

MSCs diketahui dapat meningkatkan sekresi sitokin anti-inflamasi seperti *IL-10* dan ekspresi berbagai macam antioksidan, seperti *GPX*, *superoxide dismutase (SOD)1*, *SOD2*, *catalase (CAT)* dan *sirtuin (SIRT)1*.²⁶⁻²⁸ Produksi *IL-10* oleh MSCs dapat menghambat faktor transkripsi *nuclear factor kappa Beta* yang merupakan pemicu *ROS*.²⁸ Sisi lain, berbagai macam

antioksidan yang diekspresikan secara langsung oleh MSCs melalui *Exosome*, seperti *GPX* mampu mengaktivasi faktor transkripsi NRF2 yang berujung pada peningkatan antioksidan.²⁹

Hipoksia menggambarkan adanya penurunan suplai oksigen akibat adanya ketidakseimbangan dari fungsi seluler seperti penurunan aliran darah yang dapat menyebabkan gangguan dari suplai nutrien dan akumulasi metabolisme O₂, *asam laktat*, dan *ammonia*.³⁰ MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan mensekresi berbagai molekul proregenerasi.

Hal tersebut memunculkan suatu teori *hypoxic-preactivated-MSCs-induced-soluble molecule* yaitu adanya berbagai macam molekul terlarut dalam medium yang akan dilepas oleh MSCs yang sedang mengalami hipoksia.³¹⁻³³ Pada kondisi hipoksia, MSCs mengalami perubahan morfologi. Kemudian MSCs akan tumbuh lebih cepat dan juga dapat mempertahankan jumlah sel dengan memperbaharui diri. MSCs menghasilkan berbagai macam kemokin seperti CXCR4, CXCR7, CX3CR1, serta faktor pertumbuhan antara lain VEGF.³² Berdasarkan hasil konsensus bersama *Acta-Bionergetics Biokimia dan Biofisika* (2008) di sepakati bahwa kadar oksigen dalam kondisi hipoksia sekitar 3%-5% atau 30-50 μ M. Kadar oksigen terbaik dalam meningkatkan efek parakrin VEGF dan *angiogenesis* yaitu sekitar 5%.³³⁻³⁵ Kadar oksigen yang rendah memiliki efek pada sel yang berbeda pada berbagai jaringan. Hipoksia memiliki efek kuat seperti pada metabolisme, *angiogenesis*, imunitas non spesifik dan induksi sel untuk sifat *stem cell*. Pada proses hipoksia kronis peningkatan *intraseluler CA2+* yang berikatan dengan

Calmodulin, sehingga mengaktivasi dari *CaM kinase II* mengalami fosforilasi (*koaktivator p300*) pada aktivitas transkripsi HIF-1. Jalur sinyal respons hipoksia diaktifkan HIF-1, dimulai dari sebuah rangkaian kejadian transkripsional yang menghasilkan peningkatan ekspresi protein seperti VEGF dan *eritropoietin*. Sel memiliki *Factor Inhibiting HIF-1* (FIH-1) yang terdapat pada asparagine residu di aktivasi transkripsi C- terminal untuk mencegah interaksi antara transkripsi *co-aktivator* CBP/p300 sehingga menghambat ekspresi dari HIF-1. Pada kondisi hipoksia, FIH-1 menjadi non aktif sehingga aktivasi dari transkripsi HIF-1.³⁶⁻³⁷

2.8. Efek Dermatitis terhadap *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33)

Interleukin-33 (IL-33) merupakan sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam patogenesis berbagai jenis dermatitis, termasuk dermatitis atopik dan psoriasis.¹³ IL-33 diproduksi oleh keratinosit sebagai respons terhadap stres atau kerusakan jaringan dan berfungsi sebagai 'alarmin' yang memicu aktivasi sistem imun bawaan. Penelitian yang dilakukan oleh *Tsuji, et al.* Menunjukkan bahwa IL-33 berperan dalam mengatur mekanisme inflamasi pada dermatitis atopik dan psoriasis melalui interaksi dengan reseptor ST2, yang mempengaruhi aktivitas sel imun dan keratinosit.³⁸ IL-33 tidak hanya berperan langsung dalam inflamasi kulit tetapi juga mempengaruhi produksi sitokin lain seperti interleukin-6 (IL-6). Penelitian yang dilakukan oleh *Li, et al.* menemukan bahwa IL-33 dapat meningkatkan produksi IL-6 oleh keratinosit, yang berkontribusi pada amplifikasi respon inflamasi pada kondisi seperti vitiligo.¹⁶ Hal ini menunjukkan adanya

interaksi antara IL-33 dan IL-6 dalam memperburuk peradangan kulit. Peningkatan kadar IL-33 dalam serum telah dikaitkan dengan tingkat keparahan dermatitis atopik. Penelitian oleh Risa Tamagawa, *et al.* menunjukkan bahwa pasien dengan dermatitis atopik memiliki kadar IL-33 serum yang lebih tinggi dibandingkan dengan individu sehat, dan kadar ini berkurang seiring dengan perbaikan lesi kulit setelah pengobatan.⁴⁰

2.9. Efek *Exosome* MSCs terhadap *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33)

Exosome yang dihasilkan oleh *mesenchymal stem cell* (MSC) telah terbukti memiliki kemampuan untuk menurunkan ekspresi interleukin-6 (IL-6), sebuah sitokin proinflamasi yang berperan dalam berbagai kondisi peradangan. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Lo Sicco, *et al.* *Exosome* MSC yang diperkaya dengan *mikroRNA* seperti *miR-223* dan *miR-146b* mampu menghambat aktivasi jalur inflamasi klasik dan menurunkan produksi IL-6 oleh makrofag, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Penurunan IL-6 ini berkontribusi pada penciptaan lingkungan antiinflamasi yang mendukung regenerasi jaringan.⁴¹ *Exosome* yang berasal dari MSC juga berperan dalam meningkatkan ekspresi interleukin-33 (IL-33), yang penting dalam proses penyembuhan luka. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang, *et al.* menunjukkan bahwa *Exosome* dari *adipose-derived stem cells* (ADSC-Exos) dapat meningkatkan pelepasan IL-33 dari makrofag, yang selanjutnya mempromosikan proliferasi keratinosit dan reepitelisasi melalui aktivasi jalur *Wnt/β-catenin*. Peningkatan IL-33 ini juga dikaitkan dengan pergeseran

makrofag menuju *fenotipe M2*, yang mendukung penyembuhan luka.⁴² Dalam konteks fibrosis kulit, *Exosome* dari *bone marrow mesenchymal stem cells* (BMSC-Exos) yang mengandung *mikroRNA-214* (*miR-214*) telah menunjukkan kemampuan untuk menghambat jalur IL-33/ST2. Studi oleh Li, *et al.* menemukan bahwa *miR-214* yang dikirimkan melalui BMSC-Exos dapat meningkatkan ekspresi *IL-33* dan reseptornya *ST2*, sehingga mengurangi proliferasi dan migrasi fibroblas serta ekspresi gen fibrotik. Hal ini menunjukkan potensi terapeutik *Exosome* MSC dalam mengatasi fibrosis melalui modulasi *IL-33*.⁴³

2.10. Calcipatriol

Calcipatriol adalah salah satu turunan sintesis vitamin D₃ yang banyak digunakan dalam dunia dermatologi, terutama untuk menangani psoriasis. Pada kondisi psoriasis, sel-sel kulit berkembang biak jauh lebih cepat dari normal, sehingga menimbulkan penumpukan kulit tebal, bersisik, kemerahan, dan sering kali terasa gatal atau perih. Di sinilah peran calcipatriol menjadi penting. Sebagai analog vitamin D, calcipatriol bekerja dengan cara mengatur pertumbuhan dan pematangan sel kulit. Obat ini membantu memperlambat produksi sel kulit yang berlebihan sekaligus mendorong diferensiasi sel agar menjadi lebih normal. Dengan mekanisme tersebut, plak psoriasis secara bertahap menjadi lebih tipis, kemerahan berkurang, dan sisik menjadi lebih halus. Calcipatriol tersedia dalam berbagai bentuk sediaan topikal, seperti krim, salep, larutan kulit kepala, dan busa, sehingga dapat disesuaikan dengan lokasi serta tingkat keparahan lesi. Dalam praktik klinis, obat ini sering

dikombinasikan dengan kortikosteroid topikal seperti betamethasone dipropionate untuk meningkatkan efektivitas terapi sekaligus mengurangi risiko iritasi. Walaupun relatif aman, penggunaan calcipatriol tetap memerlukan perhatian. Efek samping yang paling umum adalah iritasi lokal, rasa terbakar ringan, atau kemerahan pada area yang diolesi. Jika digunakan secara berlebihan atau pada area tubuh yang luas, terdapat risiko peningkatan kadar kalsium dalam darah, meskipun hal ini jarang terjadi.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

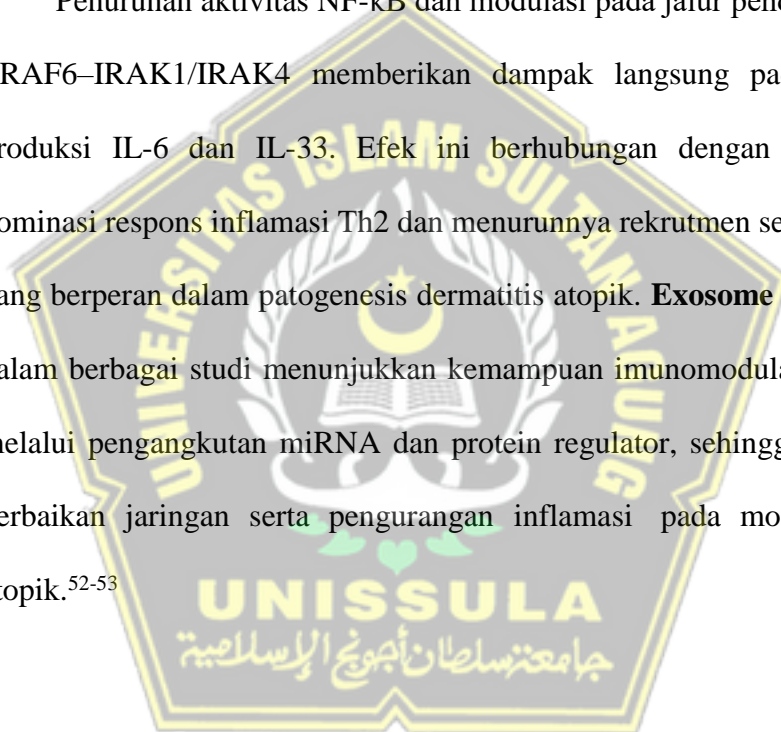
Dermatitis Atopik adalah penyakit heterogen yang diduga dipicu oleh faktor lingkungan pada individu yang rentan secara genetik. Efek gen- gen dan gen- lingkungan dianggap menjelaskan mekanisme patologis yang mendasari kelainan penghalang epidermis dan peradangan kulit yang didorong oleh sel T. Disbiosis mikrobiota kulit juga dapat berperan dalam patogenesis dermatitis atopik, dan pengaruh relatif dan temporal dari semua mekanisme ini dapat menjelaskan *heterogenitas* klinis yang diamati di antara pasien dengan dermatitis atopik.⁴⁴ Pada kulit atopik, terjadi penurunan bakteri komensal dari genus *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium* dan jenis *Proteobacteria* dengan peningkatan ke arah genus *Staphylococcus* secara umum (khususnya *S. aureus*).⁴⁶

