

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI *INTRADERMAL*
SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL
(SH- MSCs) TERHADAP EKSPRESI *FILAGGRIN* DAN
*LORICRIN***

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model
Xerosis-like yang Diinduksi SLS)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagai persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

I Ketut Agus Sukadiana

MBK2424010486

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI *INTRADERMAL*
SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL
(SH- MSCs) TERHADAP EKSPRESI *FILAGGRIN* DAN
*LORICRIN***

**(Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model
Xerosis-like yang Diinduksi SLS)**

Disusun Oleh:

I Ketut Agus Sukadiana

MBK2424010486

telah dipertahankan di depan tim penguji

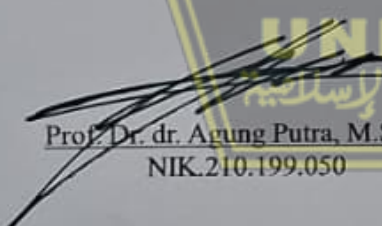
pada tanggal 20 Februari 2026

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

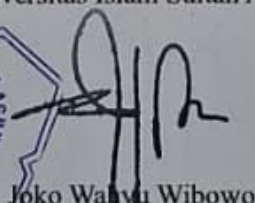

Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si., Med.
NIK.210.199.050


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

Mengetahui,

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




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

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa proposal tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri 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, Februari 2026



I Ketut Agus Sukadiana

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : I Ketut Agus Sukadiana
Tempat, Tanggal Lahir : Bias, 23 April 1991
Agama : Hindu
Jenis Kelamin : Laki-laki

B. Riwayat Pendidikan

1. SDN 3 Abang : Lulus tahun 2003
2. SMPN 1 Abang : Lulus tahun 2006
3. SMAN 2 Amlapura : Lulus tahun 2009
4. D3 Keperawatan Poltekkes Kemenkes Denpasar : Lulus tahun 2012
5. S1 Keperawatan Bina Usada Bali : Lulus tahun 2023
6. Profesi Ners Keperawatan Bina Usada Bali : Lulus tahun 2024
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Istri : Ni Putu Dian Indrayuni
2. Nama Anak : Putu Hyurin Aiswara Haira

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas segala limpahan rahmat, taufik, serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal tesis dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN INJEKSI INTRADERMAL SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL (SH- MSCs) TERHADAP EKSPRESI *FILAGGRIN* DAN *LORICRIN* (Studi Eksperimental pada Tikus Jantan Galur Wistar Model *Xerosis Like* yang Diinduksi SLS)** Dalam proses penyusunan proposal ini, penulis mendapatkan arahan, dukungan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.Hum, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta jajaran wakil rektor yang telah memberikan kesempatan untuk menempuh pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS, selaku Dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan fasilitas dan dukungan selama menempuh studi.
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang senantiasa memberikan dorongan, arahan, dan motivasi dalam penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si., Med., selaku Pembimbing I yang dengan sabar telah memberikan bimbingan, masukan, dan semangat dalam setiap tahap penyusunan proposal tesis.

5. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS ,selaku Pembimbing II yang dengan penuh perhatian telah memberikan pengarahan, nasihat, serta motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan karya ini.
6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes, selaku Penguji I yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
7. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku Penguji II yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
8. Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si., Apt, selaku Penguji III yang bersedia memberikan masukan dan saran kepada penulis untuk memperbaiki dan meningkatkan kualitas penulisan thesis.
9. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
10. dr. M Candra Wijanadi, MM dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa proposal ini masih jauh dari sempurna, mengingat keterbatasan pengetahuan dan pengalaman. Namun demikian, besar harapan penulis agar karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu,

khususnya dalam bidang Magister Ilmu Biomedik, serta menjadi bahan rujukan bagi penelitian selanjutnya.

Akhir kata, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat, keberkahan, dan bimbingan-Nya kepada kita semua. Aamiin ya Rabbal ‘Alamin.

Semarang, Februari 2026
Penulis

(I Ketut Agus Sukadiana)



ABSTRAK

Latar belakang: Xerosis cutis ditandai gangguan sawar epidermis yang berkaitan dengan penurunan protein diferensiasi keratinosit, terutama filaggrin (FLG) dan loricrin (LOR). Secretome hypoxia mesenchymal stem cells (SH-MSCs) merupakan produk parakrin bebas sel yang berpotensi mendukung perbaikan homeostasis sawar. Penelitian ini menilai pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs terhadap ekspresi filaggrin dan loricrin pada model tikus Wistar xerosis-like yang diinduksi sodium lauryl sulfate (SLS) serta menentukan dosis yang paling efektif.

Metode: Studi eksperimental rancangan post-test only dilakukan pada 30 tikus Wistar jantan yang dirandomisasi menjadi enam kelompok ($n=5$): K1 normal (tanpa SLS), K2 xerosis-like + NaCl 300 μ L, K3 xerosis-like + hyaluronic acid non-crosslink 2 mg/mL 300 μ L, serta K4–K6 xerosis-like + SH-MSCs dosis 100 μ L, 200 μ L, dan 300 μ L (dosis 100–200 μ L diencerkan NaCl hingga total 300 μ L). Induksi xerosis-like dilakukan dengan aplikasi topikal SLS 5% dua kali sehari selama 9 hari. Injeksi intradermal diberikan di empat titik pada hari ke-10, 13, 16, dan 19; jaringan kulit dorsal diambil pada hari ke-22. Ekspresi mRNA filaggrin dan loricrin diukur dengan qPCR dan dianalisis menggunakan one-way ANOVA dengan uji lanjut Tamhane.

Hasil: Ekspresi loricrin berbeda bermakna antar kelompok ($p<0,001$), terendah pada K2 ($0,534\pm0,303$) dan tertinggi pada K6 ($5,828\pm1,479$). Ekspresi filaggrin juga berbeda bermakna ($F(5,24)=18,266$; $p<0,001$), tertinggi pada K6 ($3,642\pm0,753$). Dosis 300 μ L menunjukkan pemisahan paling konsisten dibanding kontrol negatif.

Kesimpulan: SH-MSCs intradermal meningkatkan ekspresi filaggrin dan loricrin pada model xerosis-like dengan kecenderungan respons dosis; dosis optimal adalah 300 μ L.

Kata kunci: xerosis-like; SH-MSC; filaggrin; loricrin; RT-qPCR.

ABSTRACT

Background: Xerosis is marked by epidermal barrier damage with reduced filaggrin (FLG) and loricrin (LOR). Hypoxia-conditioned mesenchymal stem cell secretome (SH-MSC) is a cell-free product that may support barrier repair. This study assessed intradermal SH-MSC effects on filaggrin and loricrin expression in an SLS-induced xerosis-like Wistar rat model and identified the most effective dose in dorsal skin.

Methods: A post-test only controlled experiment included 30 male Wistar rats randomized into six groups (n=5): normal (K1, no SLS), xerosis-like + NaCl 300 μ L (K2), xerosis-like + hyaluronic acid 2 mg/mL 300 μ L (K3), and xerosis-like + SH-MSC 100 μ L (K4), 200 μ L (K5), or 300 μ L (K6); for K4–K5, SH-MSC was diluted with NaCl to a total injection volume of 300 μ L. Xerosis-like was induced by topical 5% sodium lauryl sulfate twice daily for nine days. Injections were given intradermally at four points on days 10, 13, 16, and 19; dorsal skin was harvested on day 22. Filaggrin and loricrin mRNA were quantified by qPCR and analyzed using one-way ANOVA with Tamhane post-hoc.

Results: Loricrin expression differed across groups ($p<0.001$), lowest in K2 (0.534 ± 0.303) and highest in K6 (5.828 ± 1.479). Filaggrin expression also differed ($F(5,24)=18.266$; $p<0.001$), highest in K6 (3.642 ± 0.753). The 300 μ L dose showed the most consistent separation from negative control overall.

Conclusion: Intradermal SH-MSC increased filaggrin and loricrin expression in SLS-induced xerosis-like rats with a dose-response tendency; 300 μ L was the optimal dose.

Keywords: xerosis-like; hypoxia MSC secretome; filaggrin; loricrin; RT-qPCR.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK.....	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	3
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat Praktis	4
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	13
2.1. <i>Filaggrin</i> (FLG).....	13
2.1.1. Definisi	13
2.1.2. Struktur <i>Filaggrin</i>	15
2.1.3. Fungsi	16
2.1.4. Peran <i>Filaggrin</i> terhadap <i>Xerosis</i>	18
2.2. <i>Loricrin</i>	19

2.2.1. Definisi	19
2.2.2. Struktur <i>Loricrin</i>	20
2.2.3. Fungsi <i>Loricrin</i>	21
2.3. <i>Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (SH MSC)</i>	23
2.3.1. Pengaruh Lingkungan Hipoksia terhadap MSCs dan Kandungan <i>Secretome</i>	26
2.4. Pengaruh <i>Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (SH-MSCs)</i> terhadap Ekspresi <i>Filaggrin</i> pada tikus jantan galur wistar model <i>Xerosis Like</i> yang diinduksi <i>SLS</i>	27
2.5. Pengaruh <i>Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (SH-MSCs)</i> terhadap Ekspresi <i>Loricrin</i> pada tikus jantan galur wistar model <i>Xerosis Like</i> yang diinduksi <i>SLS</i>	30
2.6. <i>Sodium Lauryl Sulfate (SLS)</i>	32
2.6.1. Definisi <i>Sodium Lauryl Sulfate (SLS)</i>	32
2.6.2. Mekanisme Kerja <i>SLS</i> terhadap kulit	33
2.6.3. Peran <i>SLS</i> dalam Induksi <i>Xerosis Cutis</i>	34
2.6.4. Pengaruh <i>SLS</i> terhadap Protein Diferensiasi Epidermis	35
2.7. <i>Xerosis cutis</i>	35
2.7.1. Epidemiologi	36
2.7.2. Faktor Risiko	37
2.7.3. Patofisiologi	39
2.7.4. Manifestasi Klinis	42
2.8. Model Hewan <i>Xerosis</i>	45
2.9. Peran <i>SH-MSC</i> terhadap ekspresi <i>Loricrin</i> Dan <i>Filaggrin</i> pada tikus jantan galur wistar model <i>Xerosis Like</i> yang diinduksi <i>SLS</i>	49
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	52
3.1. Kerangka Teori	52
3.2. Kerangka Konsep	56
3.3. Hipotesis	56
BAB IV METODE PENELITIAN	57
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	57

4.2.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	59
4.2.1.	Variabel Bebas (Independen)	59
4.2.2.	Variabel Terikat (Dependen)	60
4.2.3.	Variabel Prakondisi	60
4.3.	Definisi Operasional	60
4.3.1.	Injeksi intradermal <i>Secretome</i> Hipoksia MSCs	60
4.3.2.	Ekspresi <i>Filagrin</i>	61
4.3.3.	Ekspresi <i>Loricrin</i>	62
4.4.	Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian	62
4.4.1.	Populasi dan Sampel	62
4.4.2.	Besar Sampel	63
4.4.3.	Subjek Penelitian	64
4.5.	Cara Pengambilan <i>Sampling</i>	65
4.6.	Alat dan Bahan Penelitian	67
4.6.1.	Bahan Penelitian	67
4.6.2.	Alat Penelitian	68
4.7.	Tempat dan Waktu Penelitian	68
4.8.	Prosedur Penelitian	69
4.8.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	69
4.8.2.	Persiapan Awal	70
4.8.3.	Induksi <i>Xerosis cutis</i>	71
4.8.4.	Pemberian <i>Secretome</i> dan Titik Injeksi	72
4.8.5.	Observasi Makroskopis dan Mikroskopis pada <i>Xerosis cutis</i>	73
4.9.	Teknik Pengumpulan Data	79
4.9.1.	Persiapan sampel	79
4.9.2.	Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA	80
4.9.3.	Prosedur Pembacaan Ekspresi FLG dan LOR dengan <i>Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)</i>	81
4.10.	Analisis Data	82
4.11.	Alur Penelitian	83

BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	85
5.1. Hasil Penelitian.....	85
5.2. Pembahasan Penelitian	93
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	101
6.1. Kesimpulan.....	101
6.2. Saran	101
DAFTAR PUSTAKA	103
LAMPIRAN.....	113