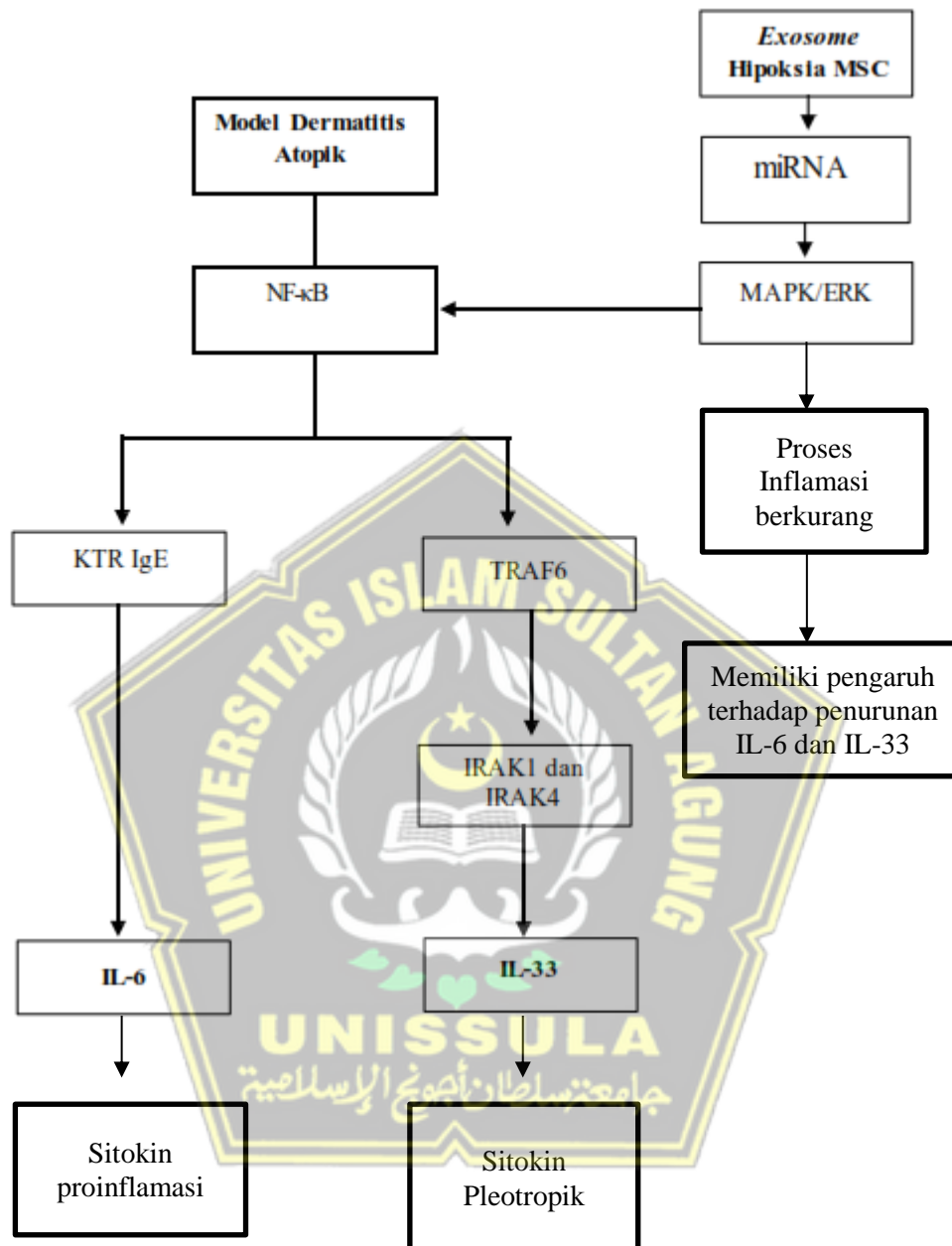
Pada dermatitis atopik, aktivasi NF-κB menjadi pusat dari peningkatan respon inflamasi. Stimulasi inflamasi pada model dermatitis atopik memicu aktivasi NF-κB sehingga menghasilkan peningkatan sinyal imunologis seperti KTR IgE dan adaptor sinyal TRAF6. Aktivasi jalur ini akan meningkatkan produksi sitokin pro- inflamasi, termasuk IL-6 dan IL-33, yang berperan dalam memperkuat peradangan, menginduksi gatal, dan mempertahankan pola inflamasi kronis pada kulit.⁴⁷⁻⁴⁸

Exosome yang dihasilkan dari MSC yang dipapar kondisi hipoksia membawa berbagai miRNA yang mampu menarget jalur MAPK/ERK.

Aktivasi atau modulasi jalur MAPK/ERK oleh *exosome* ini memengaruhi aktivitas NF- κ B sehingga terjadi penurunan sinyal inflamasi. Regulasi ini menghambat aktivasi hilir seperti TRAF6 serta komponen penting lain seperti IRAK1 dan IRAK4 yang berperan dalam amplifikasi respon inflamasi. Dengan terhambatnya jalur-jalur ini, proses inflamasi yang bergantung pada interaksi NF- κ B, MAPK, dan adaptor sinyal imun menjadi melemah.⁴⁸⁻⁵¹

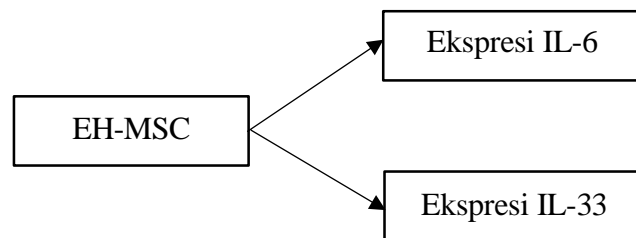
Penurunan aktivitas NF- κ B dan modulasi pada jalur pendukung seperti TRAF6–IRAK1/IRAK4 memberikan dampak langsung pada penurunan produksi IL-6 dan IL-33. Efek ini berhubungan dengan berkurangnya dominasi respons inflamasi Th2 dan menurunnya rekrutmen sel imun efektor yang berperan dalam patogenesis dermatitis atopik. **Exosome hypoxia** MSC dalam berbagai studi menunjukkan kemampuan imunomodulator yang kuat melalui pengangkutan miRNA dan protein regulator, sehingga mendukung perbaikan jaringan serta pengurangan inflamasi pada model dermatitis atopik.⁵²⁻⁵³





Gambar 3.1. Kerangka Teori

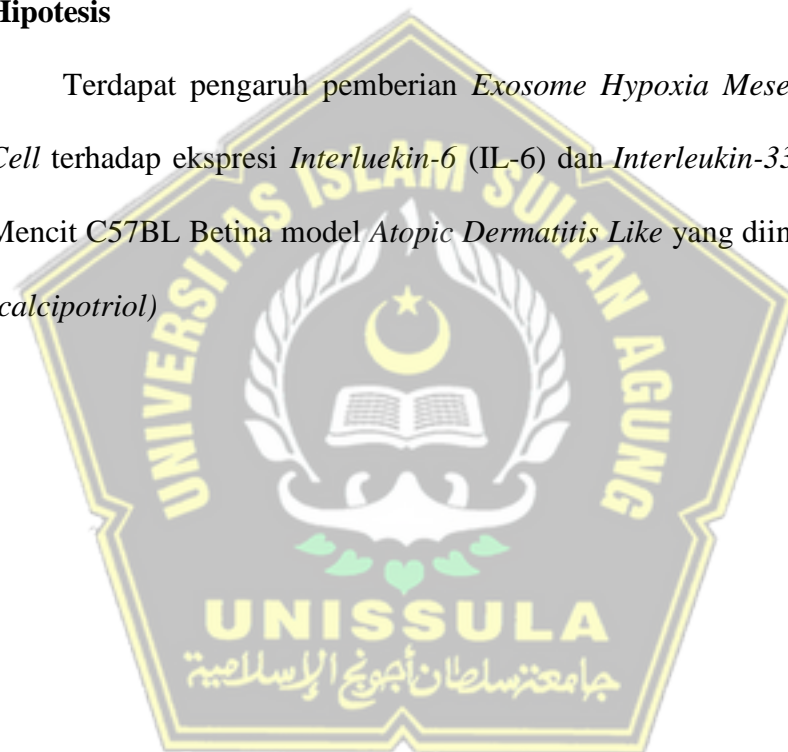
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan *Interleukin-33* (IL-33) pada Mencit C57BL Betina model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*)

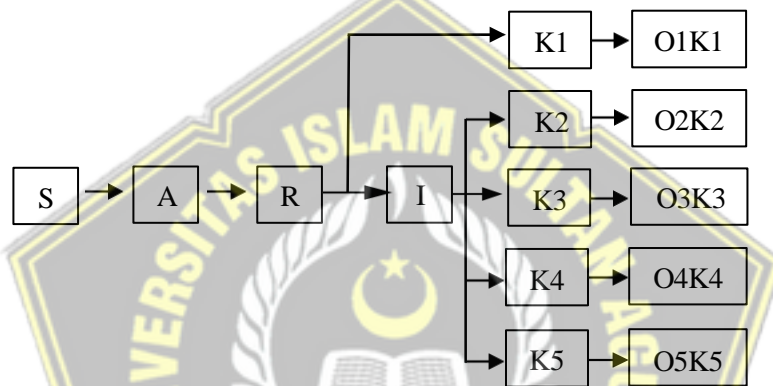


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini adalah eksperimental in vivo secara *Randomized Post Test only Control Group Design*. Rancangan penelitian menggunakan 5 perlakuan dengan skema penelitian sebagai berikut:



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

A : Aklimatisasi R : Randomisasi

I : Induksi MC903 (*calcipotriol*)

K1 : Mencit C57BL Betina sehat, tanpa diberi perlakuan).

K2 : Kontrol Negatif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (*calcipotriol*) dengan dosis 20 mg

K3 : Kontrol Positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (*calcipotriol*) dan diterapi dengan injeksi Dexamethason 200 ul)

K4 : Perlakuan 2 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *Exosome* 100 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$)

K5 : Perlakuan 3 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan diinjeksi *Exosome* 200 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$)

O1K1 : Observasi ekspresi IL-6 dan IL-33 kelompok K1

O2K2 : Observasi ekspresi IL-6 dan IL-33 kelompok K2

O3K3 : Observasi ekspresi IL-6 dan IL-33 kelompok K3

O4K4 : Observasi ekspresi IL-6 dan IL-33 kelompok K4

O5K5 : Observasi ekspresi IL-6 dan IL-33 kelompok K5

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Exosomehypoxia* MSC
- b. Variabel Terikat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi IL-6 dan IL-33
- c. Variabel Prakondisi pemberian MC903 (*calcipotriol*) secara topikal.

4.2.2. Definisi Operasional

- a. Injeksi *exosome hypoxia* MSC (EH-MSC)

Exosome Hypoxia MSC adalah mesenkimal terpapar hipoksia, mereka melepaskan *exosome* yang "diperkaya" dengan molekul- molekul yang dapat memengaruhi sel-sel penerima dengan cara yang berbeda dibandingkan dengan *exosome* normal. Misalnya, *exosome* ini dapat mendorong angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru) atau memodulasi respons imun. *Exosome* MSC dibuat dalam sediaan injeksi isohidris dan isotonis *single dose*. Injeksi *exosome* terbagi dalam beberapa kelompok yaitu dosis EH-MSC 100 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik, dosis EH-MSC 200 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik.

Satuan : ug (mikrogram protein)

Skala : Ordinal

- b. Ekspresi IL-6

Ekspresi IL-6 adalah konsentrasi yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. IL-6 dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit tikus setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-9

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

c. Ekspresi IL-33

Ekspresi IL-33 adalah ekspresi IL-33 yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. IL-33 dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit tikus setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-9.

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

4.3.1.1. Kriteria inklusi

- a. Mencit C57BL Betina
- b. Jenis kelamin betina
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Berat badan 20-25 g
- e. Tidak memiliki kelainan anatomis
- f. Mencit C57BL Betina bergerak secara aktif.

4.3.1.2. Kriteria Eksklusi

- a. Mencit tampak sakit (gerakan tidak aktif)
- b. Mencit C57BL yang terkontaminasi dan morfologi sel tidak baik

4.3.1.3. Kriteria *Drop Out*

- a. Mencit C57BL Betina mengalami infeksi atau
- b. Mencit C57BL Betina mati selama penelitian.

4.3.2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah *Spesifik-opportunistik-patogen-bebas* (SOPF) C57BL Betina (8 minggu,) diaklimatisasi selama tiga hari (suhu: 22 ± 2 °C; kelembaban: $55 \pm 10\%$; siklus terang-gelap 12:12 jam) yang termasuk kriteria inklusi. Semua sampel Mencit C57BL Betina yang dipilih untuk penelitian ini setelah dinyatakan sehat dan layak oleh dokter hewan dari Laboratorium SCCR (*Stem Cell and Cancer Research*) Semarang. Mencit C57BL Betina dipelihara di lab berventilasi cukup dan suhu ruangan 20-28°C dengan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *Randomized Sampling*. Mencit C57BL Betina dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 Mencit C57BL Betina sehat tanpa diberi perlakuan, Kelompok 2 kontrol negatif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dengan dosis 20 mg, kelompok 3

perlakuan Mencit C57BL Betina positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dan diterapi dengan dengan injeksi Dexamethason), kelompok 4 perlakuan perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* 100 µg, kelompok 5 perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* 200 µg.

4.3.4. Besar Sampel

Jumlah sampel dihitung berdasarkan sampel eksperimental dari *Frederer*. Rumus *Frederer* yaitu: $(t-1)(n-1) \geq 15$, dari rumus tersebut didapat hasil n adalah 5. Keterangan untuk nilai t adalah banyaknya perlakuan yaitu 5 dan n adalah banyaknya sampel setiap perlakuan. Sehingga sampel yang digunakan adalah 5 ekor per kelompok kemudian diambil secara acak. Dibagi menjadi 5 kelompok sehingga jumlahnya adalah 25 ekor Mencit C57BL Betina ditambah cadangan 5 ekor menjadi total 30 ekor.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain, *UV chamber*. Peralatan yang digunakan dalam kultur MSC dan isolasi *exosome* antara lain meliputi BSC, *CO2* inkubator, *sentrifuge*, *uPulse tangential flow filtration* dan membran filtrasi *TFF (Tangential Flow Filtration)* berukuran 100 kda dan 500

kda digunakan untuk isolasi *exosome* dari medium kultur MSC. Alat yang digunakan untuk validasi MSC dan *Exosome hypoxia* MSC antara lain *Flowcytometer*, mikroskop *inverted*, *incubator*. Peralatan lain yang digunakan antara lain mikropipet, tabung *sentrifuge*, pelat kultur sel, botol beher, *shaker*, pH meter, *autoclave*, lampu UV, aluminium Foil, NBF 10%, pot sampel, masker, *handscoon*, alkohol 70%, *povidine iodine* 10% 60ml dan kasa steril.

4.4.2. Bahan

Bahan yang dipakai dalam penelitian meliputi bahan kultur yang terdiri dari *DMEM*, *Alpha MEM*, *Fetal Bovine Serum*, *Phospat Buffer Saline*, *Trypan blue*, *Triple*, *Glutamin*, Antibiotik dan anti jamur, *Flask* kultur, *sentrifuge tube*, pipet tip. Bahan yang digunakan untuk isolasi *exosome* antara lain NaCl, dan *Aquabidest*.

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Permohonan *ethical clearence* penelitian diajukan kepada komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2. 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.

- a. Setelah dikumpulkan, *umbilical cord* dimasukkan ke dalam wadah steril yang diberi NaCl 0,9% 200 ul
- b. Dengan menggunakan pinset, masukkan *umbilical cord* ke dalam cawan petri dan gunakan PBS untuk membersihkannya secara menyeluruh
- c. *Umbilical cord* janin Mencit C57BL Betina dipotong dan pembuluh darahnya dibuang
- d. Setelah *umbilical cord* dicincang halus, diletakkan secara merata di dalam labu 25T dan diamkan selama tiga menit agar tissue menempel pada permukaan labu
- e. Media (*DMEM, fungizon, penstrep, dan FBS*) ditambahkan sedikit demi sedikit hingga jaringan tertutup
- f. Eksplan disimpan dalam inkubator dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C
- g. Setelah prosedur kultur dimulai, sel akan berkembang setelah sekitar 14 hari
- h. Setiap tiga hari, media diganti dengan cara membuang setengahnya dan menambahkan yang baru dan penuh sebagai gantinya
- i. Pemeliharaan sel berlanjut hingga 80% sel konfluensi.

4.5.3. Proses *Hypoxia*

- a. Memasukan MSCs dengan konfluensi 80% dimasukkan, dan ditambahkan hingga 10 mL media penuh
- b. Selanjutnya *flask* yang mengandung MSCs ditempatkan di dalam

ruang hipoksia

- c. Dalam mengukur jumlah oksigen dalam ruangan, gas nitrogen dialirkan melalui katup inlet dan pengukur oksigen ditempatkan pada lubang sensor
- d. Nitrogen disuntikkan sampai oksigen 5% ditunjukkan oleh jarum indikator
- e. *Chamber* yang telah diisi flask diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- f. Media kultur dikeluarkan setelah 24 jam dan diisolasi dengan metode TFF untuk menghasilkan EH-MSCs.

4.5.4. Pembuatan *Exosome* Hipoksia MSCs

Exosome MSC diisolasi menggunakan metode TFF. Langkah yang dilakukan antara lain media kultur MSC dikumpulkan dalam botol steril dan kemudian disaring menggunakan alat uPulse TFF dengan filter 100 *kDa* dan 500 *kDa* untuk menyisihkan partikel besar. Hasil filtrasi kemudian dilakukan validasi kandungan *Exosome hypoxia* MSC menggunakan *flowcytometri* dengan penanda permukaan berupa CD81, CD63, dan CD9. Hasil yang telah tervalidasi mengandung *Exosome hypoxia* MSC disimpan dalam tabung 2,5 mL dan disimpan dalam suhu 2-8 °C.

4.5.5. Pemaparan Dermatitis Atopik dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Penelitian

a. Hari 0-14: Induksi dermatitis

1. Anestesi Mencit C57BL Betina menggunakan 4% isoflurana dalam 2 L/menit oksigen untuk induksi dan 2% *isoflurana* dalam 0,4 L/menit oksigen untuk pemeliharaan.
2. Timbang Mencit C57BL Betina menggunakan timbangan laboratorium berpresisi tinggi dan letakkan hewan di atas alas pemanas Mencit C57BL Betina bersuhu 37°C untuk menjaga suhu tubuh. Catat berat badan selama perawatan.
3. Ukur ketebalan telinga kiri dan kanan menggunakan pengukur ketebalan dial presisi di bawah anestesi ringan.
4. Secara topikal, oleskan 20 mg *calcipatriol* (1 nM MC903) dalam 100% etil alkohol absolut (EtOH) menggunakan pipet 2-20 µl ke kedua sisi setiap telinga (10 µl pada sisi telinga dorsal dan ventral untuk volume total 20 µl per telinga) pada setiap hari perawatan sesuai dengan rejimen perawatan. Mencit C57BL Betina kontrol diobati secara paralel dengan volume EtOH yang sama (sebagai kontrol pembawa) saja.

5. Setelah perawatan, letakkan hewan di atas bantalan pemanas Mencit C57BL Betina bersuhu 37°C untuk menjaga suhu tubuh tetap konstan selama pemulihan, lalu kembalikan ke kandang.
6. Selama 1 minggu berikutnya ulangi pengukuran sebelum aplikasi topikal MC903 atau EtOH (langkah 2-5). Sebanyak 7 aplikasi MC903 atau EtOH akan diterapkan, dengan aplikasi topikal terakhir pada hari ke-14.
 - b. Hari ke-14: Penilaian gatal

Pada hari ke-14, 24 jam sebelum diberi perlakuan, rekam video Mencit C57BL Betina dan ukur kejadian gatal melalui videografi selang waktu. Tentukan dan ukur kejadian gatal selama 30 menit
 - c. Hari ke-15 & 19: Perlakuan Terapi

Pada hari ke-15 dan 19, Mencit C57BL Betina diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Mencit C57BL Betina kelompok K3 diberikan injeksi Dexamethason secara subkutan, kelompok K4 diberikan injeksi perlakuan injeksi *exosome* dosis 100 µg subkutan, dan kelompok K5 diberikan perlakuan injeksi *exosome* dosis 200 µg subkutan
 - d. Hari ke-21: Titik akhir eksperimen

Pada titik akhir percobaan (hari ke 22), eutanasia Mencit C57BL Batina dengan CO2 sesak napas, ulangi pengukuran

(langkah 3), dan ambil jaringan kulit telinga menggunakan gunting tajam dan *forsep steril*. Untuk kelenjar getah bening yang mengalirkan cairan dari telinga, potong kulit dengan hati-hati di daerah leher yang sesuai dan bedah kelenjar getah bening aurikular.

4.5.6. Terminasi dan Pengambilan Jaringan

- a. Terminasi Mencit C57BL Betina dengan menggunakan cocktail dosis lethal sebelum dilakukan pengambilan organ. Untuk pembuatan 10ml cocktail digunakan *ketamine* 50 mg/kgBB, *xylazine* 10 mg/kgBB dan *acepromazine* 2 mg/kgBB yang diinjeksikan IP.
- b. Setelah Mencit C57BL Batina mati, dilakukan koleksi organ kulit kemudian disimpan dalam *cryotube* yang bebas dari *RNAase* dan disimpan pada suhu -80oC dalam *RNA later*.

4.5.7. Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA

- a. Sampel kulit difiksasi dalam formalin 10 % dan dibuat menjadi blok paraffin.
- b. Sampel kulit sebanyak 100 mg diambil dari *RNA later* kemudian dipotong menjadi bagian – bagian kecil dimasukkan ke dalam tube yang telah terisi 50 ml *RNA Iso Plus*.
- c. Potongan kulit ditumbuk menggunakan *micopastle* dan ditambahkan lagi *RNA Iso Plus* sebanyak 50 ml dan disimpan

disuhu ruang selama 5 menit.

- d. Ditambahkan 20 ml *chloroform* dan *divortex* hingga larutan menjadi putih susu.
- e. 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.
- f. Lapisan paling atas dipindahkan ke tabung *sentrifuge* baru dan volumenya diukur, dan ditambahkan *isopropanolol* dengan volume yang sama dengan RNA yang diambil dari lapisan paling atas.
- g. 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 pellet berwarna putih didasar tabung.
- h. Setelah kering ditambahkan 100 ml etanol 70 % dalam larutan (*diethyl pyrocarbonat*) DEPC lalu bolak balikkan berulang kali serta *disentrifugasi* kembali 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 40°C.
- e. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 30-50 µm. campuran pada suhu 55°C selama 10 menit. Selanjutnya didapatkan total *RNA solution* dan disimpan pada suhu -80°C RNA dikuantifikasi dengan nanodrop. Hasil kuantifikasi dihitung

dijadikan 3000 ng.