DAFTAR SINGKATAN

BM	<i>Berat Molekul</i>
CO ₂	<i>Carbon Dioxide</i>
CXCR4	<i>C-X-C Chemokine Receptor Type 4</i>
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
EDTA	<i>Ethylenediaminetetraacetic Acid</i>
Exo-MSCs	<i>Exosomes derived from Mesenchymal Stem Cells</i>
FBS	<i>Fetal Bovine Serum</i>
FLG	<i>Filaggrin</i>
LOR	<i>Loricrin</i>
FasL	<i>Fas Ligand</i>
GAG	<i>Glycosaminoglycans</i>
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF	<i>Hypoxia-Inducible Factor</i>
HRP	<i>Horseradish Peroxidase</i>
IDO	<i>Indoleamine 2,3-dioxygenase</i>
IGF-1	<i>Insulin-Like Growth Factor 1</i>
IL-10	<i>Interleukin-10</i>
IL-13	<i>Interleukin-13</i>
IL-17	<i>Interleukin-17</i>
IL-4	<i>Interleukin-4</i>
IL-6	<i>Interleukin-6</i>
IL-8	<i>Interleukin-8</i>
ISCT	<i>International Society for Cellular Therapy</i>
LMW-HA	<i>Low Molecular Weight Hyaluronic Acid</i>
LPS	<i>Lipopolysaccharide</i>
MSC	<i>Mesenchymal Stem Cells</i>

NMFs	<i>Natural Moisturizing Factors</i>
NPA	<i>Asn-Pro-Ala Motif</i>
PBS	<i>Phosphate-Buffered Saline</i>
PCA	<i>Protocadherin</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PD-L1	<i>Programmed Death-Ligand 1</i>
PKA	<i>Protein Kinase A</i>
PKC	<i>Protein Kinase C</i>
SDF-1	<i>Stromal-Derived Factor-1</i>
SLS	<i>Sodium Lauryl Sulfate</i>
TEWL	<i>Transepidermal Water Loss</i>
TFF	<i>Tangential Flow Filtration</i>
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor Beta</i>
TNF	<i>Tumor Necrosis Factor</i>
UC-MSCs	<i>Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>
VFA	<i>Volatile Fatty Acids</i>
Zym	<i>Zymogen</i>
bFGF	<i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Skema metabolisme <i>filaggrin</i> (FLG) yang menunjukkan proses penyimpanan, pemecahan, dan degradasinya menjadi <i>Natural Moisturizing Factors</i> (NMF) untuk menjaga hidrasi dan fungsi <i>barrier</i> kulit.	14
Gambar 2.2.	Skema pembentukan <i>filaggrin</i> dan NMF yang menjaga hidrasi, fungsi <i>barrier</i> , dan perlindungan kulit.	17
Gambar 2.3.	Perbandingan kulit normal dan dermatitis atopik akibat defisiensi <i>filaggrin</i> yang melemahkan fungsi <i>skin barrier</i>	22
Gambar 2.4.	Penanda umum sel punca mesenkimal (MSC) pada berbagai jaringan.	24
Gambar 2.5.	Anatomi Kulit.	39
Gambar 2.6.	Struktur <i>Skin Barrier</i>	41
Gambar 2.7.	Xerosi-meter.	44
Gambar 3.1.	Kerangka Teori	55
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep Penelitian.....	56
Gambar 4.1.	Skor <i>Xerosis cutis</i>	74
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	84
Gambar 5.1.	Validasi klinis dan dermoskopis/mikroskopis progresivitas <i>xerosis-like</i> selama induksi SLS 5%.....	85
Gambar 5.2.	Histopatologi kulit punggung tikus (HE, 100×) sebagai bukti tambahan terbentuknya <i>xerosis-like</i>	86
Gambar 5.3.	Validasi UC-MSC melalui morfologi dan uji diferensiasi. Kultur UC-MSC memperlihatkan morfologi sel berbentuk <i>spindle/fibroblast-like</i> dan melekat pada permukaan kultur.	87
Gambar 5.4.	Karakterisasi imunofenotipe UC-MSC dengan <i>flow cytometry</i>	88
Gambar 5.5.	Diagram ekspresi relatif Loricrin (LOR) per kelompok.....	91
Gambar 5.6.	Diagram ekspresi relatif FLG per kelompok.....	93

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1.	Originalitas penelitian.....	5
Tabel 2.1.	Derajat Keparahan <i>Xerosis</i>	43
Tabel 4.1.	Rancangan Penelitian.....	58
Tabel 4.2.	Jadwal Penelitian.....	69
Tabel 5.1.	Ringkasan hasil flow cytometry marker permukaan UC-MSC.....	88
Tabel 5.2.	Statistik deskriptif ekspresi relatif Loricrin (LOR) per kelompok. ..	89
Tabel 5.3.	Uji normalitas Shapiro–Wilk ekspresi LOR.	89
Tabel 5.4.	Uji homogenitas varians (Levene) ekspresi LOR.....	89
Tabel 5.5.	Uji perbandingan rerata ekspresi LOR antar kelompok (One-Way ANOVA).	90
Tabel 5.6.	Hasil uji post hoc Tamhane untuk ekspresi LOR (* mengindikasikan $p < 0,05$ bermakna).....	90
Tabel 5.7.	Statistik deskriptif ekspresi relatif FLG per kelompok.....	91
Tabel 5.8.	Uji normalitas (Shapiro–Wilk) ekspresi FLG.....	92
Tabel 5.9.	Uji homogenitas varians (Levene) ekspresi FLG.	92
Tabel 5.10.	Uji perbandingan rerata ekspresi FLG antar kelompok (One-Way ANOVA)	92
Tabel 5.11.	Hasil uji post hoc Tamhane untuk ekspresi FLG (* mengindikasikan $p < 0,05$ bermakna).....	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	113
Lampiran 2. Surat Keterangan Analisis	114
Lampiran 3. Surat Keterangan Kesehatan Hewan	115
Lampiran 4. Surat Keterangan Penelitian	116
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian	119



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Xerosis cutis, atau kulit kering, adalah kondisi umum yang ditandai dengan penurunan kelembaban kulit, yang mengarah pada kekasaran, pecah-pecah, dan pengelupasan. Kondisi ini sering kali disertai rasa gatal dan iritasi, yang dapat memperburuk kualitas hidup penderitanya.¹ Pada derajat III, *xerosis cutis* menunjukkan kerusakan yang lebih parah pada fungsi penghalang kulit, dengan penurunan ekspresi protein struktural penting seperti *filaggrin* dan *loricrin*. *Filaggrin* berperan dalam mempertahankan hidrasi kulit dengan menjaga integritas stratum korneum, sedangkan *loricrin* berfungsi dalam pembentukan lapisan pelindung eksternal kulit yang esensial untuk pertahanan kulit.² Penurunan ekspresi kedua protein ini menyebabkan ketidakmampuan kulit untuk mempertahankan kelembabannya, menjadikannya lebih rentan terhadap infeksi dan peradangan.³

Xerosis cutis memiliki prevalensi yang cukup tinggi, terutama pada populasi usia lanjut. Di Eropa, sebuah studi menunjukkan prevalensi *xerosis cutis* mencapai 55,6% pada individu berusia 75 tahun ke atas.⁴ Prevalensi *xerosis cutis* pada lansia di Indonesia juga cukup signifikan. Sebuah studi di Surabaya melaporkan bahwa 67,6% dari 71 lansia yang diteliti mengalami *xerosis cutis*, sementara penelitian lain di Padang mencatat bahwa 46,7% lansia mengalami kondisi serupa.^{5,6} Kondisi ini tidak hanya mengganggu kualitas hidup tetapi juga berpotensi meningkatkan risiko komplikasi lainnya,

seperti dermatitis terkait inkontinensia dan luka tekan, yang lebih sering terjadi pada individu dengan *xerosis cutis* berat.⁷ Data dari beberapa penelitian menunjukkan bahwa hingga 96,3% individu dengan *xerosis cutis* berisiko tinggi mengalami komplikasi kulit tambahan, yang memperburuk prognosis kondisi mereka.⁸

Secretome yang dihasilkan oleh sel punca mesenkimal yang dipreparasi dalam kondisi hipoksia (SH-MSCs) mengandung berbagai molekul bioaktif, termasuk sitokin anti-inflamasi dan faktor pertumbuhan yang dapat memperbaiki proses penyembuhan kulit dan mengembalikan fungsi penghalang kulit. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa pemberian SH-MSCs dapat menurunkan ekspresi sitokin inflamasi seperti IL-6, yang menunjukkan potensi anti-inflamasi.⁹ Namun, efek spesifik SH-MSCs terhadap ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* pada model *Xerosis Like* masih perlu dieksplorasi lebih lanjut. Studi yang menginvestigasi penggunaan SH-MSCs pada luka dan perbaikan kulit juga menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam meningkatkan regenerasi kulit dan memperbaiki fungsi penghalang kulit.^{9,10}

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh pemberian injeksi *intradermal secretome* hipoksia sel punca mesenkimal terhadap ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* pada model tikus jantan galur Wistar dengan *Xerosis Like* yang diinduksi oleh *sodium lauryl sulfat* (SLS). Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru

dalam pengembangan terapi berbasis sel punca untuk perbaikan fungsi penghalang kulit pada kondisi *Xerosis Like* .

1.2. Rumusan Masalah

Apakah injeksi *intradermal* SH-MSCs berpengaruh terhadap ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* pada kulit tikus jantan galur Wistar model *Xerosis Like* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh injeksi *intradermal* SH-MSCs terhadap ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* pada kulit tikus jantan galur Wistar model *Xerosis Like* .

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Mengukur ekspresi *filaggrin* pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model *Xerosis Like* yang diberikan *injeksi intradermal secretome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs).
2. Mengukur ekspresi *loricrin* pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model *Xerosis Like* yang diberikan *injeksi intradermal secretome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs).
3. Menentukan dosis injeksi *intradermal* SH-MSCs yang paling optimal dalam mempengaruhi ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* pada jaringan kulit tikus jantan galur Wistar model *Xerosis Like* , yaitu antara dosis 100 μ L, 200 μ L, dan 300 μ L

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi ilmiah dalam pemahaman mekanisme *secretome* MSC hipoksia dalam memperbaiki fungsi sawar kulit melalui peningkatan ekspresi *filaggrin* dan *loricrin*. Hasil penelitian ini dapat memperkaya literatur dalam bidang biomedis, dermatologi, dan terapi regeneratif.

1.4.2. Manfaat Praktis

Penelitian ini berpotensi menjadi dasar pengembangan sediaan injeksi intradermal berbasis *secretome* MSC hipoksia sebagai terapi inovatif untuk *xerosis cutis*. Hasilnya diharapkan dapat memberi manfaat pada pengembangan terapi yang lebih efektif dalam memperbaiki hidrasi kulit, meningkatkan kualitas hidup pasien, serta membuka peluang aplikasi klinis di bidang dermatologi regeneratif.