- f. Sintesis *cDNA* dengan membuat campuran A dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung, 1 μ l *oligoDT* serta *PCR* water hingga mencapai volume 10 μ l, kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 70°C.
- g. Campuran A ditambah dengan campuran B yang terdiri dari 5 X *buffer* 4 μ l, *DEPC-Treated H₂O* 5 μ l, *revertaAce* 1 μ l. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit dan 85°C selama 5 menit.

4.5.8. Prosedur Pewarnaan Histologi dan Imunohistologi

- a. Reagen dan peralatan tambahan untuk metode standar pemotongan jaringan tetap dan pewarnaan dengan H&E.
- b. Setelah mengorbankan hewan dengan *CO₂ asfiksia*, eksisi jaringan salah satu telinga menggunakan forsep dan gunting steril. Fiksasi dalam formalin *buffer* netral 10% selama 24 jam.
- c. Tanamkan satu telinga dalam parafin, potong tiga bagian 4- μ m dengan mikrotom, letakkan bagian tersebut pada slide *mikroskop* dan warnai dengan H&E sesuai prosedur standar.
- d. Pindai dan tangkap gambar slide jaringan yang diwarnai H&E.
- e. Ukur ketebalan epidermis dan dermal di tiga lokasi terpisah di bidang pandang setiap bagian jaringan.
- f. Hitung dan plot rata-rata data yang dikumpulkan.

4.5.9. Prosedur Pembacaan Ekspresi IL-6 dan IL-33 dengan *Real Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

- a. Ekspresi *mRNA* dari *IL-6* dianalisis menggunakan *RT-PCR*. Campuran dari 3 μl *cDNA* sampel, *Taq master mix* (*dNTPs*, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and *MgCl₂*) sebanyak 12,5 μl , primer spesifik pada gen *IL-6* target sebanyak 0,6 μl untuk primer *forward* 5'- GTTCAGAGCGGAGAAAGCATT-TG-3' dan reverse 5'- CACATCTGCAAG-TACGTTTCGTTT-3' dan 8,3 μl *Nuclease Free Water*.
- b. Ekspresi *mRNA* dari *IL-33* dianalisis menggunakan *RT-PCR*. Campuran dari 3 μl *cDNA* sampel, *Taq master mix* (*dNTPs*, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and *MgCl₂*) sebanyak 12,5 μl , primer spesifik pada gen *IL-33* target sebanyak 0,6 μl untuk primer *forward* 5'-TAT GAC TCT ACC CAC GGC AAG T -3'dan reverse 5'- ATA CTC AGC ACC AGC ATC ACC -3 dan 8,3 μl *Nuclease Free Water*.
- c. Ekspresi gen *housekeeping GAPDH* digunakan sebagai baseline dengan primer *forward* 5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3'dan reverse 5'- GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'.
- d. Pada PCR produk dianalisis menggunakan *qRT-PCR illumina*.
- e. Peningkatan ekspresi gen dianalisis dalam ratio peningkatan terhadap *housekeeping* gen menggunakan *software EcoStudy*

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan Oktober 2025 di laboratorium *Animal Model Research Center* SCCR Indonesia.

4.7. Analisa Data

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

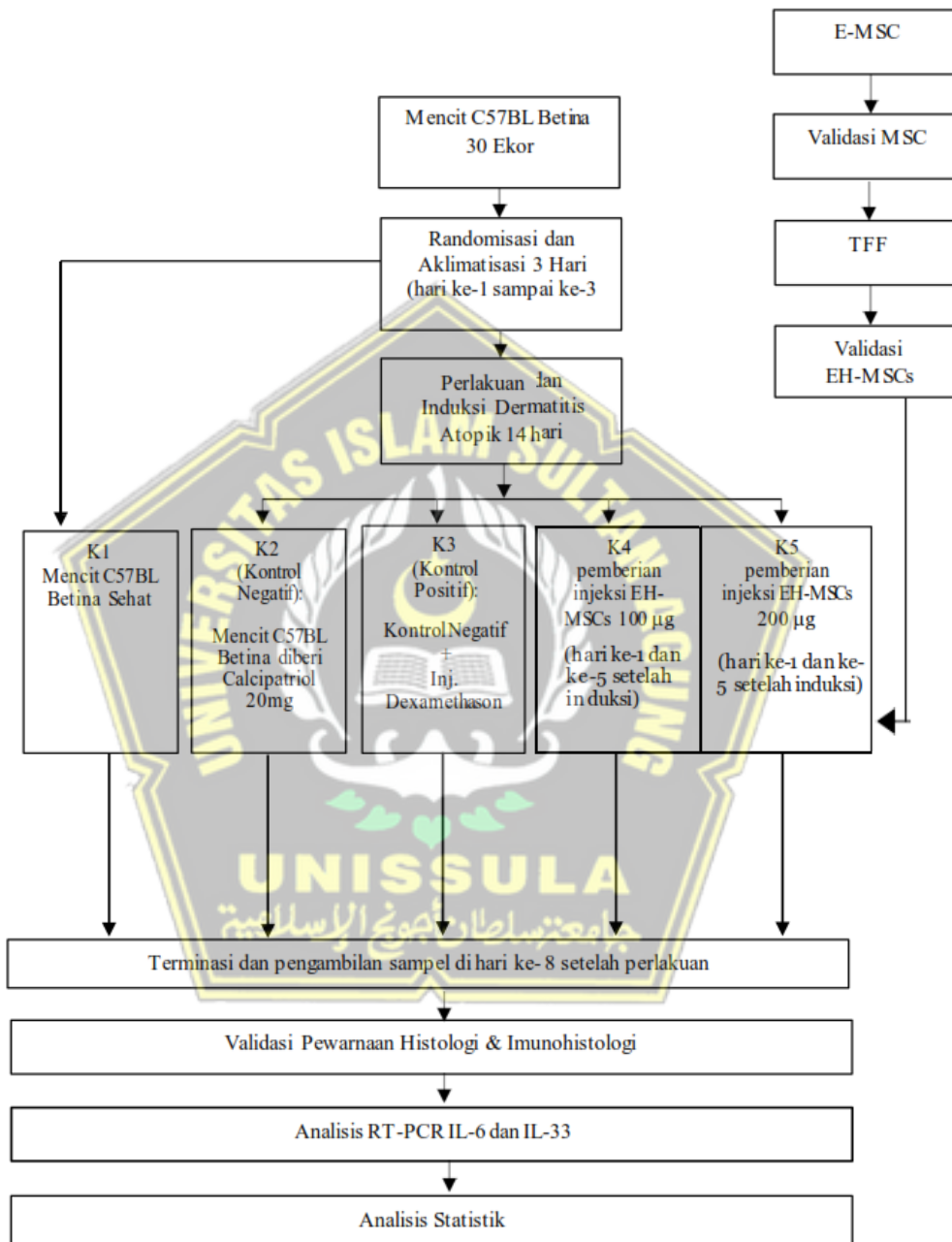
Jika data menunjukkan distribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$), maka uji *One-Way ANOVA* akan dilakukan. Apabila perbedaan signifikan ($p < 0,05$) terdapat pada semua kelompok penelitian setelah uji *One-Way ANOVA*, maka uji *Post Hoc Tamhane* akan digunakan. Nilai signifikansi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

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

signifikan antar kelompok penelitian.



4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

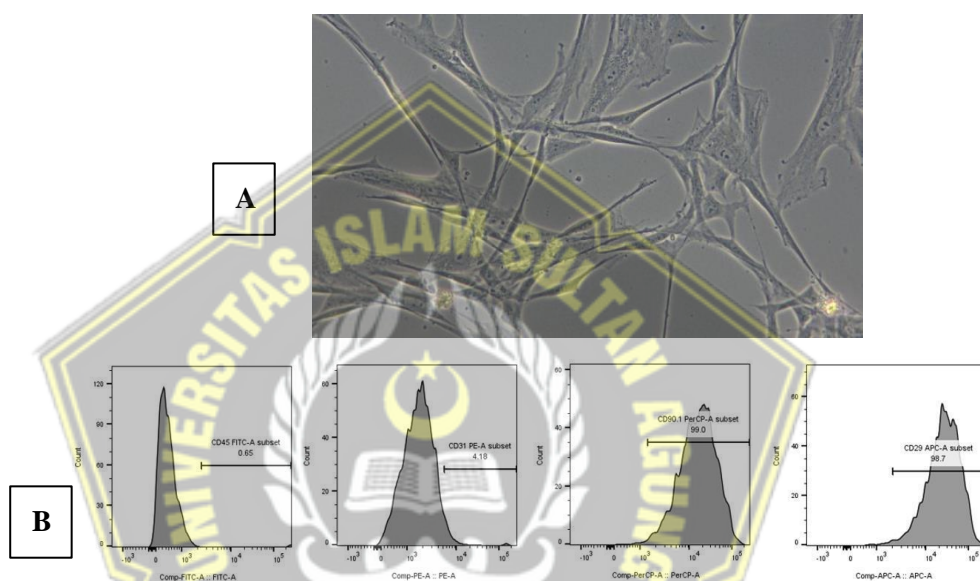
5.1.1. Gambaran Umum Mesenchymal Stem Cell

Mesenchymal Stem Cell (MSC) adalah jenis *sel punca dewasa* (sel punca dewasa) yang bersifat multipoten, artinya dapat berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel jaringan mesenkimal seperti tulang, tulang rawan, dan jaringan lemak. MSC banyak diteliti dalam bidang regeneratif dan imunomodulasi karena sifat biologinya yang unik. MSC dapat diisolasi dari berbagai jaringan, antara lain: Sumsum tulang (Bone Marrow MSC) – sumber klasik dan paling banyak diteliti, Jaringan lemak (MSC yang diturunkan dari Adipose) – mudah diperoleh, jumlah relatif banyak, Tali pusat (Tali pusat/jeli Wharton), Plasenta, Pulpa gigi, Cairan amnion. Menurut kriteria International Society for Cellular Therapy (ISCT), MSC memiliki: Melekat pada permukaan plastik saat dikultur di laboratorium, Ekspresi penanda permukaan tertentu: Positif: CD73, CD90, CD105 dan Negatif: CD34, CD45 (penanda sel hematopoietik), Mampu berdiferensiasi menjadi: Osteoblas (tulang), Kondrosit (tulang rawan), Adiposit (lemak).

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

Mesenchymal stem cell diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat mencit

pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media DMEM. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi sel, menunjukkan terdapat sel yang menyerupai *spindle* saat diamati dengan mikroskop dan melekat di atas permukaan flask (Gambar 5.1A).



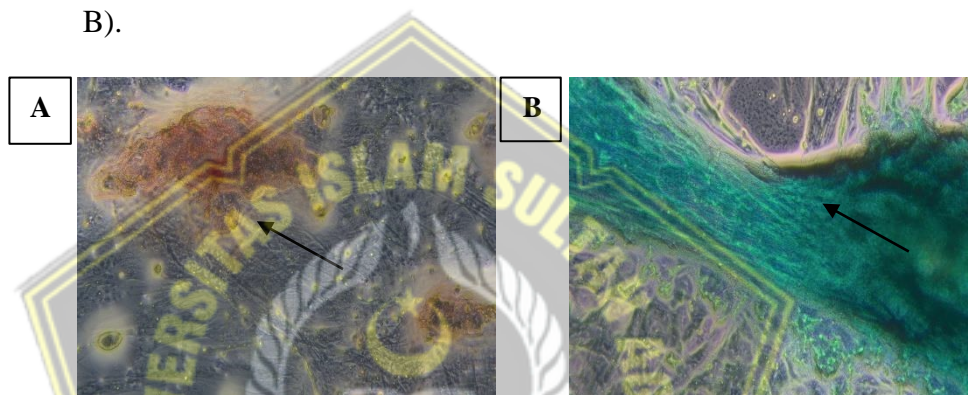
Gambar 5.1. Morfologi MSC. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31.

Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (99,0%) dan CD29 (98,7%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,65%) dan CD31 (4,18%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

Penelitian ini juga memastikan kapasitas MSC dalam diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa seperti sel osteosit

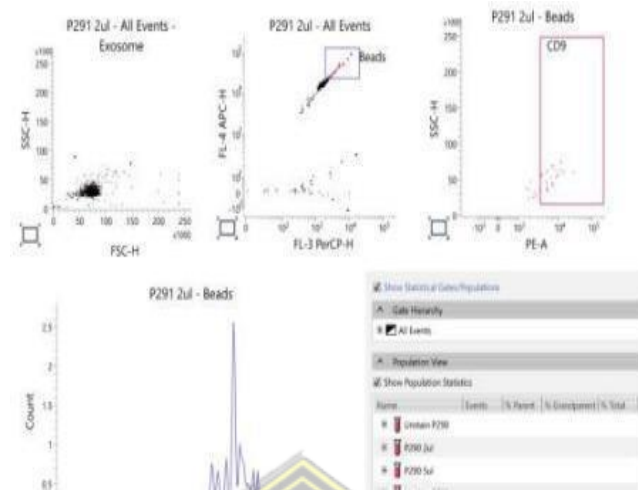
dan sel chondrocyte yaitu dengan cara memberi medium spesifik menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun chondrocyte.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan chondrocyte yang terlihat oleh Alizarin Red dan Alician Blue. (Gambar 5.2 A dan B).



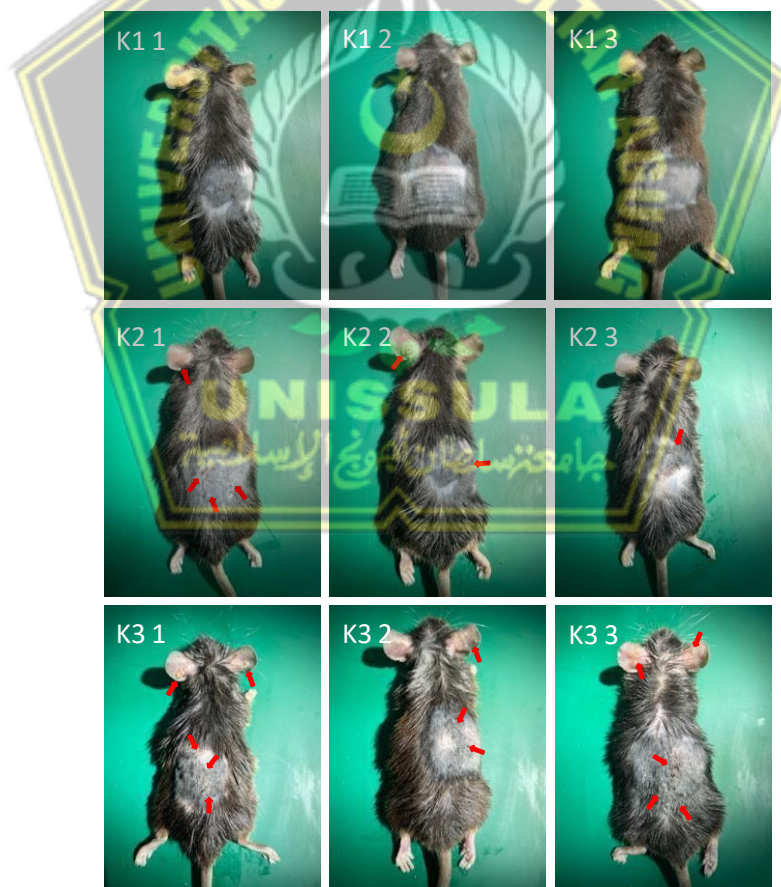
Gambar 5.2. (A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pe warna alizarin red dan (B) Chondrocyte pada pe warna alician blue (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).

Setelah tervalidasi, MSC kemudian diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box hipoksia. Setelah itu, medium kultur MSC yang mengandung sekretom MSC dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 100-500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-MS. Setelah diisolasi kadar *exosome* dianalisis menggunakan metode *flowcytometry* dan didapatkan bahwa kadar *exosome* yang didapatkan sebesar 10.00 ug/mL (Gambar 5.3).



Gambar 5.3. Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker P291

5.1.3. Hasil Validasi Dermatitis-like



Gambar 5.4. Validasi Dermatitis atopik Mencit sehat

Validasi pembentukan model Dermatitis atopik pada mencit

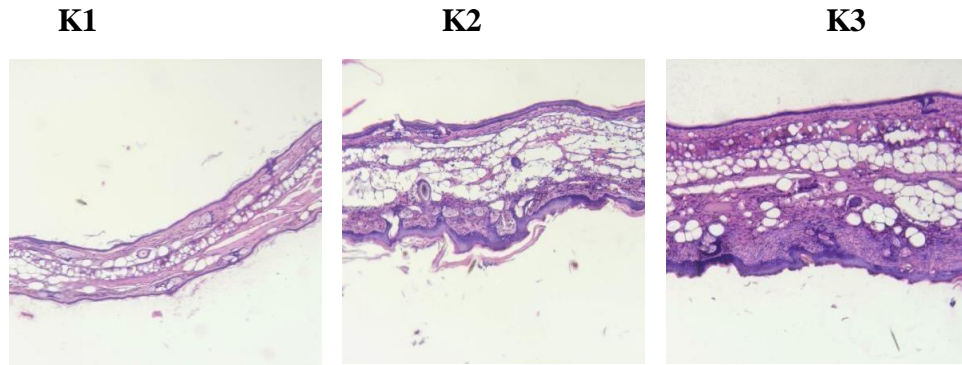
dilakukan secara visual dengan membandingkan kondisi densitas epidermal pada mencit sehat dan mencit yang diinduksi Calcipotriol. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa mencit sehat memiliki densitas epidermal yang lebih normal, sedangkan mencit yang diinduksi Calcipotriol memiliki densitas epidermal yang lebih rendah, sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.4.

K1: Sehat

K2: Dosis 10mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

K3: Dosis 20mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

Secara makroskopis, mencit C57BL yang diinduksi dermatitis atopik dengan Calcipotriol menunjukkan gambaran klasik peradangan kulit akut hingga kronis yang ditandai dengan: pembengkakan (edema), kemerahan (erythema), dan kekeringan bersisik. Fenotip ini sangat menyerupai gejala yang terlihat pada manusia dengan kondisi dermatitis atopik. Foto hari ke-21 kelompok K3 ditemukan edema, erythema dan kekeringan bersisik ditunjukkan dengan tanda anak panah berwarna merah.



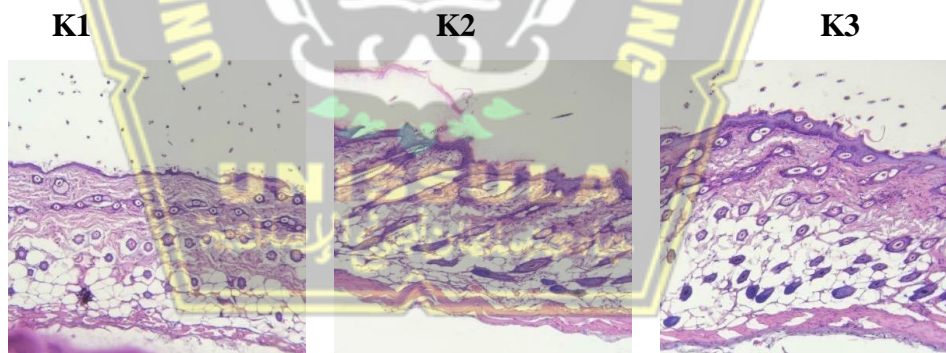
Gambar 5.5. Hasil mikroskopis Preparat telinga perbesaran 100x

K1: Sehat

K2: Dosis 10mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

K3: Dosis 20mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

Kelompok K2 dan K3 nampak penebalan lapisan korneum, epidermis, dan dermis. Infiltrat mononuklear terutama diamati di dermis.



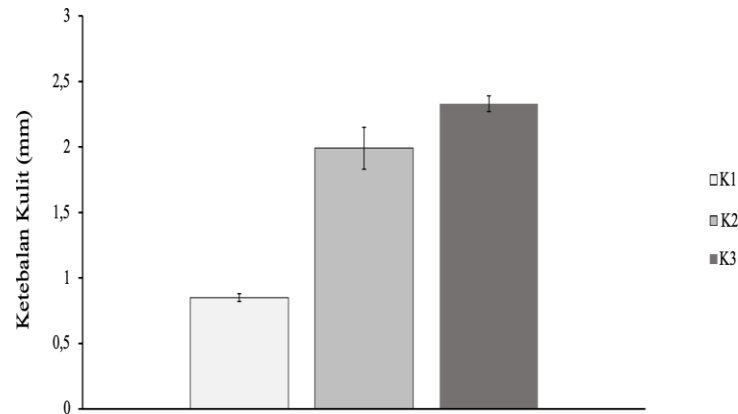
Gambar 5.6. Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x

K1: Sehat

K2: Dosis 10mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

K3: Dosis 20mg Daivonex (Calcipotriol 50 mcg/g)

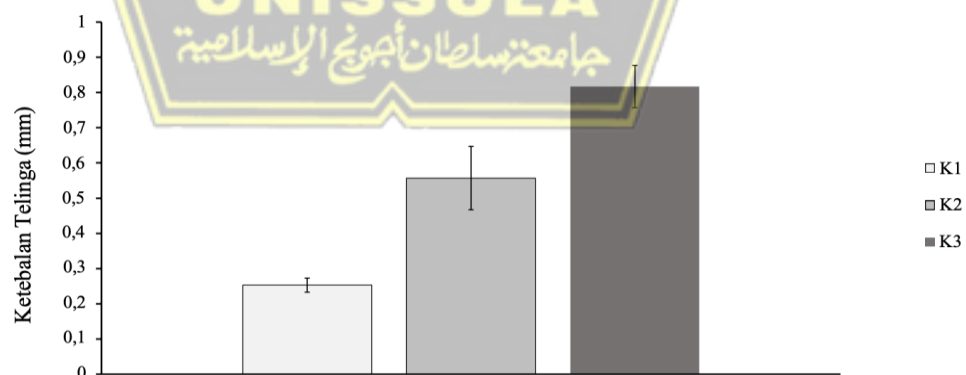
Kelompok K2 dan K3 nampak penebalan lapisan korneum, epidermis, dan dermis. Infiltrat mononuklear terutama diamati di dermis.



Grafik pertama menunjukkan bahwa ketebalan kulit meningkat signifikan dari K1 ke K3.

- K1 memiliki ketebalan kulit paling rendah (mendekati normal).
- K2 menunjukkan peningkatan ketebalan kulit yang menandakan adanya inflamasi dan hiperproliferasi keratinosit.
- K3 memiliki ketebalan kulit tertinggi, menggambarkan derajat inflamasi paling berat.

Kesimpulan : Semakin tinggi kelompok perlakuan (K1 → K3), semakin besar penebalan kulit yang terjadi.



Grafik kedua memperlihatkan pola yang sama seperti grafik pertama.

- K1 memiliki ketebalan telinga paling tipis (normal, tanpa inflamasi).

- b. K2 menunjukkan peningkatan ketebalan telinga sebagai tanda edema atau inflamasi.
- c. K3 memiliki ketebalan telinga tertinggi, menunjukkan inflamasi dan pembengkakan paling parah.