1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas penelitian

No	Penulis	Judul Penelitian	Model Penelitian	Metode & Sediaan	Parameter	Hasil utama
1	Shin K.-O., 2020 ¹¹	<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>	In vivo; tikus SKH-1 dermatitis atopik induksi oksazolon	Injeksi subkutan eksosom MSC jaringan lemak manusia	TEWL, hidrasi kulit, ceramide, struktur lamellar bodies	Eksosom MSC memperbaiki fungsi barrier kulit dengan menurunkan TEWL, meningkatkan hidrasi dan sintesis ceramide
2	Alinda et al., 2021 ¹²	<i>Comparative Efficacy of ADMSC-CM and AMSC-CM on Chronic Plantar Ulcers in Leprosy</i>	RCT klinis pada pasien ulkus plantar kronik	Aplikasi topikal ADMSC-CM dan AMSC-CM setiap 3 hari	Luas luka, kedalaman ulkus, penyembuhan	MSC-CM mempercepat penyembuhan ulkus; ADMSC-CM lebih efektif
3	Kim S.-Y., 2022 ¹³	<i>cASC and cASC-EVs Alleviate DNCB-Induced Atopic Dermatitis in Mice</i>	In vivo; mencit dermatitis atopik induksi DNCB	Pemberian cASC dan cASC-EVs	Skor lesi, pruritus, JAK/S TAT, protein barrier epidermis	Inflamasi dan pruritus menurun, fungsi barrier epidermis pulih
4	Kim J., 2022 ¹⁴	<i>Extracellular Vesicles from IFN-γ-Primed MSCs Repress Atopic Dermatitis in Mice</i>	In vivo; tikus NC/Nga dermatitis atopik	Injeksi subkutan EVs MSC priming IFN- γ	TEWL, pruritus, sitokin Th2, NF- κ B, filaggrin	Filaggrin meningkat, TEWL dan inflamasi menurun

No	Penulis	Judul Penelitian	Model Penelitian	Metode & Sediaan	Parameter	Hasil utama
5	Koudon as et al., 2022 ¹⁵	<i>Bacterial Invasion into the Epidermis of Rats with SLS-Irritated Skin</i>	In vivo; tikus	Induksi SLS pada kulit	Kerusakan epidermis, integritas barrier, invasi bakteri	SLS merusak barrier epidermis dan mempermudah penetrasi bakteri (model xerosis cutis)
6	Damayanti, Astindari, et al 2022 ¹⁶	<i>Knowledge Improvement of Xerosis Cutis through Health Education in the Elderly</i>	Quasi-eksperimental pada lansia	Edukasi kesehatan	Tingkat pengetahuan	Edukasi meningkatkan pengetahuan tentang xerosis cutis
7	Zukhiroh, PutraA, Amalina 2022 ¹⁷	<i>Effect of SH-MSC Secretome on SOD and MMP-1 in Hyperpigmentation Rats</i>	In vivo; tikus hiperpigmentasi UVB	Aplikasi topikal gel SH-MSC	SOD, MMP-1 mRNA	SH-MSC memodulasi stres oksidatif dan remodeling matriks
8	Pang Q.-Q., 2023 ¹⁸	<i>Improvement of Effect of Membrane-Free Stem Cell Extract on Atopic Dermatitis</i>	In vivo; tikus NC/Nga	Aplikasi topikal MFSCE	Eritema, edema, pruritus, inflamasi	Lesi dan inflamasi kulit menurun
9	Lin J., 2023 ¹⁹	<i>Human Umbilical Cord MSC-Derived EVs Reduce Skin Inflammation In Vitro</i>	In vitro; keratinosit manusia	Pemberian EVs MSC tali pusat	Mediator inflamasi, marker barrier	Inflamasi menurun dan fungsi barrier membaik
10	Wikant A E, Subchan p, Agung P , 2023 20	<i>Effect of SH-MSC Cream on IL-6 in Psoriasis-Like Rats</i>	In vivo; tikus psoriasis-like	Krim SH-MSC	Ekspresi gen IL-6	SH-MSC cream menurunkan IL-6 secara signifikan

No	Penulis	Judul Penelitian	Model Penelitian	Metode & Sediaan	Parameter	Hasil utama
11	Dirja et al., 2025 ²¹	<i>Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic MSC Secretome</i>	In vivo; tikus luka bakar derajat III	Injeksi intradermal SH-MSC	IL-10, TNF- α , PGE2	Inflamasi menurun dan penyembuhan luka dipercepat
12	Lumban Gaol, Leecarlo, et al 2024 ²²	<i>Role of Hypoxic MSC Secretome in Enhancing Tissue Repair</i>	In vivo; tikus sphincterotomy	Injeksi lokal secretome MSC hipoksia	HIF-1 α , VEGF, proliferasi fibroblasts	Angiogenesis dan regenerasi jaringan meningkat
13	Dirja et al., 2024 ²³	<i>Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic Mesenchymal Stem Cells' Secretome: IL-10 Upregulation and TNF-α/PGE2 Suppression</i>	Eksperimental in vivo pada tikus luka bakar derajat III model	Injeksi intradermal secretome hypoxia MSC (SH-MSC) di sekitar area luka	IL-10, TNF- α , PGE2, respon inflamasi	SH-MSC meningkatkan ekspresi IL-10 serta menekan TNF- α dan PGE2, sehingga menurunkan inflamasi dan mempercepat proses penyembuhan luka
14	Dirja et al., 2025 ²⁴	<i>MSC-Derived Secretome Accelerates Third-Degree Burn Wound Healing</i>	In vivo; tikus luka bakar derajat III	Injeksi intradermal secretome MSC (100–200 μ L)	Proliferasi, angiogenesis, fibrosis	Penyembuhan luka dipercepat dengan kontrol fibrosis

Sejumlah penelitian eksperimental sebelumnya telah mengeksplorasi penggunaan produk akellular berbasis mesenchymal stem cell (MSC) untuk perbaikan *barrier* kulit, namun dengan model, rute pemberian, dan *outcome* yang berbeda dari penelitian ini. Shin K.-O. (2020) menyuntikkan eksosom dari MSC jaringan lemak manusia secara subkutan pada tikus SKH-1 dengan lesi mirip dermatitis atopik akibat oksazolon, dan menemukan penurunan

transepidermal water loss (TEWL), peningkatan hidrasi stratum korneum, serta pemulihan sintesis ceramide dan struktur *lamellar bodies* sebagai indikator perbaikan fungsi *barrier* epidermis yang kering-inflamasi.¹¹

Kim S.-Y. (2022) menunjukkan bahwa pemberian sel MSC jaringan lemak anjing (cASC) maupun vesikel ekstraselulernya (cASC-EVs) pada mencit dengan dermatitis atopik yang diinduksi DNCB menekan inflamasi kulit, menurunkan pruritus, memodulasi jalur JAK/STAT, dan memulihkan protein diferensiasi epidermis sebagai komponen *barrier*, menegaskan bahwa komponen *secretome* MSC saja cukup untuk memperbaiki kerusakan *barrier*.¹³

Penelitian sebelumnya memperkuat temuan tersebut dengan menunjukkan bahwa vesikel ekstraseluler dari MSC turunan iPSC yang dipriming interferon- γ (IFN- γ -iMSC-EVs), ketika disuntikkan subkutan pada tikus NC/Nga dengan dermatitis atopik DNCB, tidak hanya menurunkan TEWL dan gatal serta menekan sitokin Th2 dan NF- κ B, tetapi juga meningkatkan kembali ekspresi protein *barrier* epidermis termasuk *filaggrin*, sehingga secara langsung mengaitkan terapi berbasis *secretome* MSC dengan normalisasi protein struktural kulit.¹⁴

Penelitian terdahulu melalui pendekatan topikal dengan *membrane-free stem cell extract* (MFSCE), yaitu fraksi *secretome* sel punca tanpa membran sel, pada tikus NC/Nga dengan dermatitis atopik, dan mendapatkan penurunan eritema, edema, kekeringan, pruritus, serta infiltrasi inflamasi kulit,

menunjukkan bahwa sediaan akellular MSC dapat memperbaiki lesi inflamasi kronik di kulit tanpa transplantasi sel.¹⁸

Penelitian terdahulu secara *in vitro* bahwa *extracellular vesicles* dari *human umbilical cord* MSC mampu menekan mediator inflamasi dan menormalkan profil molekuler keratinosit manusia terinflamasi, mendukung potensi *secretome* MSC dalam pemulihan lingkungan epitel tanpa kehadiran sel utuh.¹⁹

Yang paling mendekati rancangan studi, yang menunjukkan bahwa eksosom MSC yang dipre-kondisi hipoksia (dengan CoCl₂) memberikan perbaikan lesi kulit mirip dermatitis atopik akibat oksazolon secara lebih kuat dibanding eksosom MSC normoksia, sehingga hipoksia sebagai pre-conditioning meningkatkan potensi terapeutik *secretome* MSC.²⁵

Berbeda dari seluruh penelitian tersebut, studi saya akan menggunakan *secretome* MSC yang dipre-kondisi hipoksia (SH-MSCs) tetapi diberikan secara injeksi *intra*dermal terfokus, bukan topikal atau subkutan; model hewan yang digunakan adalah tikus Wistar dengan *Xerosis Like* yang diinduksi *Sodium Lauryl Sulfate* (bukan dermatitis atopik alergi); dan outcome utama yang dinilai adalah ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* sebagai dua protein struktural kunci stratum korneum pada kulit kering berat, sehingga menawarkan pendekatan baru yang secara spesifik menguji pemulihan *barrier* epidermis pada xerosis berat melalui modulasi langsung protein diferensiasi terminal epidermis.

Penelitian terdahulu mengevaluasi efek secretome hypoxia mesenchymal stem cells (SH-MSCs) dalam bentuk krim topikal pada model inflamasi kulit menyerupai psoriasis. Intervensi diberikan secara topikal dengan dosis berkisar 0,1–0,2 mL krim per aplikasi, diaplikasikan sekali hingga dua kali sehari selama periode intervensi.²⁰ Parameter utama yang dianalisis adalah ekspresi gen IL-6 sebagai indikator inflamasi kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian SH-MSCs topikal mampu menurunkan ekspresi IL-6 secara signifikan, menandakan efek antiinflamasi lokal. Berbeda dengan penelitian ini, penelitian tersebut tidak menggunakan model xerosis cutis, tidak mengklasifikasikan derajat keparahan xerosis, serta tidak menilai protein diferensiasi epidermis. Berbeda dengan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan model Xerosis Like yang diinduksi SLS, dengan pemberian SH-MSCs melalui injeksi intradermal pada dosis terkontrol, serta menilai ekspresi filaggrin dan loricerin sebagai indikator utama perbaikan barrier epidermis.

Penelitian lain meneliti peran hypoxic secretome dari mesenchymal stem cells dalam model penyembuhan luka eksperimental pada tikus, dengan intervensi diberikan secara lokal pada area luka menggunakan dosis sekitar 50–100 μ L secretome per titik luka, diberikan secara berulang selama fase penyembuhan. Parameter yang dievaluasi meliputi HIF-1 α , VEGF, dan proliferasi fibroblas sebagai penanda regenerasi jaringan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa SH-MSCs mampu meningkatkan angiogenesis dan mempercepat proses perbaikan jaringan.²² Model yang digunakan

merepresentasikan cedera jaringan akut, bukan gangguan fungsi barrier epidermis kronik seperti xerosis cutis. Berbeda dengan penelitian ini, penelitian tersebut tidak mengevaluasi ekspresi filaggrin dan loricrin. Penelitian ini berbeda karena menggunakan model xerosis cutis berat, dengan rute intradermal yang menargetkan lapisan dermis, serta fokus pada protein struktural epidermis yang berperan langsung dalam integritas barrier kulit.

Penelitian sebelumnya yang menggunakan model hewan xerosis cutis akibat induksi bahan iritan memberikan intervensi berupa sediaan topikal berbasis ekstrak tanaman dengan konsentrasi 5–10%, diaplikasikan satu kali sehari selama 7–14 hari. Parameter yang dianalisis meliputi perubahan histopatologi kulit, ekspresi sitokin inflamasi, serta faktor pertumbuhan seperti VEGF. Hasil penelitian menunjukkan adanya perbaikan kondisi kulit dan penurunan tanda inflamasi. Intervensi yang digunakan bersifat topikal non-biologis dan tidak mengevaluasi marker diferensiasi keratinosit.²⁶ Berbeda dengan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan terapi biologis berbasis SH-MSCs, diberikan melalui injeksi intradermal, serta secara spesifik menilai ekspresi filaggrin dan loricrin sebagai indikator pemulihan diferensiasi epidermis dan fungsi barrier kulit.

Salah satu penelitian terdahulu menggunakan model tikus Wistar dengan hiperpigmentasi kulit yang diinduksi sinar UVB untuk menilai efek secretome hypoxia mesenchymal stem cells (SH-MSCs). Intervensi diberikan dalam bentuk gel topikal SH-MSCs dengan dosis sekitar 0,1 mL dan 0,2 mL per area kulit per hari selama masa perlakuan. Parameter yang dianalisis

meliputi ekspresi mRNA SOD dan MMP-1 sebagai indikator stres oksidatif dan remodeling matriks kulit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian gel SH-MSCs mampu mengatur ekspresi SOD dan MMP-1 secara signifikan.¹⁷ Berbeda dengan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan model Xerosis Like yang diinduksi sodium lauryl sulfate (SLS), dengan pemberian secretome SH-MSCs melalui injeksi intradermal, serta menilai ekspresi filaggrin dan loricrin sebagai marker utama perbaikan fungsi barrier epidermis..



BAB II

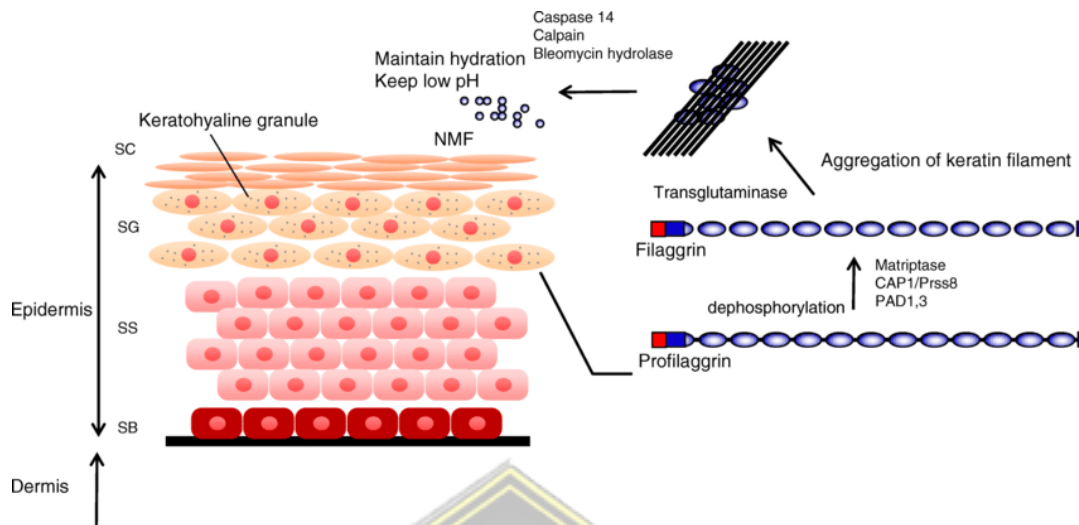
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Filaggrin* (FLG)

2.1.1. Definisi

Filaggrin (filament aggregating protein, FLG) merupakan protein struktural utama yang disintesis dalam bentuk prekursor besar, yaitu profilaggrin, di lapisan granular epidermis. Profilaggrin yang tersimpan dalam keratohyalin granules akan diproses secara proteolitik menjadi monomer filaggrin aktif ketika sel mengalami diferensiasi menuju stratum korneum. Protein ini berfungsi mengikat filamen keratin untuk membentuk matriks padat yang menjaga kekuatan mekanik kulit.²⁷

Filaggrin berfungsi untuk mengikat filamen keratin agar membentuk matriks padat yang memperkuat struktur mekanik kulit.²⁸ Filaggrin memiliki peran biokimia penting karena terdegradasi menjadi asam amino bebas, pyrrolidone carboxylic acid (PCA), dan *urocanic acid* (UCA). Ketiga senyawa tersebut menyusun komponen *natural moisturizing factor* (NMF) yang mempertahankan kelembapan, pH, dan elastisitas kulit (Gambar 2.1).²⁹



Gambar 2.1. Skema metabolisme *filaggrin* (FLG) yang menunjukkan proses penyimpanan, pemecahan, dan degradasinya menjadi *Natural Moisturizing Factors* (NMF) untuk menjaga hidrasi dan fungsi *barrier* kulit.²⁸

Ekspresi *filaggrin* dikendalikan oleh berbagai faktor, termasuk diferensiasi keratinosit, sitokin inflamasi (IL-4, IL-13, IL-17), serta paparan bahan iritan seperti sodium lauryl sulfate (SLS). Penelitian Matsumoto et al. (2021) menunjukkan bahwa paparan SLS menurunkan ekspresi *filaggrin* melalui peningkatan stres oksidatif dan gangguan diferensiasi epidermis.

Kekurangan *filaggrin* menyebabkan meningkatnya *transepidermal water loss* (TEWL), menurunkan Ekspresi NMF, dan menimbulkan kondisi kulit kering atau *xerosis cutis*. Pada model hewan yang diinduksi SLS, penurunan *filaggrin* menandakan kerusakan *skin barrier*.²⁸ Oleh karena itu, peningkatan ekspresi *filaggrin* setelah pemberian *secretome* hipoksia-MSC (SH-MSCs) menunjukkan pemulihan fungsi epidermis dan hidrasi kulit.³⁰

2.1.2. Struktur *Filaggrin*

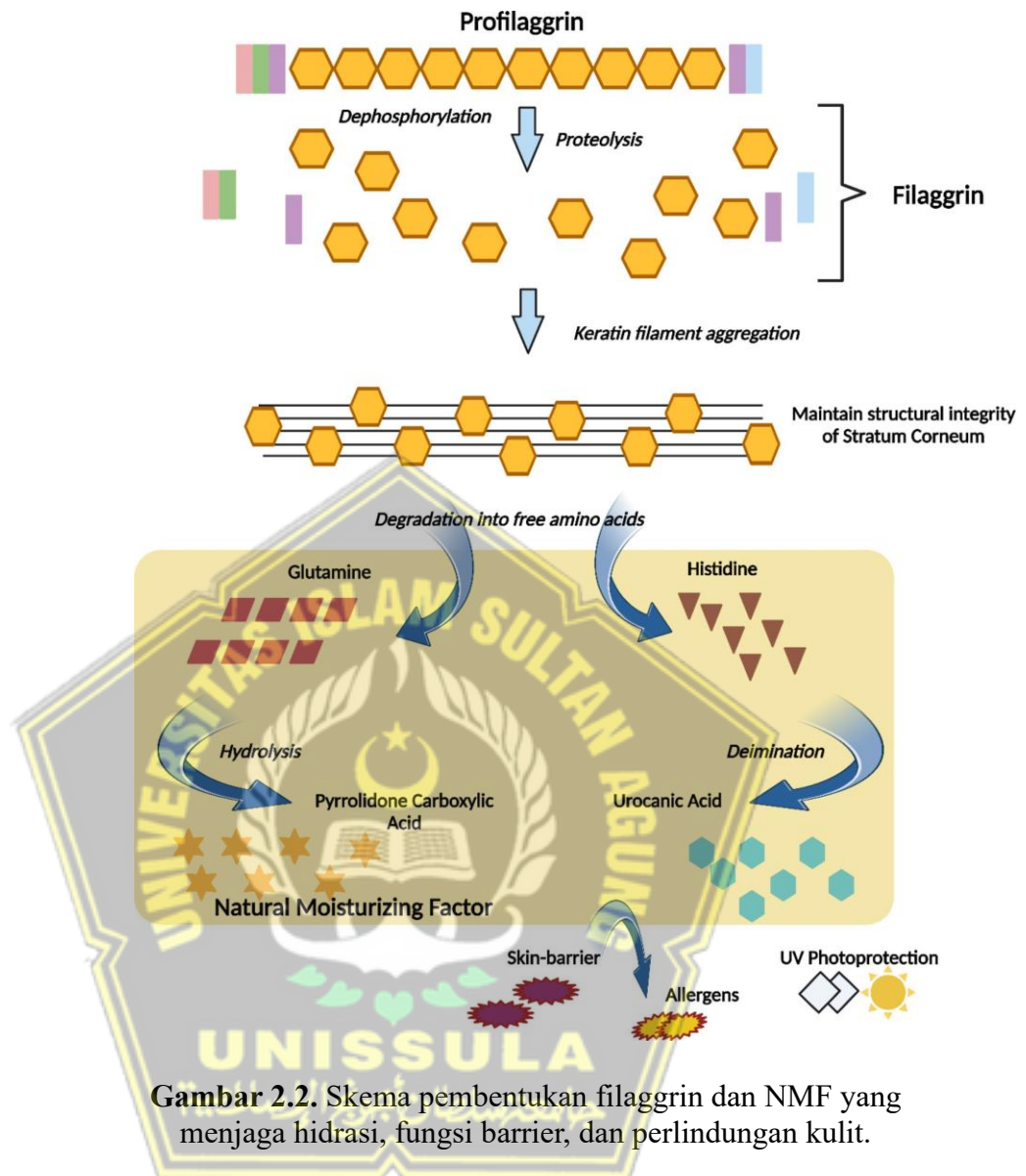
Filaggrin merupakan protein struktural utama yang berperan penting dalam pembentukan *skin barrier* epidermis. Protein ini dikode oleh gen FLG yang terletak pada kromosom 1q21, bagian dari epidermal differentiation complex (EDC). *Filaggrin* disintesis sebagai prekursor besar yang disebut profilaggrin, suatu protein fosforilasi berukuran sekitar 400 kDa yang disimpan di dalam keratohyalin granules pada lapisan stratum granulosum. Profilaggrin memiliki struktur kompleks yang terdiri atas satu domain N-terminal yang menyerupai protein S100 (berperan dalam pengikatan kalsium) dan diikuti oleh 10–12 domain pengulangan yang akan diproses menjadi *filaggrin* monomer (~37 kDa). Proses aktivasi ini terjadi selama diferensiasi terminal keratinosit, di mana profilaggrin didefosforilasi dan dipecah oleh enzim seperti SASPase dan calpain-1, menghasilkan *filaggrin* aktif yang akan berikatan dengan filamen keratin di dalam sitoskeleton keratinosit³⁰.

Filaggrin berperan dalam mengorganisasi filamen keratin menjadi struktur padat dan paralel, menghasilkan sel korneosit yang pipih, padat, dan saling menempel kuat, sehingga membentuk lapisan pelindung mekanik terhadap kehilangan air, gesekan, serta paparan iritan dari luar. Setelah proses keratinisasi selesai, *filaggrin* kemudian mengalami degradasi enzimatik oleh caspase-14, *bleomycin hydrolase*, dan *histidase*, menghasilkan komponen *Natural*

Moisturizing Factor (NMF) seperti asam amino bebas, *pyrrolidone carboxylic acid* (PCA), dan *urocanic acid* (UCA). NMF bersifat higroskopis dan berfungsi mempertahankan kelembapan, elastisitas, dan pH asam kulit.³⁰ Kekurangan atau mutasi pada gen FLG menyebabkan penurunan Ekspresi *filaggrin* dan NMF, meningkatkan kehilangan air transepidermal (TEWL), serta menimbulkan kulit kering (*xerosis*) dan gangguan pertahanan kulit seperti pada atopik dermatitis (AD).²⁸

2.1.3. Fungsi

Filaggrin (filament aggregating protein) merupakan protein struktural utama yang berperan penting dalam pembentukan *skin barrier* fisik pada lapisan epidermis. Protein ini awalnya disintesis dalam bentuk *profilaggrin* di granula keratohyalin pada lapisan *stratum granulosum*. Selama diferensiasi keratinosit menuju korneosit, *profilaggrin* dipotong oleh enzim spesifik menjadi *filaggrin* aktif. *Filaggrin* kemudian berikatan dengan filamen keratin di dalam sitoplasma keratinosit terminal, mengagregasi dan mengatur filamen tersebut menjadi berkas yang padat dan paralel. Proses ini mengubah sel menjadi korneosit yang pipih, saling menempel rapat, dan tersusun seperti “batu bata” pada *stratum corneum*. Struktur rapat ini berfungsi sebagai pelindung mekanik terhadap gesekan, paparan kimia ringan, mikroorganisme, dan iritan eksternal (Gambar 2.2).³⁰



Gambar 2.2. Skema pembentukan filaggrin dan NMF yang menjaga hidrasi, fungsi barrier, dan perlindungan kulit.