Kesimpulan: Ketebalan telinga meningkat bertahap dari K1 ke K3, menandakan tingkatan inflamasi yang semakin berat.

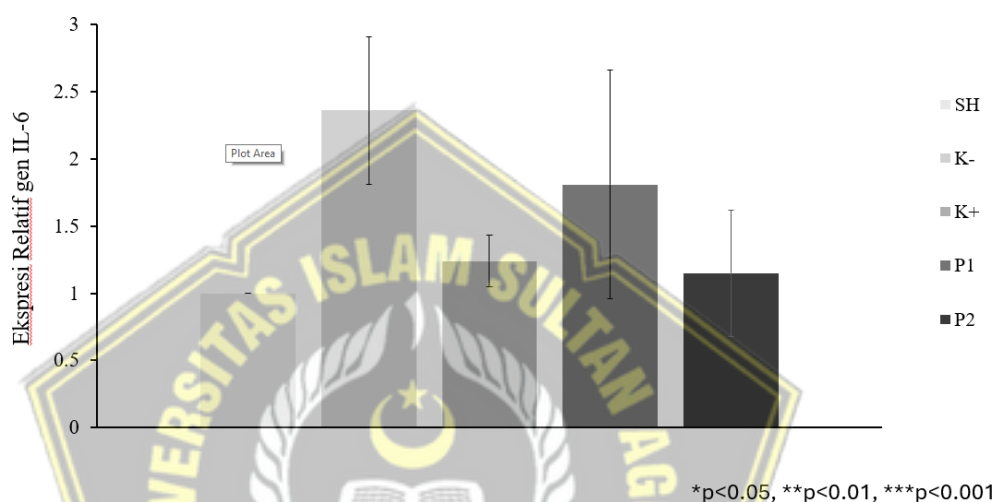
5.1.4. Ekspresi IL-6

Data ekspresi IL-6 dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasi. Kelompok K2 memiliki ekspresi IL-6 tertinggi, yaitu $2,37 \pm 0,56$ pg/mL, diikuti oleh K3 dengan $1,24 \pm 0,19$ pg/mL, dan K4 dengan $1,15 \pm 0,47$ pg/mL. Kelompok K1 memiliki kadar yang lebih rendah sebesar $1,00 \pm 0,00$ pg/mL, sementara kadar terendah ditemukan pada K1 dengan $0,48 \pm 0,20$ pg/mL.

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,05$). Sehingga digunakan uji Non Parametric Test Kruskal Wallis yang menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,02$). Signifikansi juga dioerkuat oleh uji Non-Parametric Test Mann Whitney didapatkan K1-K2, K1-K3, K1-K4, K1-K5, K2-K3, K2-K4, K2-K5, K3-K4, K3-K5, K4-K5 didapatkan $P < 0,05$ hasil data tidak signifikan.

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-6

Variabel	Kelompok					P
	K1 (pg/mL) Rerata±SD	K2 (pg/mL) Rerata±SD	K3 (pg/mL) Rerata±SD	K4 (pg/mL) Rerata±SD	K5 (pg/mL) Rerata±SD	
IL-6	1,00±0,00	2,37±0,56	1,24±0,19	1,15±0,47	0,48±0,20	
Mann Whitney	0,02	0,02	0,40	0,30	0,55	
Kruskal-Wallis						0,01



Gambar 5.7. Grafik Ekspresi IL-6.

Terdapat pola penurunan yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner* dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan ekspresi IL-6 signifikan.

5.1.5. Ekspresi IL-33

Data ekspresi IL-33 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasinya. Kelompok K2 memiliki ekspresi IL-33 tertinggi, yaitu $1,84 \pm 0,53$ pg/mL, diikuti oleh K4 dengan $1,41 \pm 0,84$ pg/mL, dan K3 dengan $1,32 \pm 0,13$ pg/mL. Kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah, yaitu $1,15 \pm 0,20$ pg/mL, sedangkan ekspresi IL-33 terendah

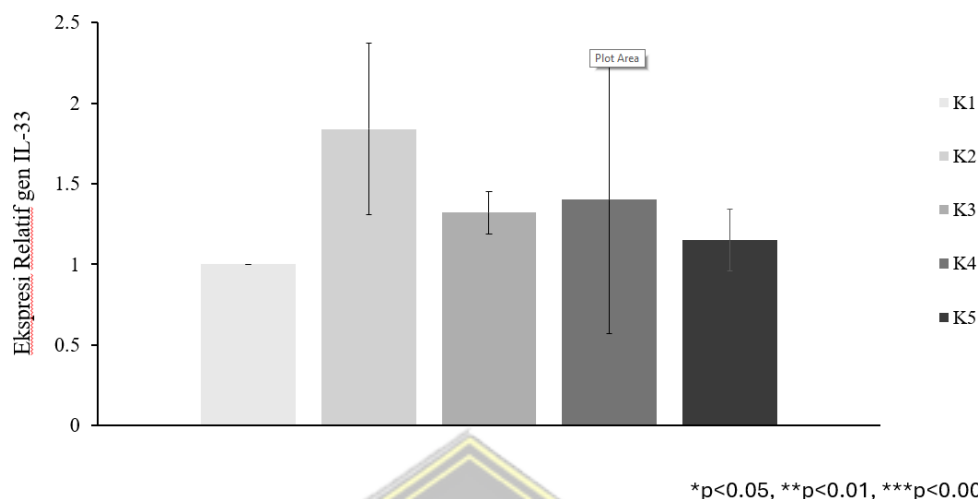
ditemukan pada kelompok K1 dengan $1,00 \pm 0,01$ pg/mL.

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah tidak terdistribusi normal dan tidak homogen ($p < 0,05$). Sehingga digunakan uji Non Parametric Test Kruskal Wallis yang menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,02$).

Signifikansi juga diperkuat oleh uji Non-Parametric Test Mann Whitney. Pada uji mann whitney didapatkan hasil $p > 0,05$ dimana hasil data tidak normal, sehingga dilanjutkan langsung ke uji non parametric. Pada K1-K2 non parametric test mann whitney didapatkan $P < 0,05$ hasil data signifikan. Pada K1-K3 didapatkan uji non parametric test mann whitney $P < 0,05$ hasil data signifikan. Pada K1-K4, K1-K5, K2-K3, K2-K4, K2-K5, K3-K4, K3-K5, K4-K5 uji non parametric test man whitney didapatkan $P < 0,05$ hasil data signifikan.

Tabel 5.2. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-33

Variabel	Kelompok					P
	K1 (pg/mL) Rerata \pm SD	K2 (pg/mL) Rerata \pm SD	K3 (pg/mL) Rerata \pm SD	K4 (pg/mL) Rerata \pm SD	K5 (pg/mL) Rerata \pm SD	
IL-33	$1,00 \pm 0,01$	$1,84 \pm 0,53$	$1,32 \pm 0,13$	$1,41 \pm 0,84$	$1,15 \pm 0,20$	
Mann Whitney	0,03	0,05	0,13	0,06	0,47	
Kruskal-Wallis						0,03



Gambar 5.8. Grafik Ekspresi IL-33

Terdapat pola peningkatan yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner* dimana dosis tertinggi menghasilkan penurunan ekspresi IL-33 yang signifikan.

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Sel punca mesenkimal (MSC) telah terbukti memberikan efek terapeutik pada berbagai penyakit terkait imun dengan mengeluarkan vesikel ekstraseluler kecil (sEV) karena fungsi imunomodulatorinya yang sangat baik sEV yang berasal dari MSC telah digunakan untuk memuat protein target melalui modifikasi genetik, dan membungkus obat untuk meringankan penyakit autoimun tanpa efek samping.²⁵ Selama perkembangan dan progresi AD, aktivasi respons imun yang abnormal umumnya dicirikan sebagai akibat dari proliferasi keratinosit yang tidak normal, aktivasi dan infiltrasi masif sel imun inflamasi, dan akumulasi sitokin proinflamasi yang melimpah di dermis dan epidermis yang melibatkan sistem imun bawaan dan adaptif.

Pada penelitian ini, MSC dipaparkan pada kondisi hipoksia 5% O₂

selama 24 jam sebelum isolasi *exosome*. Strategi *hypoxia preconditioning* terbukti meningkatkan aktivitas biologis MSC dan *exosome* yang dihasilkan, terutama dalam konteks modulasi imun dan inflamasi. Hipoksia mengaktifkan jalur HIF-1 α , yang mengubah ekspresi gen, protein, dan miRNA yang dikemas ke dalam *exosome*, sehingga memperkuat efek anti- inflamasi dan imunoregulator.⁶²

Kadar *exosome* sebesar 10 $\mu\text{g/mL}$ yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa proses isolasi dengan metode *Tangential Flow Filtration* (TFF) efektif menghasilkan *exosome* dalam jumlah dan kualitas yang memadai. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *exosome* dari MSC yang diprekondisi hipoksia memiliki kapasitas lebih tinggi dalam menekan respon inflamasi dibandingkan MSC normoksia.

Pada penelitian ini, pemberian EH-MSC dengan dosis 100 μg dan 200 μg pada mencit model Dermatitis-like bertujuan untuk mengevaluasi efeknya terhadap ekspresi interleukin IL-6 dan IL-33 serta hubungan kedua parameter ini dengan regulasi imun dan perkembangan Dermatitis atopik. Pemberian EH-MSC pada dosis 100 μg dan 200 μg juga dapat mempengaruhi keseimbangan Treg (*Regulatory T cells*), yang memainkan peran penting dalam mengontrol respons imun tubuh. Peningkatan aktivitas Treg dapat berkontribusi pada pengaturan sistem imun untuk menghindari serangan terhadap kulit, yang sangat relevan dalam pengobatan Dermatitis atopik, yang merupakan gangguan autoimun. Dengan meningkatkan jumlah Treg, EH-MSC berpotensi memperbaiki gangguan autoimun pada Dermatitis atopik

dengan mengurangi reaksi imun yang merusak kulit.

Berdasarkan Tabel 5.1, kelompok K2 menunjukkan ekspresi IL-6 tertinggi ($2,37 \pm 0,56$ pg/mL) dibandingkan kelompok lain. Peningkatan ini menunjukkan bahwa induksi dermatitis atopik-like berhasil memicu respons inflamasi yang kuat. Sebaliknya, kelompok K1 sebagai kontrol normal memiliki ekspresi IL-6 yang lebih rendah ($1,00 \pm 0,00$ pg/mL), mencerminkan kondisi homeostasis imun. Pada kelompok perlakuan (K3, K4, dan K5), terlihat penurunan ekspresi IL-6 secara bertahap, dengan nilai terendah pada kelompok K5 ($0,48 \pm 0,20$ pg/mL). Penurunan ini menunjukkan bahwa perlakuan mampu menekan produksi IL-6 yang berperan sebagai mediator inflamasi utama pada dermatitis atopik.

Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data IL-6 tidak normal dan tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga penggunaan uji non-parametrik Kruskal-Wallis sudah tepat. Uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,03$), yang mengindikasikan bahwa perlakuan memberikan efek signifikan terhadap ekspresi IL-6. Uji lanjut Mann-Whitney memperlihatkan bahwa perbedaan signifikan terutama terjadi antara kelompok dermatitis (K2) dengan kelompok perlakuan awal (K3) dan dosis lebih tinggi, sedangkan perbedaan antara K3, K4, dan K5 tidak selalu signifikan.