Barrier mekanik, *filaggrin* berperan dalam mempertahankan kelembapan kulit dan mencegah *transepidermal water loss* (TEWL). *Filaggrin* yang terdegradasi akan menghasilkan komponen *natural moisturizing factor* (NMF) seperti *pyrrolidone carboxylic acid* (PCA) dan *urocanic acid* (UCA). Molekul-molekul higroskopis ini berfungsi mempertahankan kandungan air pada *stratum corneum*, menjaga elastisitas kulit, dan mengurangi kekasaran permukaan. Defisiensi

filaggrin, baik karena mutasi genetik (*FLG loss-of-function*) maupun penurunan ekspresi akibat faktor lingkungan, akan menurunkan Ekspresi NMF sehingga menyebabkan peningkatan TEWL dan munculnya *xerosis* kondisi kulit kering, bersisik, dan pecah-pecah.²⁹

Produk degradasi *filaggrin* juga berperan dalam pengaturan pH kulit. UCA dan PCA membantu mempertahankan lingkungan kulit yang sedikit asam (pH 4,5–5,5), yang penting untuk aktivitas optimal enzim deskuamasi dan pertahanan antimikroba alami kulit. Bila Ekspresi NMF menurun akibat defisiensi *filaggrin*, pH kulit meningkat, menyebabkan gangguan pengelupasan (deskuamasi tidak merata) dan penurunan kemampuan kulit dalam melawan mikroba patogen. Akibatnya, kulit menjadi lebih mudah iritasi, meradang, dan mengalami kekeringan kronik³¹

2.1.4. Peran *Filaggrin* terhadap *Xerosis*

Filaggrin (FLG) merupakan protein struktural utama pada lapisan granular epidermis yang berperan penting dalam menjaga integritas dan hidrasi kulit. Selama proses diferensiasi keratinosit, profilaggrin dipecah menjadi *monomer filaggrin* yang kemudian terdegradasi menjadi *natural moisturizing factors* (NMF), seperti *pyrrolidone carboxylic acid* (PCA) dan *urocanic acid* (UCA). Komponen NMF ini berfungsi mempertahankan kelembapan kulit, menstabilkan pH asam kulit, serta mengurangi kehilangan air transepidermal (*transepidermal water loss*, TEWL). Defisiensi atau

mutasi gen FLG menyebabkan penurunan Ekspresi NMF, gangguan struktur *stratum corneum*, dan peningkatan TEWL, sehingga kulit menjadi kering, kasar, dan mudah iritasi kondisi yang dikenal sebagai *xerosis*²⁸.

Selain faktor genetik, penurunan ekspresi *filaggrin* juga dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti paparan surfaktan *sodium lauryl sulfate* (SLS), stres oksidatif, dan proses penuaan. Lain menunjukkan bahwa paparan SLS menurunkan ekspresi *filaggrin* melalui peningkatan stres oksidatif dan gangguan diferensiasi epidermis. Kondisi ini memperburuk *xerosis* dengan menurunkan kemampuan kulit mempertahankan kelembapan alami. Oleh karena itu, *filaggrin* dianggap sebagai komponen kunci dalam patogenesis *xerosis*, dan peningkatan ekspresi atau suplai NMF menjadi target penting dalam strategi terapi kulit kering.³¹

2.2. *Loricrin*

2.2.1. Definisi

Loricrin merupakan protein struktural utama yang dihasilkan oleh keratinosit pada tahap akhir diferensiasi epidermis. Protein ini merupakan komponen dominan dari *cornified cell envelope* (CE), yaitu lapisan protein padat yang terbentuk di sisi dalam membran plasma sel-sel stratum korneum. Secara genetik, *loricrin* dikode oleh gen LOR, yang terletak pada klaster *Epidermal Differentiation Complex* (EDC) di kromosom 1q21 daerah genom yang juga

mengandung gen penting lain seperti *filaggrin* dan *involucrin*.³² *Loricrin* merupakan protein paling melimpah dalam *cornified envelope*, dengan kontribusi sekitar 70–85 % dari total massa protein CE pada epidermis normal.³³

Karakteristik *loricrin* menjadi biomarker penting untuk proses terminal diferensiasi keratinosit. Dalam terminologi dermatologi molekuler, definisi *loricrin* diperluas menjadi indikator fisiologis dari maturasi epitel skuamosa, dan perubahan ekspresinya sering digunakan untuk menilai gangguan diferensiasi atau disfungsi *barrier* kulit pada berbagai kondisi patologis seperti dermatitis atopik, psoriasis, dan keratoderma herediter.³⁴

2.2.2. Struktur *Loricrin*

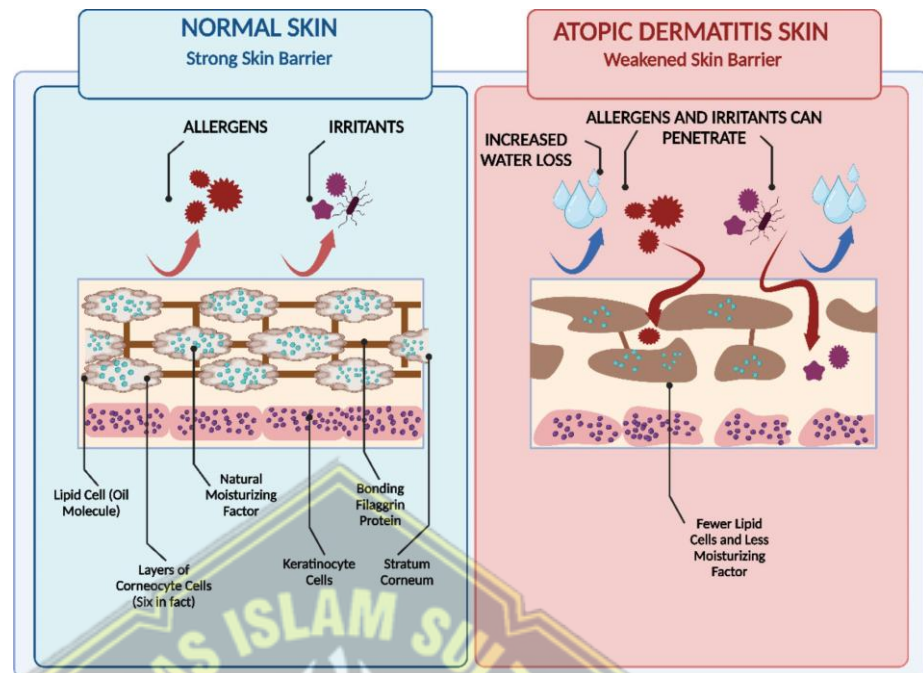
Loricrin merupakan protein struktural utama yang menyusun *cornified envelope* pada lapisan stratum korneum epidermis. Protein ini menyumbang sekitar 70–85% dari total massa protein pada envelope tersebut dan berfungsi sebagai komponen penting dalam mempertahankan kekuatan mekanik serta ketahanan kulit terhadap kehilangan air dan zat asing. Secara struktural, *Loricrin* adalah protein berukuran sekitar 25–30 kDa, kaya akan residu glisin, sistein, dan serin, yang memungkinkan terbentuknya banyak ikatan silang disulfida. Kandungan sistein yang tinggi berperan penting dalam pembentukan ikatan antarprotein seperti dengan *involucrin*,

envoplakin, dan *filaggrin*, membentuk lapisan pelindung yang kuat dan elastis di permukaan sel korneosit.³⁰

Loricrin disintesis di lapisan granular epidermis dan kemudian ditranslokasikan ke membran plasma untuk membentuk *cornified envelope* melalui proses enzimatik yang dimediasi oleh *transglutaminase-1* (TGase-1). Lapisan yang dihasilkan bersifat sangat tahan terhadap degradasi kimia dan fisik, menjadikannya komponen utama *skin barrier* terhadap gesekan, mikroorganisme, dan kehilangan air transepidermal (TEWL). Kekurangan ekspresi *Loricrin* dapat menyebabkan gangguan diferensiasi epidermal dan menurunkan integritas kulit, berkontribusi pada kondisi seperti *xerosis* dan dermatitis atopik.³¹

2.2.3. Fungsi *Loricrin*

Loricrin berfungsi sebagai komponen struktural utama pada *cornified envelope* (CE) yang memberikan kekuatan mekanik dan elastisitas pada lapisan kulit terluar. Protein ini membentuk ikatan silang dengan involucrin dan *small proline-rich proteins* (SPRRs) melalui enzim *transglutaminase-1* (TGase-1), sehingga menghasilkan struktur protein yang kuat, fleksibel, dan tahan terhadap stres mekanik maupun kimia.³⁵ *Loricrin* juga memperkuat dinding korneosit pada stratum korneum, sehingga kulit dapat mempertahankan fungsi pelindungnya terhadap tekanan fisik dan paparan zat lingkungan.³⁶



Gambar 2.3. Perbandingan kulit normal dan dermatitis atopik akibat defisiensi *filaggrin* yang melemahkan fungsi skin barrier

Loricrin membantu menjaga hidrasi dan stabilitas kulit melalui interaksinya dengan lipid epidermal. Bagian terminal loricrin yang kaya residu sistein berikatan dengan lipid polar di permukaan korneosit, sehingga membentuk lapisan hidrofobik yang mencegah kehilangan air berlebih atau *transepidermal water loss* (TEWL).³⁵ Protein ini mempertahankan kelembapan epidermis dan mendukung keseimbangan Ekspresi air kulit, terutama pada kondisi lingkungan yang kering atau bersuhu ekstrem. Dengan demikian, *loricrin* berperan penting dalam mempertahankan homeostasis kulit dan mencegah kekeringan akibat disfungsi sawar epidermis (Gambar 2.3).³²

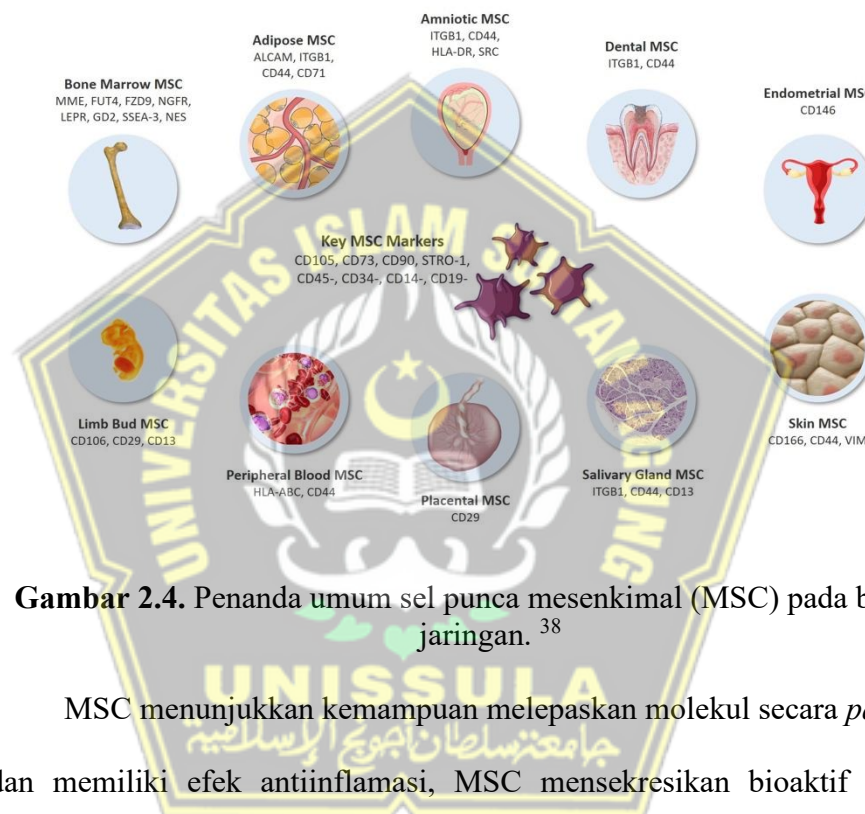
Loricrin turut berperan dalam mekanisme pertahanan imun kulit. Penurunan ekspresi *loricrin* menyebabkan peningkatan permeabilitas kulit, sehingga patogen, alergen, dan zat iritan lebih mudah menembus lapisan epidermis.³⁷ Kondisi ini memicu aktivasi sistem imun lokal dan inflamasi kronis, seperti pada dermatitis atopik dan *xerosis cutis*. Ekspresi *loricrin* diatur oleh jalur *Aryl Hydrocarbon Receptor* (AHR) dan dipengaruhi oleh sitokin proinflamasi seperti IL-4, IL-13, dan IL-22, yang dapat menurunkan diferensiasi epidermis.³⁶

2.3. *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (SH MSC)*

Mesenchymal Stem Cell (MSCs) merupakan jenis sel punca dewasa yang bersifat multipoten dan memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel mesenkimal, seperti osteoblas (sel tulang), kondrosit (sel tulang rawan), dan adiposit (sel lemak). Selain potensi diferensiasinya, MSCs juga dikenal karena kemampuan parakrin yang kuat, yaitu melepaskan berbagai faktor bioaktif yang disebut sebagai *Secretome* yang memainkan peran penting dalam regulasi imun, perbaikan jaringan, dan regenerasi seluler.³⁸

Mesenchymal stem cell (MSCs) didefinisikan sebagai *fibroblastlike-non-hematopoietic* sel. MSC memiliki harapan yang tinggi dalam pengobatan regeneratif, bukan hanya karena karakteristiknya yang bersifat *multipotent*, efek *immunomodulator*, tetapi juga memiliki sumber yang luas, biostabilitas ketika dikultur dan dikembangkan secara *in vitro*. Terapi berbasis sel telah dipelajari selama puluhan tahun, termasuk dalam pergantian kulit

(menghidupkan fibroblast dan keratinosit), menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam mempercepat penutupan luka, memperbaiki reepitelisasi, dan vaskularisasi pada luka, akan tetapi terapi tersebut mahal, potensi tumoregenik, infeksi dan risiko penolakan serta harus disimpan dalam kondisi spesifik sehingga sulit digunakan dalam komunitas



Gambar 2.4. Penanda umum sel punca mesenkimal (MSC) pada berbagai jaringan.³⁸

MSC menunjukkan kemampuan melepaskan molekul secara *paracrine* dan memiliki efek antiinflamasi, MSC mensekresikan bioaktif molekul exosome, protein, asam nukleat, sitokin, growth factor, membrane vesicle, yang disebut dengan *secretome*. *Secretome* MSC dianggap alternatif yang unggul, kaya akan sitokin dan growth factor, dapat mengirimkan sejumlah protein pada luka. *Secretome* MSC memiliki kemampuan memodulasi respon imun, merangsang angiogenesis, melindungi sel dari apoptosis, menarik sel endogen dari sistem sirkulasi ke luka ulkus diabetik, sebagai hasilnya membangkitkan sel residen dan merangsang jaringan endogen untuk sembuh.