IL-6 merupakan sitokin kunci dalam inflamasi kronik dan berperan dalam aktivasi sel T serta pemeliharaan inflamasi kulit. Penurunan signifikan IL-6 pada kelompok K5 menunjukkan bahwa perlakuan dosis tertinggi

mampu menekan respons inflamasi secara efektif hingga mendekati kondisi normal, sebagaimana tercermin dari nilai yang lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol sehat. Hal ini menandakan terjadinya pergeseran dari kondisi proinflamasi menuju resolusi inflamasi.

Distribusi data IL-33 juga tidak normal ($p < 0,05$), sehingga analisis dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan perbedaan bermakna antar kelompok ($p = 0,03$), menandakan adanya pengaruh perlakuan terhadap ekspresi IL-33.

Uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa perbedaan signifikan terutama terdapat antara kelompok dermatitis (K2) dengan kelompok perlakuan dosis tertinggi (K5), sementara perbedaan antar kelompok perlakuan menengah tidak selalu signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa efek penurunan IL-33 menjadi paling jelas pada dosis tertinggi.

IL-33 berfungsi sebagai alarmin yang dilepaskan oleh sel epitel saat terjadi kerusakan jaringan. Penurunan ekspresi IL-33 pada kelompok perlakuan, khususnya K5, menunjukkan bahwa perlakuan mampu mengurangi aktivasi epitel dan sinyal bahaya, sehingga berpotensi menghambat siklus inflamasi berulang pada dermatitis atopik-like.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 100 μg EH-MSC lebih efektif dalam memperbaiki lesi kulit Dermatitis atopik dibandingkan dengan dosis 200 μg , dosis 200 μg hanya ada perubahan yang setara dengan mencit sehat dalam penurunan ekspresi IL-6 dan IL-33, yang mengindikasikan bahwa dosis 200 μg dapat juga digunakan untuk efek terapeutik. Berbagai molekul

bioaktif seperti miR-122 dan miR-221. Molekul- molekul ini berperan penting dalam merangsang ekspresi gen yang mengatur regenerasi jaringan dan pengendalian peradangan. MiR-122 berperan dalam meningkatkan produksi IL-6 dan IL-33, yang mengurangi peradangan dengan menurunkan aktivitas sel imun pro- inflamasi, sementara miR-221 berfungsi dalam merangsang produksi IL-6 dan IL-33, yang berperan dalam perbaikan kulit.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi EH-MSC secara subcutan terhadap penurunan ekspresi IL-6 dan IL-33 pada mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* menunjukkan hal-hal berikut:

1. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 µg dan 200 µg terhadap penurunan ekspresi IL-6 pada mencit model *Atopic Dermatitis like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 µg dan 200 µg terhadap penurunan ekspresi IL-33 pada mencit model *Atopic Dermatitis like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

1. Studi yang akan datang diharapkan untuk mengukur kadar, ekspresi protein intraseluler, dan ekspresi mRNA IL-10 setelah dilakukan injeksi EH-MSC pada mencit model *Atopic Dermatitis like*.
2. Melakukan uji klinis fase 1 pada manusia yang bertujuan untuk mengevaluasi keamanan, tolerabilitas, dosis, serta efek farmakokinetik dan farmakodinamik dari EH-MSC.
3. Saran menggunakan dosis yang lebih tinggi dan menggunakan parameter

lain juga yang mendekati interleukin IL-33 dan IL-6

4. Menggunakan metode analisis pembacaan jenis lain seperti ELISA, IHC dan dapat menggunakan Secretome jel



DAFTAR PUSTAKA

1. Lobefaro, F.; Gualdi, G.; Di Nuzzo, S.; Amerio, P. Dermatitis Atopik: Aspek Klinis dan Kebutuhan yang Belum Terpenuhi. *Biomedis* 2022 , 10 , 2927. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112927>
2. Imai Y. Interleukin-33 in atopik dermatitis. *J Dermatol Sci.* 2019 Oct;96(1):2- doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.08.006. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31455506. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31455506/>
3. Naji, Amel & Mousa, Hind. (2023). Evaluation of Interleukin6 (IL- 6) levels in Atopic Dermatitis Patients in Thi-Qar province. *University of Thi-Qar Journal of Science.* 9.48 5110.32792/utq/utjsci.v9i1.876. https://www.researchgate.net/publication/367012107_Evaluation_of_Interleukin6_IL-6_levels_in_Atopic_Dermatitis_Patients_in_Thi-Qar_provi
4. Effedi, dkk. 2019. Hubungan antara jenis kelamin dengan angka kejadian dermatitis atopik di poliklinik kulit dan kelamin Rumah sakit umum daerah dr.H. Abdul Moeloek Provinsi Lampung tahun 2019. *Jurnal Medika Malahayati,* Volume 4, Nomor 2. <https://ejournalmalahayati.ac.id/index.php/medika/article/download/2497/pdf>
5. Lazar, M.; Zhang, A.D.; Vashi, N.A. Topical Treatments in Atopic Dermatitis: An Expansive Review. *J. Clin. Med.* 2024, 13, 2185. <https://doi.org/10.3390/jcm13082185>
6. Umehara, Y.; Trujillo-Paez, JV; Yue, H.; Peng, G.; Nguyen, HLT; Okumura, K.; Ogawa, H.; Niyonsaba, F. Calcitriol, Bentuk Aktif Vitamin D3, Mengurangi Disfungsi Skin Barrier pada Tikus Dermatitis Atopik NC/Nga. *Int. J.Mol. Sains.* 2023 , 24 , 9347. <https://doi.org/10.3390/ijms24119347>
7. L PK, Kandoi S, Misra R, S V, K R, Verma RS. The mesenchymal stem cell secretome: A new paradigm towards cell- free therapeutic mode in regenerative medicine. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2019;46: 1–9. pmid:30954374. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30954374/>
8. Weiliang Z, Lili G. Research Advances in the Application of Adipose- Derived Stem Cells Derived Exosomes in Cutaneous Wound Healing. *Ann Dermatol.* 2021 Aug;33(4):309-317. doi: 10.5021/ad.2021.33.4.309. Epub 2021 Jul 1. PMID: 34341631; PMCID: PMC8273313. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8273313/>
9. Cho, B.S., Kim, J.O., Ha, D.H. *et al.* Exosomes derived from human adipose tissue- derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Res Ther* 9, 187 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13287-018-0939-5>

10. Xia, L., Zhang, C., Lv, N., Liang, Z., Ma, T., Cheng, H., & Zhao, R. C. (2021). Exosomes from hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells promote angiogenesis and suppress inflammation via miR-21 and miR-146a pathways. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), 132. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02206-5>
11. Huang, Y., et al. (2023). Hypoxia-primed mesenchymal stem cell- derived exosomes reduce inflammation in atopic dermatitis by regulating IL-6 and IL-33 expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1),115. <https://doi.org/10.3390/ijms24010115>
12. Lee, S. H., et al. (2022). Exosomes derived from hypoxia- conditioned mesenchymal stem cells regulate inflammation via NF- κ B pathway inhibition. *Frontiers in Immunology*, 13, 944838. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.944838>
13. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine*. 2022 Aug;156:155891. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155891. Epub 2022 May 25. PMID: 35640416. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35640416/>
14. Imai Y. Interleukin-33 in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*. 2019 Oct;96(1):2-7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.08.006. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31455506.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31455506/>
15. Choy, E. H., De Benedetti, F., Takeuchi, T., Hashizume, M., John, M. R., & Kishimoto, T. (2020). Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(6), 335–345. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0419-z>
16. Rose-John, S. (2018). Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(2), a028415. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028415>
17. Huang, Y., et al. (2023). Hypoxia-primed mesenchymal stem cell- derived exosomes reduce inflammation in atopic dermatitis by regulating IL-6 and IL-33 expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1),115. <https://doi.org/10.3390/ijms24010115>
18. Lee, S. H., et al. (2022). Exosomes derived from hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells regulate inflammation via NF- κ B pathway inhibition. *Frontiers in Immunology*, 13, 944838. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.944838>
19. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine*. 2022 Aug;156:155891. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155891. Epub 2022

- May 25. PMID: 35640416. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35640416/>
20. Imai Y. Interleukin-33 in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*. 2019 Oct;96(1):2-7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.08.006. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31455506. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31455506/>
 21. Choy, E. H., De Benedetti, F., Takeuchi, T., Hashizume, M., John, M. R., & Kishimoto, T. (2020). Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(6), 335–345. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0419-z>
 22. Rose-John, S. (2018). Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(2), a028415. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028415>
 23. Bunikowski, R., Gerhold, K., Bräutigam, M., Hamelmann, E., Renz, H., & Wahn, U. (2001). Effect of low-dose cyclosporin A microemulsion on disease severity, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha production in severe pediatric atopic dermatitis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 125(4), 344–348. <https://doi.org/10.1159/000053844>
 24. Huang S, Wang H, Zheng H, Li W, Shi J, Shen C, Tao R. Association between IL-6 polymorphisms and Atopic Dermatitis in Chinese Han children. *Front Pediatr*. 2023 Mar 21;11:1156659. doi: 10.3389/fped.2023.1156659. PMID: 37025289;PMCID:PMC10070860. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10070860/>
 25. Atjo W, Ummu S, Rifkah F, Mayang AA, Syamsiar R. Faktor Dominan Yang Mempengaruhi Kejadian Dermatitis Kontak Dan Dampaknya Terhadap Kualitas Hidup Pada Petani Rumput Laut Di Dusun Puntondo Takalar. *Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Hasanuddin*. 2019. https://www.academia.edu/91904008/Faktor_Dominan_Yang_Mempengaruhi_Kejadian_Dermatitis_Kontak_Dan_Dampaknya_Terhadap_Kualitas_Hidup_Pada_Petani_Rumput_Laut_DI_Dusun_Puntondo_Takal
 26. Berke R, Singh A, Guralnick M. Atopic dermatitis: an overview. *Am Fam Physician*. 2012 Juli;86(1):35-42. PMID: 22962911. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22962911/>
 27. Rajasingh S, Sigamani V, Selvam V, Gurusamy N, Kirankumar S, Vasanthan J, Rajasingh J. Comparative analysis of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med*. 2021 Sep;25(18):8904-8919. doi: 10.1111/jcmm.16851. Epub 2021 Aug 13. PMID: 34390186;PMCID:PMC8435459. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8435459/>

28. The effect of exosomes from mesenchymal stem cells on atopic dermatitis in a mouse model. (2018). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 79(3), AB18. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.05.1122>
29. .Huang, R., Jia, B., Su, D., Li, M., Xu, Z., He, C., Huang, Y., Fan, H., Chen, H., & Cheng, F. (2023). Plant exosomes fused with engineered mesenchymal stem cell-derived nanovesicles for synergistic therapy of autoimmune skin disorders. *Journal of Extracellular Vesicles*, 12, e12361. <https://isevjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jev2.12361>
30. Al-Dhalimy, A. M. B., Salim, H. M., Shather, A. H., Naser, I. H., Hizam, M. M., & Alshujery, M. K. (2023). The pathological and therapeutically role of mesenchymal stem cell (MSC)-derived exosome in degenerative diseases: Particular focus on LncRNA and microRNA. *Pathology - Research and Practice*, 250, 154778. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154778>
31. Huang, Y., et al. (2023). Hypoxia-primed mesenchymal stem cell- derived exosomes reduce inflammation in atopic dermatitis by regulating IL-6 and IL-33 expression. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(1),115. <https://doi.org/10.3390/ijms24010115>
32. Lee, S. H., et al. (2022). Exosomes derived from hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells regulate inflammation via NF-κB pathway inhibition. *Frontiers in Immunology*, 13, 944838. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.944838>
33. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine*. 2022 Aug;156:155891. doi: 10.1016/j.cyto.2022.155891. Epub 2022 May 25. PMID: 35640416. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35640416/>
34. Imai Y. Interleukin-33 in atopic dermatitis. *J Dermatol Sci*. 2019 Oct;96(1):2-7. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.08.006. Epub 2019 Aug 19. PMID: 31455506. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31455506/>
35. Choy, E. H., De Benedetti, F., Takeuchi, T., Hashizume, M., John, M. R., & Kishimoto, T. (2020). Translating IL-6 biology into effective treatments. *Nature Reviews Rheumatology*, 16(6), 335–345. <https://doi.org/10.1038/s41584-020-0419-z>
36. Rose-John, S. (2018). Interleukin-6 family cytokines. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(2), a028415. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a028415>
37. Bunikowski, R., Gerhold, K., Bräutigam, M., Hamelmann, E., Renz, H., & Wahn, U. (2001). Effect of low-dose cyclosporin A microemulsion on disease severity, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha production

in severe pediatric atopic dermatitis. *International Archives of Allergy and Immunology*, 125(4), 344–348. <https://doi.org/10.1159/000053844>