MSCs dapat diisolasi dari berbagai jaringan tubuh, seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, tali pusat, membran amnion, dan pulpa gigi. Kriteria identifikasi MSCs yang diadopsi secara internasional mencakup kemampuan untuk melekat pada permukaan kultur plastik, ekspresi marker permukaan positif (CD73, CD90, CD105) dan negatif (CD45, CD34, CD14/CD11b, CD79a/CD19, dan HLA-DR), serta kemampuan diferensiasi *trilineage* dalam kondisi *in vitro* (Gambar 2.3).³⁸

Secretome adalah kumpulan faktor bioaktif yang disekresikan oleh berbagai jenis sel, termasuk MSCs, yang terdiri dari protein terlarut (seperti sitokin dan *growth factor*), lipid, RNA non-koding, serta vesikel ekstraseluler. *Secretome* mencerminkan status fisiologis dan lingkungan mikro dari sel asalnya, dan memainkan peran sentral dalam efek parakrin MSCs, terutama dalam konteks regenerasi jaringan dan modulasi respons imun. Tidak seperti pendekatan berbasis sel, terapi dengan *Secretome* menawarkan keuntungan seperti stabilitas, kemudahan penyimpanan, dan risiko yang lebih rendah terhadap imunogenisitas atau transformasi maligna.³⁹

Dalam beberapa tahun terakhir, *Secretome* dari MSCs yang dikondisikan dalam lingkungan hipoksia terbukti memiliki aktivitas biologis yang lebih unggul dibandingkan *Secretome* dari kultur normoksia. Kondisi hipoksia diketahui meningkatkan ekspresi dan sekresi molekul-molekul pro-regeneratif seperti VEGF, HGF, dan TGF- β , serta mediator antiinflamasi seperti IL-10. Selain itu, profil miRNA dan protein dalam *Secretome* juga mengalami pergeseran ke arah fenotipe penyembuhan dan anti-apoptotik.^{39,40}

2.3.1. Pengaruh Lingkungan Hipoksia terhadap MSCs dan Kandungan *Secretome*

Lingkungan hipoksia merupakan salah satu faktor mikro yang signifikan dalam mengubah karakteristik biologis MSCs dan meningkatkan potensi terapeutiknya.⁴¹ Pada kondisi fisiologis, jaringan yang rusak atau mengalami inflamasi kronik umumnya berada dalam keadaan hipoksia (Ekspresi O₂ rendah), sehingga mengondisikan MSCs dalam lingkungan hipoksia secara *in vitro* bertujuan untuk meniru situasi *in vivo* dan meningkatkan relevansi biologis *Secretome* yang dihasilkan.^{42,43}

Berbagai studi menunjukkan bahwa MSCs yang dikultur dalam kondisi hipoksia (biasanya pada Ekspresi O₂ 1–5%) mengalami peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan pro-regeneratif dan antiinflamasi, termasuk VEGF dan IL-10. Hipoksia menginduksi ekspresi *hypoxia-inducible factor-1 alpha* (HIF-1α), yang secara langsung mengatur transkripsi berbagai gen target termasuk VEGFA dan IL10.⁴⁴

Peningkatan ekspresi gen-gen tersebut menjelaskan peningkatan sekresi faktor pro-regeneratif dan antiinflamasi pada MSCs yang dikultur di bawah kondisi hipoksia. VEGF berperan penting dalam pembentukan pembuluh darah baru (*angiogenesis*), sementara IL-10 berfungsi sebagai mediator antiinflamasi yang menekan aktivasi makrofag pro-inflamasi dan mengurangi sitokin

proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6.⁴¹ Aktivasi HIF-1 α juga berhubungan dengan peningkatan metabolisme glikolisis MSCs, yang meningkatkan ketersediaan energi pada lingkungan oksigen rendah dan mendukung kelangsungan hidup sel.³⁷

Secretome MSC adalah kumpulan molekul bioaktif yang disekresikan oleh MSC, meliputi (*growth factors*), sitokin antiinflamasi, dan vesikel ekstraseluler. Kondisi hipoksia (umumnya 1–5% O₂) selama kultur MSC terbukti meningkatkan potensi biologis *secretome*, termasuk peningkatan produksi faktor pro-regeneratif dan pro-angiogenik seperti VEGF, HGF, KGF, serta sitokin antiinflamasi seperti IL-10. Faktor-faktor ini berperan penting dalam memperbaiki mikro lingkungan kulit yang rusak, mengurangi inflamasi, dan merangsang diferensiasi keratinosit.. Secara fungsional, *Secretome* dari MSC hipoksik mempercepat penyembuhan luka dengan meningkatkan re-epitelisasi, angiogenesis, migrasi sel, dan deposisi kolagen, serta menekan infiltrasi sel inflamasi.⁴⁵

2.4. Pengaruh *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (SH-MSCs) terhadap Ekspresi *Filaggrin* pada tikus jantan galur wistar model *Xerosis Like* yang diinduksi *SLS*

Penurunan ekspresi *filaggrin* tidak hanya disebabkan oleh mutasi gen FLG, tetapi juga oleh lingkungan inflamasi kronik di kulit. Sitokin tipe Th2 seperti IL-4 dan IL-13 mengaktivasi reseptor IL-4R dan jalur JAK/STAT (terutama STAT3 dan STAT6), yang kemudian menekan transkripsi gen

barier epidermis termasuk FLG. Hal ini berarti bahwa bahkan tanpa mutasi genetik, proses inflamasi itu sendiri sudah cukup untuk menurunkan filaggrin dan merusak fungsi sawar kulit.³⁷ *Filaggrin* dipakai sebagai penanda maturasi keratinosit terminal sekaligus indikator pemulihan sawar epidermis; peningkatan kembali ekspresi *filaggrin* dianggap sebagai tanda perbaikan barier pada terapi dermatitis atopik⁴⁶.

Mesenchymal stem cell (MSC) dari tali pusat manusia (*human umbilical cord* MSC, hUC-MSC) menunjukkan efek protektif yang jelas pada model dermatitis atopik hewan. Pemberian hUC-MSC secara subkutan pada model dermatitis atopik yang diinduksi DNCB atau OVA menurunkan eritema, kekeringan, penebalan epidermis, serta infiltrasi sel inflamasi, dan juga menurunkan Ekspresi IgE serum serta sitokin proinflamasi seperti IL-4 dan IL-6.⁴⁷ Yang sangat penting adalah bahwa hUC-MSC meningkatkan ekspresi keratin 1 (Krt1) dan filaggrin (FLG) pada kulit lesi, yang diinterpretasikan sebagai pemulihan fungsi sawar epidermis karena keratinosit dapat kembali berdiferensiasi menuju fenotipe korneosit matang.⁴⁸

Efek tersebut tidak hanya muncul saat sel MSC utuh diberikan, tetapi juga ketika hanya produk parakrinnya yang digunakan. Medium terkondisi MSC tali pusat (hUC-MSC conditioned medium) memperbaiki lesi kulit, menurunkan ketebalan epidermis, menurunkan infiltrasi inflamasi, memperbaiki hidrasi kulit melalui penurunan TEWL, dan menekan kemokin proinflamasi keratinosit seperti CCL5 dan CXCL11 (Kim, 2022; Quiñones-Vico, 2021). Eksosom yang diisolasi dari *secretome* MSC tali pusat juga

menekan jalur proinflamasi pada keratinosit, menurunkan kemokin inflamasi, dan menghambat fosforilasi STAT3, yaitu bagian dari lintasan JAK/STAT yang diketahui ikut menurunkan ekspresi *filaggrin* pada kulit atopik (Kim, 2022; Quiñones-Vico, 2021). Dengan demikian, *secretome* MSC dan eksosom MSC menurunkan sinyal inflamasi yang sebelumnya menekan FLG, sehingga secara tidak langsung mengizinkan *filaggrin* pulih (Kim, 2022).

Preconditioning hipoksia pada MSC menghasilkan *secretome* hypoxia MSCs (SH-MSCs), yaitu *secretome*/eksosom MSC yang diproduksi di bawah kondisi hipoksia biologis atau kimia. Kondisi hipoksia menstabilkan HIF-1 α dan memperkaya eksosom MSC dengan microRNA imunoregulator seperti miR-21-5p, miR-26a, miR-146a, dan miR-205-5p, yang menargetkan jalur inflamasi JAK/STAT sekaligus jalur regeneratif seperti PTEN/PI3K/AKT/mTOR.⁴⁸ Pada model dermatitis atopik kronik yang diinduksi oksazolon, eksosom MSC hipoksia menunjukkan efek terapi lebih kuat dibanding eksosom MSC normoksia: penebalan kulit penebalan telinga sebagai analog lesi) berkurang lebih besar, infiltrasi sel imun menurun, sitokin proinflamasi turun, dan *barrier* kulit tampak pulih secara histologis (Kim, 2024). Hal ini menunjukkan bahwa hipoksia tidak hanya meningkatkan jumlah eksosom MSC, tetapi juga meningkatkan kualitas muatannya sehingga menjadi lebih anti-inflamasi dan lebih pro-regeneratif.⁴⁹

Secara mekanistik, ada dua jalur utama yang menjelaskan bagaimana SH-MSCs meningkatkan ekspresi *filaggrin*. Jalur pertama adalah penekanan inflamasi yang sebelumnya menurunkan *filaggrin*: eksosom MSC, terutama

setelah hipoksia, menekan IL-4, IL-6, dan fosforilasi STAT3/STAT6, sehingga “melepas rem” terhadap transkripsi FLG.⁵⁰ Jalur kedua adalah pendorongan diferensiasi keratinosit terminal: *secretome* MSC dan eksosom MSC hipoksia mengaktifkan jalur regeneratif pro-survival seperti PI3K/AKT/mTOR, menormalkan penebalan epidermis, dan mendorong keratinosit kembali memasuki program cornification fisiologis; karena filaggrin diekspresikan pada fase akhir diferensiasi keratinosit, dukungan maturasi ini secara logis meningkatkan sintesis filaggrin sebagai bagian dari proses pembentukan stratum korneum yang utuh.⁵¹

SH-MSCs berpotensi tidak hanya meredakan inflamasi dermatitis atopik, tetapi juga memulihkan barier kulit melalui peningkatan ekspresi *filaggrin* sebagai penanda integritas epidermal.⁵²

2.5. Pengaruh *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (SH-MSCs) terhadap Ekspresi *Loricrin* pada tikus jantan galur wistar model *Xerosis Like* yang diinduksi *SLS*

Loricrin merupakan protein struktural utama dari *cornified cell envelope* (CCE), yaitu lapisan pelindung protein lipid yang menggantikan membran sel keratinosit pada tahap akhir diferensiasi epidermal. Lebih dari setengah massa CCE tersusun atas *loricrin* yang mengalami *cross-link* oleh enzim transglutaminase, sehingga terbentuk dinding mekanik yang kaku, tahan regangan, dan relatif kedap air. *Loricrin* berperan penting dalam kekuatan fisik stratum korneum, stabilitas sawar kulit, dan pencegahan kehilangan air berlebihan dari permukaan kulit. Rendahnya ekspresi *loricrin*

ditemukan pada berbagai kondisi inflamasi kulit kronik seperti dermatitis atopik, terutama pada area lesi aktif dengan hiperplasia epidermis, pruritus berat, dan peningkatan sitokin proinflamasi. Penurunan *loricrin* ini umumnya tidak hanya disebabkan oleh kerusakan fisik akibat garukan, tetapi juga merupakan akibat langsung dari modulasi imun, khususnya oleh sitokin tipe Th2 (IL-4 dan IL-13) serta sitokin lain seperti IL-22 dan IL-17A, yang diketahui menekan program diferensiasi terminal keratinosit dan menurunkan transkripsi gen LOR.³⁵

Secretome Mesenchymal Stem Cell (MSC) mengandung berbagai mediator terlarut dan vesikel ekstraseluler (termasuk eksosom) yang bersifat imunomodulator, anti-inflamasi, dan pro-regeneratif. Dalam model dermatitis atopik eksperimental, pemberian *secretome* atau eksosom MSC terbukti menurunkan ekspresi sitokin pro-inflamasi dan kemokin pruritus, menekan infiltrasi sel imun ke dermis, serta menormalkan kembali ketebalan epidermis. Perbaikan ini tidak hanya bersifat klinis (lesi tampak lebih tenang), tetapi juga molekuler: marker diferensiasi epidermis yang sebelumnya turun akibat inflamasi kronik – termasuk *loricrin*, *filaggrin*, *involucrin*, dan keratin matur seperti K1/K10 meningkat kembali setelah paparan produk parakrin MSC. Hal ini menunjukkan bahwa *secretome* MSC bukan hanya bekerja sebagai anti-inflamasi umum, tetapi juga mendorong pemulihan program diferensiasi keratinosit menuju fenotipe korneosit matang yang membentuk sawar kulit fungsional. Pemulihan *loricrin* dipandang penting karena *loricrin* adalah salah satu indikator bahwa cornified envelope terbentuk kembali

secara utuh, sehingga integritas mekanis dan ketahanan kulit terhadap iritan lingkungan dapat dipulihkan^{35,48}.

Preconditioning hipoksia pada MSC yang menghasilkan *secretome hypoxia* MSC atau SH-MSCs meningkatkan potensi biologis *secretome* tersebut. Kondisi hipoksia menstabilkan HIF-1 α dan mengubah profil sekresi MSC menjadi lebih kaya faktor sitoprotektif, *growth factor pro-regeneratif*, antioksidan, serta microRNA imunoregulator. SH-MSCs umumnya menunjukkan efek anti-inflamasi yang lebih kuat dibanding MSC normoksia, termasuk penekanan jalur sinyal tipe Th2/JAK-STAT yang diketahui menekan ekspresi *loricrin*.⁵³ Pada saat tekanan inflamasi berkurang, keratinosit epidermis dapat kembali memasuki jalur diferensiasi terminal normal, sehingga ekspresi *loricrin* meningkat bersama protein struktural barier lainnya. SH-MSCs tidak secara langsung “menggantikan” *loricrin*, melainkan menciptakan lingkungan mikro kulit yang kondusif untuk maturasi korneosit: inflamasi ditekan, stres oksidatif berkurang, dan sinyal diferensiasi epidermal (jalur ERK/AKT dan program *cornification terminal*) dipulihkan. Peningkatan kembali *loricrin* melalui mekanisme ini penting secara klinis karena *loricrin* bukan hanya penanda histologis diferensiasi, tetapi juga tulang punggung kekuatan fisik stratum korneum dan ketahanan sawar kulit terhadap kehilangan air transepidermal berlebih.⁵¹

2.6. *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS)

2.6.1. Definisi *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS)

Sodium lauryl sulfate (SLS) merupakan surfaktan anionik yang banyak digunakan dalam berbagai produk pembersih, deterjen, serta sediaan kosmetik dan farmasi karena sifatnya yang efektif dalam menurunkan tegangan permukaan dan melarutkan lipid. Secara kimia, SLS adalah garam natrium dari asam lauril sulfat yang memiliki struktur amfifilik, sehingga mampu berinteraksi dengan komponen lipid dan protein pada permukaan kulit. Dalam bidang dermatologi, SLS dikenal sebagai salah satu agen iritan standar yang paling sering digunakan dalam penelitian eksperimental untuk mengevaluasi gangguan fungsi barrier kulit dan respon inflamasi epidermis secara terkontrol dan reproducible.⁵⁴

Dalam bidang dermatologi eksperimental, SLS dikenal sebagai agen iritan standar yang sering digunakan untuk mempelajari gangguan fungsi barrier kulit. Penggunaan SLS dalam penelitian memberikan keuntungan berupa efek yang konsisten dan mudah direproduksi, sehingga sering dimanfaatkan untuk menginduksi kondisi kulit kering, iritasi, dan inflamasi ringan hingga sedang. Oleh karena itu, SLS menjadi salah satu bahan utama dalam studi yang mengevaluasi patofisiologi xerosis cutis dan efektivitas intervensi terapeutik terhadap gangguan barrier epidermis.⁵⁵

2.6.2. Mekanisme Kerja SLS terhadap kulit

Paparan SLS terhadap kulit menyebabkan gangguan struktur stratum korneum terutama melalui mekanisme pelarutan lipid

interselular, termasuk ceramide, kolesterol, dan asam lemak bebas. Komponen lipid tersebut berperan penting dalam menjaga integritas barrier epidermis dan mencegah kehilangan air berlebih. Kerusakan lipid akibat SLS mengakibatkan peningkatan permeabilitas kulit dan peningkatan transepidermal water loss (TEWL), yang merupakan indikator utama disfungsi barrier kulit.

Selain merusak lipid epidermis, SLS juga diketahui dapat berinteraksi dengan protein epidermis dan menyebabkan denaturasi protein serta gangguan diferensiasi keratinosit. Paparan SLS berulang dapat memicu aktivasi mediator inflamasi dan memperburuk kerusakan barrier kulit. Kondisi ini menyebabkan kulit menjadi lebih rentan terhadap iritasi, inflamasi, dan kehilangan cairan, yang secara klinis tampak sebagai kulit kering, kasar, dan bersisik.⁵⁶

2.6.3. Peran SLS dalam Induksi *Xerosis Cutis*

Dalam penelitian eksperimental, SLS banyak digunakan sebagai agen untuk menginduksi *xerosis cutis* karena mampu menimbulkan gambaran klinis dan histopatologis yang menyerupai kondisi kulit kering kronik pada manusia. Aplikasi topikal SLS secara berulang dengan konsentrasi tertentu, umumnya berkisar antara 5–10%, telah terbukti menyebabkan penurunan hidrasi stratum korneum, peningkatan TEWL, serta perubahan struktur epidermis seperti hiperkeratosis dan penipisan lipid epidermis.^{55,57}

2.6.4. Pengaruh SLS terhadap Protein Diferensiasi Epidermis

Paparan SLS tidak hanya berdampak pada lipid epidermis, tetapi juga memengaruhi proses diferensiasi keratinosit melalui perubahan ekspresi protein struktural epidermis, seperti filaggrin dan loricrin. Filaggrin berperan dalam agregasi filamen keratin serta pembentukan natural moisturizing factor (NMF), sedangkan loricrin merupakan komponen utama cornified envelope yang berfungsi menjaga kekuatan mekanik dan ketahanan barrier epidermis.^{34,56}

Penurunan ekspresi filaggrin dan loricrin akibat induksi SLS menyebabkan gangguan pembentukan barrier epidermis yang optimal, sehingga meningkatkan kehilangan air transepidermal dan memperparah kondisi xerosis cutis. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa gangguan ekspresi protein diferensiasi ini merupakan salah satu mekanisme kunci terjadinya kulit kering kronik dan memperburuk keparahan xerosis cutis, khususnya pada kondisi paparan iritan yang berulang.⁵⁸

2.7. *Xerosis cutis*

Xerosis cutis adalah kondisi dermatologis yang ditandai oleh kulit kering, kasar, bersisik, dan sering disertai dengan rasa gatal, perih, atau ketidaknyamanan.⁵⁹ Istilah "*xerosis*" berasal dari bahasa Yunani *xeros* yang berarti "kering", sedangkan *cutis* merujuk pada kulit. *Xerosis* merupakan manifestasi klinis dari gangguan hidrasi di lapisan stratum korneum, bagian

paling superfisial dari epidermis, yang memainkan peran penting dalam mempertahankan kelembaban kulit dan fungsi *barrier*.⁶⁰

Secara histopatologis, xerosis berhubungan dengan penurunan Ekspresi air dan lipid epidermal, disorganisasi struktur korneosit, serta peningkatan TEWL. Meskipun *xerosis* dapat bersifat sementara dan ringan, pada kasus kronis atau berat, kondisi ini dapat menyebabkan fisura, inflamasi lokal, bahkan infeksi sekunder. *Xerosis* bukan hanya keluhan kosmetik, tetapi merupakan indikator penting dari disfungsi fisiologis kulit, dan sering ditemukan pada berbagai kondisi seperti penuaan, dermatitis atopik, insufisiensi vaskular, diabetes mellitus, dan efek samping terapi sistemik tertentu.⁶¹

2.7.1. Epidemiologi

Xerosis cutis merupakan kondisi yang sangat umum dijumpai dalam praktik klinik, terutama pada populasi usia lanjut. Prevalensi *xerosis* meningkat secara signifikan seiring bertambahnya usia, dengan angka kejadian mencapai lebih dari 50% pada individu di atas 65 tahun.⁵⁹ Selain lansia, xerosis juga sering ditemukan pada pasien dengan dermatitis atopik, penyakit metabolik (seperti diabetes mellitus), insufisiensi vena kronik, malnutrisi, serta mereka yang menjalani terapi imunosupresif atau kemoterapi.⁶⁰

Studi populasi di Eropa menunjukkan bahwa *xerosis cutis* dialami oleh sekitar 25-30% orang dewasa sehat, dengan proporsi yang lebih tinggi pada musim dingin dan di negara-negara beriklim

sedang hingga dingin.⁶² Di Indonesia, data epidemiologi spesifik masih terbatas, namun laporan dari klinik rawat jalan kulit dan kelamin memperkirakan bahwa *xerosis* menyertai 63,78% kasus kulit yang tidak spesifik pada pasien geriatri.⁶³

2.7.2. Faktor Risiko

Xerosis cutis dapat terjadi pada siapa saja, namun prevalensinya lebih tinggi pada individu dengan kondisi fisiologis, patologis, atau lingkungan tertentu yang mengganggu fungsi sawar kulit dan keseimbangan hidrasi epidermis. Beberapa faktor risiko utama yang telah teridentifikasi meliputi:⁶⁰

1. Usia lanjut (geriatri):

Penuaan kulit secara fisiologis disertai dengan penurunan sintesis lipid epidermal, berkurangnya NMF, dan penurunan fungsi kelenjar sebaceous dan *sweat glands*, sehingga mengakibatkan kulit lebih rentan terhadap dehidrasi dan kerusakan sawar kulit.

2. Kondisi lingkungan

Iklim dingin, kering, berangin, atau perubahan suhu ekstrem dapat meningkatkan TEWL. Paparan air berlebih, mandi dengan air panas, atau penggunaan sabun keras juga memperparah *xerosis*.

3. Penyakit sistemik

Kondisi seperti diabetes mellitus, insufisiensi ginjal kronik, hipotiroidisme, dan malnutrisi diketahui berkontribusi terhadap *xerosis* melalui gangguan metabolik dan mikrosirkulasi kulit.