38. Huang S, Wang H, Zheng H, Li W, Shi J, Shen C, Tao R. Association between IL-6 polymorphisms and Atopic Dermatitis in Chinese Han children. *Front Pediatr*. 2023 Mar 21;11:1156659. doi: 10.3389/fped.2023.1156659. PMID: 37025289;PMCIDPMC10070860.<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10070860/>
39. Berke R, Singh A, Guralnick M. Atopic dermatitis: an overview. *Am Fam Physician*. 2012 Jul 1;86(1):35-42. PMID:22962911.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22962911/>
40. Rajasingh S, Sigamani V, Selvam V, Gurusamy N, Kirankumar S, Vasanthan J, Rajasingh J. Comparative analysis of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med*. 2021 Sep;25(18):8904-8919. doi: 10.1111/jcmm.16851. Epub 2021 Aug 13. PMID:34390186; PMCID:PMC8435459.<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8435459/>
41. The effect of exosomes from mesenchymal stem cells on atopic dermatitis in a mouse model. (2018). *Journal of the American Academy of Dermatology*, 79(3), AB18. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.05.1122>
42. Huang, R., Jia, B., Su, D., Li, M., Xu, Z., He, C., Huang, Y., Fan, H., Chen, H., & Cheng, F. (2023). Plant exosomes fused with engineered mesenchymal stem cell-derived nanovesicles for synergistic therapy of autoimmune skin disorders. *Journal of Extracellular Vesicles*, 12, e12361. <https://isevjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jev2.12361>
43. Al-Dhalimy, A. M. B., Salim, H. M., Shather, A. H., Naser, I. H., Hizam, M. M., & Alshujery, M. K. (2023). The pathological and therapeutically role of mesenchymal stem cell (MSC)-derived exosome in degenerative diseases: Particular focus on LncRNA and microRNA. *Pathology - Research and Practice*, 250, 154778. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2023.154778>
44. Wang W, Li P, Li W, Jiang J, Cui Y, Li S, Wang Z. Osteopontin activates mesenchymal stem cells to repair skin wound. *PLoS One*. 2017 Sep 28;12(9):e0185346. doi: 10.1371/journal.pone.0185346. PMID: 28957406;PMCID: PMC5619734. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5619734/>
45. Zhang W, Liu L, Huo Y, Yang Y, Wang Y. Hypoxia-pretreated human MSCs attenuate acute kidney injury through enhanced angiogenic and antioxidative capacities. *Biomed Res Int*. 2014;2014:462472. doi: 10.1155/2014/462472. Epub 2014 Jul 16. PMID: 25133162; PMCID: PMC4123714.<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4123714/>

46. Kadle RL, Abdou SA, Villarreal-Ponce AP, Soares MA, Sultan DL, David JA, et al. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell- mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. *PLoS One*. 2018;13(3). <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0193178>
47. Braga CL, Santos RT, da Silva CM, de Novaes Rocha N, Felix NS, Medeiros M, et al. Therapeutic effects of hypoxia-preconditioned bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in experimental pulmonary arterial hypertension. *Life Sci*. 2023;329. 121923. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2023.121923>
48. Zhang G, Zou X, Huang Y, Wang F, Miao S, Liu G, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles protect against acute kidney injury through anti-oxidation by enhancing Nrf2/ARE activation in rats. *Kidney Blood Press Res*. 2016;41(2):119–28. <https://doi.org/10.1159/000443413>
49. Toh WS, Lai RC, Zhang B, Lim SK. MSC exosome works through a protein-based mechanism of action. Vol. 46, *Biochemical Society Transactions*. 2018.p. 843–53. <https://doi.org/10.1042/BST20180079>
50. Yang Y, Wu Y, Yang D, Neo SH, Kadir ND, Goh D, et al. Secretive derived from hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration and mitigate joint inflammation via extracellular vesicles. *Bioact Mater*. 2023;27:98–112. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.12.020>
51. Antebi, B., Rodriguez, L.A., Walker, K.P. *et al.* Short-term physiological hypoxia potentiates the therapeutic function of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* **9**, 265 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1007-x>
52. Jensen, C. C., & Warfel, N. A. (2022). Hypoxia. In *Comprehensive Pharmacology* (pp. 438–468). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820472-6.00097-1>
53. Bieńko K, Leszcz M, Więckowska M, Białek J, Petniak A, Szymanowski R, et al. VEGF Expression in Umbilical Cord MSC Depends on the Patient’s Health, the Week of Pregnancy in Which the Delivery Took Place, and the Body Weight of the Newborn – Preliminary Report. *Stem Cells Cloning Adv Appl*. 2023;16:5–18. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10150760/>
54. Pan Q, Wang Y, Lan Q, Wu W, Li Z, Ma X, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorate hypoxia/reoxygenation-injured ECs via transferring MicroRNA-126. *Stem Cells Int*. 2019;2019. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6589209/>
55. Minoves M, Hazane-Puch F, Moriondo G, Boutin-Paradis A, Lemarié E, Pépin JL, et al. Differential Impact of Intermittent vs. Sustained Hypoxia on HIF-1, VEGF and Proliferation of HepG2 Cells. *Int J Mol Sci*. 2023;24(8).

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10139223/>

56. Gurler B, Gencay G, Baloglu E. Hypoxia and HIF-1 α Regulate the Activity and Expression of Na,K-ATPase Subunits in H9c2 Cardiomyoblasts. *Curr Issues Mol Biol.* 2023 Oct 12;45(10):8277-8288. doi: 10.3390/cimb45100522. PMID: 37886965;PMCID: PMC10605391.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10605391/>
57. Li, P., Ma, H., Han, D., & Mou, K. (2015). Interleukin-33 affects cytokine production by keratinocytes in vitiligo. *Clinical and Experimental Dermatology*, 40(2), 163–170. <https://doi.org/10.1111/ced.12464>
58. Tamagawa-Mineoka, R., Okuzawa, Y., Masuda, K., & Katoh, N. (2014). Increased serum levels of interleukin 33 in patients with atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 70(5), 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2014.01.867>
59. Lo Sicco C, Reverberi D, Balbi C, Ulivi V, Principi E, Pascucci L, Becherini P, Bosco MC, Varesio L, Franzin C, Pozzobon M, Cancedda R, Tasso R. Mesenchymal Stem Cell- Derived Extracellular Vesicles as Mediators of Anti-Inflammatory Effects: Endorsement of Macrophage Polarization. *Stem Cells Transl Med.* 2017 Mar;6(3):1018-1028. doi: 10.1002/sctm.16-0363. Epub 2017 Jan 31. PMID: 28186708; PMCID: PMC5442783.<https://doi.org/10.1002/sctm.16-0363>
60. Xie L, Long X, Mo M, Jiang J, Zhang Q, Long M, Li M. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived exosomes alleviate skin fibrosis in systemic sclerosis by inhibiting the IL-33/ST2 axis via the delivery of microRNA-214. *Mol Immunol.* 2023 May;157:146-157. doi: 10.1016/j.molimm.2023.03.017. Epub 2023 Apr 5. PMID: 37028129.<https://doi.org/10.1016/j.molimm.2023.03.017>
61. Stephan Weidinger, Natalija Novak, Atopic dermatitis, *The Lancet*, Volume 387, Issue 10023, 2016, Pages 1109-1122, ISSN 0140-6736. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26377142/>
62. Morizane S, Yamasaki K, Kajita A, Ikeda K, Zhan M, Aoyama Y, Gallo RL, Iwatsuki K. TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012 Jul;130(1):259-61.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2012.03.006. Epub 2012 Apr 21. PMID: 22521249; PMCID:PMC3387356.<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3387356/>
63. Luan Z, Liu J, Li M, Wang Y, Wang Y. Exosomes derived from umbilical cord-mesenchymal stem cells inhibit the NF- κ B/MAPK signaling pathway and reduce the inflammatory response to promote recovery from spinal cord injury. *J Orthop Surg Res.* 2024 Mar 16;19(1):184. doi: 10.1186/s13018-024-04651-

w. PMID: 38491537; PMCID: PMC10943766.

64. Hu Y, Qu H, He J, Zhong H, He S, Zhao P, Zhang L, Chen J, Deng C. Human placental mesenchymal stem cell derived exosomes exhibit anti-inflammatory effects via TLR4-mediated NF- κ B/MAPK and PI3K signaling pathways. *Pharmazie*. 2022 Apr 10;77(3):112-117. doi: 10.1691/ph.2022.11082. PMID: 35459439.
65. He K, Zang J, Ren T, Feng S, Liu M, Zhang X, Sun W, Chu J, Xu D, Liu F. Therapeutic Potential and Mechanisms of Mesenchymal Stem Cell and Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles in Atopic Dermatitis. *J Inflamm Res*. 2024 Aug 29;17:5783-5800. doi: 10.2147/JIR.S479444. PMID: 39224661; PMCID: PMC11368146.
66. Łacwik, J.; Kraik, K.; Laska, J.; Total, M.; Sędek, Ł.; Gomułka, K. IL-31/33 Sumbu pada Dermatitis Atopik. *Int. J.Mol. Sains*. 2025 , 26 , 10162. <https://doi.org/10.3390/ijms262010162>
67. Lin-Chong Su, Wang-Dong Xu, An-Fang Huang, IRAK family in inflammatory autoimmune diseases, *Autoimmunity Reviews*, Volume 19, Issue 3, 2020, 102461, ISSN 1568-9972, <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2020.102461>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1568997220300045>)
68. Zheng J, Yang B, Liu S, Xu Z, Ding Z, Mo M. Applications of Exosomal miRNAs from Mesenchymal Stem Cells as Skin Boosters. *Biomolecules*. 2024 Apr 9;14(4):459. doi: 10.3390/biom14040459. PMID: 38672475; PMCID: PMC11048182.
69. Jin Zhuo Haitao , Chen Yunfei , Zhao Guifang. Advances in application of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cell- derived exosomes. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. Volume 12 – 2024 <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2024.1446050>
70. Imai, Yasutomo. Interleukin-33 pada dermatitis atopik. *Jurnal Ilmu Dermatologi*, Volume 96 , Edisi 1 hal. 2-7 Oktober 2019 . [https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811\(19\)30263-4/](https://www.jdsjournal.com/article/S0923-1811(19)30263-4/)
71. Hua, C., Liang, Q., Chen, S. dkk. Terapi sel punca mesenkimal tali pusat manusia meringankan gejala pada model tikus yang mirip dermatitis atopik. *Stem Cell Res Ther* 14 , 147 (2023). <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03365-w>