4. Dermatosis kronik

Penderita dermatitis atopik, psoriasis, ichthyosis, dan kulit sensitive memiliki predisposisi genetik terhadap gangguan sawar kulit yang menetap, sehingga *xerosis* merupakan manifestasi klinis yang sering dijumpai.

5. Terapi farmakologis

Obat-obatan seperti diuretik, retinoid oral/topikal, antihistamin, dan kemoterapi dapat menyebabkan atau memperburuk kekeringan kulit melalui efek sistemik atau lokal terhadap metabolisme kulit.

6. Kondisi okupasional dan gaya hidup

Profesi dengan paparan air, detergen, atau bahan kimia secara berulang (tenaga medis, petugas kebersihan, pekerja industri) memiliki risiko lebih tinggi mengalami *xerosis* akibat iritasi berulang dan kerusakan sawar kulit.

Populasi yang paling rentan terhadap *xerosis* antara lain lansia, pasien penyakit kronik, neonatus, penderita penyakit kulit inflamasi, serta individu dengan kebersihan ekstrem (*over-cleansing*). Kombinasi faktor-faktor tersebut dapat mempercepat terjadinya disfungsi struktur epidermis, inflamasi kronik ringan, dan gangguan

kualitas hidup, yang menjadikan xerosis sebagai entitas klinis yang penting untuk dikenali dan ditangani secara holistik.⁶³

2.7.3. Patofisiologi

Kulit merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia dan berperan sebagai protektif utama terhadap lingkungan eksternal. Epidermis merupakan lapisan paling superfisial yang terdiri atas beberapa sublapisan, yaitu *stratum basale*, *spinosum*, *granulosum*, *lucidum* (pada telapak tangan dan kaki), dan *stratum corneum* sebagai lapisan terluar (Gambar 2.4).⁶⁴



Gambar 2.5. Anatomi Kulit. ⁶⁴

Di bawah epidermis terdapat dermis, yang terbagi menjadi dua lapisan: *stratum papillare* (superfisial) dan *stratum retikulare* (dalam). Dermis tersusun dari jaringan ikat longgar hingga padat, mengandung

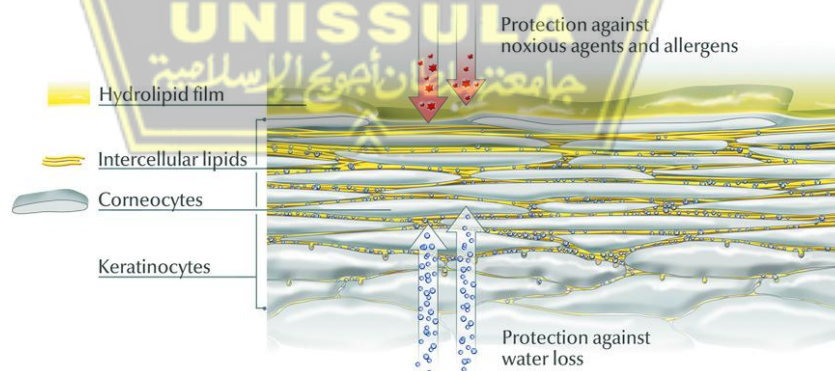
fibroblas sebagai produsen utama kolagen tipe I dan III, elastin, dan fibrillin, yang memberikan kekuatan mekanik dan elastisitas pada kulit. Dermis juga menjadi tempat jaringan vaskular, saraf, serta populasi sel imun dermal seperti makrofag, mast cells, sel T, dan sel dendritik.⁶⁰

Lapisan terdalam adalah hipodermis atau jaringan subkutis, yang didominasi oleh jaringan adiposa. Hipodermis berperan sebagai bantalan mekanis, tempat penyimpanan energi, serta memiliki fungsi isolasi termal. Sel adiposa, MSCs, dan beberapa jenis sel imun seperti limfosit dan makrofag juga ditemukan dalam lapisan ini. Dalam konteks regenerasi kulit, hipodermis dianggap sebagai sumber sel progenitor dan faktor pertumbuhan.⁶⁵

Lapisan epidermis, khususnya stratum korneum (SC), bertanggung jawab terhadap fungsi penghalang kulit yang menjaga hidrasi jaringan, mencegah TEWL, serta melindungi tubuh dari mikroorganisme patogen dan zat iritan.⁶³ Stratum korneum tersusun atas korneosit (sel kulit mati tanpa inti) yang tertanam dalam matriks lipid interseluler, membentuk struktur "*brick and mortar*", yaitu bata (korneosit) dan semen (lipid). Keseimbangan hidrasi stratum korneum dijaga oleh beberapa komponen penting, antara lain: *Natural Moisturizing Factor* (NMF): produk degradasi filaggrin yang terdiri atas urea, asam amino, asam laktat, dan PCA (*pyrrolidone carboxylic acid*), yang membantu menarik dan menahan air. Lipid epidermal:

terdiri dari *ceramide*, kolesterol, dan asam lemak bebas, yang berfungsi sebagai penghalang untuk mencegah kehilangan air. Keratinosit dan protein struktural: seperti *filaggrin*, *involucrin*, dan *loricrin*, yang mendukung stabilitas struktural kulit dan diferensiasi sel epidermal.⁶¹

Secara fisiologis, kulit yang sehat memiliki tingkat hidrasi SC antara 10–20%, yang penting untuk mempertahankan elastisitas, keutuhan jaringan, dan fungsi imun lokal. Ekspresi air ini dipengaruhi oleh kelembapan lingkungan, usia, nutrisi, serta integritas *barrier*. Ketika komponen-komponen tersebut terganggu, maka Ekspresi air di stratum korneum akan menurun, menyebabkan disfungsi sawar kulit, dan membuka jalur bagi perkembangan kondisi seperti *xerosis cutis* (Gambar 2.6).⁶⁶



Gambar 2.6. Struktur *Skin Barrier*.⁶⁶

Patofisiologi *xerosis cutis* berakar pada disfungsi *barrier* epidermis, khususnya di lapisan stratum korneum, yang menyebabkan penurunan hidrasi kulit, peningkatan TEWL, dan sering kali disertai

dengan inflamasi subklinis. Dalam keadaan normal, stratum korneum mempertahankan hidrasi melalui kombinasi NMF, lipid interselular, serta protein struktural seperti *filaggrin*, *loricrin*, dan *involucrin*. Pada *xerosis*, integritas struktur ini terganggu sehingga Ekspresi air kulit menurun drastis (<10%), dan kulit kehilangan kemampuan menahan kelembaban serta mempertahankan keseimbangan osmotik.⁶⁷

Kerusakan *barrier* kulit dapat dipicu oleh berbagai faktor, seperti penuaan, penggunaan surfaktan berlebih (sabun keras), paparan cuaca dingin dan kering, serta penyakit sistemik. Pada lansia, terjadi penurunan sintesis lipid epidermal, disorganisasi struktur korneosit, dan berkurangnya ekspresi *filaggrin*, yang semuanya menyebabkan struktur "*brick and mortar*" menjadi rapuh, sehingga TEWL meningkat. Kelembapan yang hilang ini akan memicu aktivasi reseptor osmosensitif dan inflamasi lokal, seperti TLR (*Toll-like receptors*), yang menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi seperti IL-1 α , IL-6, dan TNF- α (3,4).⁴⁶

2.7.4. Manifestasi Klinis

Secara klinis, *xerosis cutis* ditandai oleh permukaan kulit yang kering, kasar, bersisik (deskuamasi halus hingga plak tebal), dan sering disertai dengan rasa gatal, rasa tertarik, hingga fisura yang menyakitkan. Lokasi yang paling sering terkena meliputi tungkai bawah, punggung tangan, lengan, dan area ekstensor lainnya, meskipun pada kasus berat dapat meluas hingga seluruh tubuh.

Beberapa tanda khas *xerosis cutis* meliputi kulit kusam tanpa kilau, deskuamasi halus seperti serpihan atau sisik, retakan linear atau fisura terutama di area tekanan atau lipatan, eritema ringan, yang dapat berkembang menjadi ekskoriasi akibat garukan, pruritus yang dapat mengganggu tidur dan kualitas hidup, terutama pada lansia. Untuk keperluan klinis, derajat keparahan xerosis biasanya diklasifikasikan menjadi 4 derajat yaitu:⁶⁰

Tabel 2.1. Derajat Keparahannya Xerosis. ⁶⁰

Klasifikasi	Tanda dan Gejala
Derajat I (<i>Xerosis</i> ringan)	Kulit tampak bersih (tidak ada gejala kering) Kulit kasar dan/atau bersisik (+) Gatal ringan atau tidak ada gatal (- atau +) Tidak nyeri (-) Eritema tidak ada atau minimal (- atau +) Tidak ada fisura (-)
Derajat II (<i>Xerosis</i> sedang)	Kulit kasar dan bersisik sedang (++) Gatal ringan hingga sedang (+ atau ++) Nyeri ringan hingga sedang (+ atau ++) Eritema sedang (++) Mungkin terdapat fisura (- atau +)
Derajat III (<i>Xerosis</i> Berat)	Kulit sangat kasar dan bersisik (+++) Gatal berat (+++) Nyeri berat (+++) Setidaknya terdapat eritema sedang (++) Mungkin terdapat fisura (- atau + atau +++)

Xerosi-meter[®]

Body surface area affected (in %)

Values in parentheses for children < 2 years

Site

Special site

☐ Scalp

☐ Lips

☐ Eyelid ☐ R/□L

☐ Genital region

☐ _____

☐ _____

_____ % body surface area

Objective signs (physician's assessment)

	0 (none)	1 (mild)	2 (moderate)	3 (severe)	4 (very severe)
Scaling					
Fissures/rhagades					
Erythema					

Subjective symptoms (patient's assessment)

0 = none

10 = most severe pruritus conceivable

Pruritus

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Body surface area (BSA) affected and quantity calculation for skin care

BSA	≤ 10%	11–30%	31–50%	> 50%
Please check	☐	☐	☐	☐
Fingertip units (FTUs) per application	1–5 FTUs	6–15 FTUs	16–25 FTUs	> 26 FTUs
Estimated monthly demand (once-daily application)	15–100g	100–250g	250–400g	> 500g

Gambar 2.7. Xerosi-meter.⁶⁸

Xerosi-meter sebuah alat penilaian klinis terstandarisasi yang digunakan untuk memonitor keparahan *xerosis cutis* secara objektif dan subjektif. Penilaian ini terbagi menjadi tiga komponen utama: (1)

luas permukaan tubuh yang terkena (*Body Surface Area/BSA*), (2) tanda objektif berdasarkan observasi klinisi, dan (3) gejala subjektif yang dilaporkan pasien, khususnya rasa gatal (*pruritus*) yang sesuai pada (gambar 2.7.)⁶⁸

2.8. Model Hewan *Xerosis*

Penelitian *in vivo* untuk memahami patofisiologi *xerosis* serta mengevaluasi efektivitas terapi baru membutuhkan model eksperimental yang andal dan menyerupai kondisi manusia. Salah satu pendekatan paling umum adalah penggunaan model tikus galur wistar (*Rattus norvegicus*) untuk induksi *xerosis cutis* secara terkendali dan terukur.⁶⁹ Model ini juga memfasilitasi evaluasi parameter fisiologis dan molekuler, termasuk transepidermal water loss (TEWL), hidrasi stratum korneum, perubahan profil lipid epidermal, serta ekspresi protein sawar kulit seperti filaggrin dan loricrin yang menjadi penanda utama integritas skin barrier.⁷⁰

Penelitian *in vivo* sangat penting untuk memahami mekanisme patofisiologi *xerosis cutis* serta mengevaluasi efektivitas berbagai intervensi terapeutik baru. Untuk memperoleh model eksperimental yang translasional dan relevan dengan manusia, diperlukan hewan uji yang memungkinkan perlakuan terkendali dan pengukuran kuantitatif. Salah satu pendekatan yang paling banyak diterapkan adalah penggunaan model tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) untuk induksi *xerosis cutis* secara terukur dan terkendali.⁷¹

Tikus Wistar dipilih sebagai hewan uji karena memiliki struktur kulit yang secara histologis cukup menyerupai kulit manusia yaitu keberadaan lapisan stratum korneum, epidermis, dan dermis walau terdapat perbedaan seperti ketebalan epidermis, distribusi folikel rambut, dan kelenjar sebacea.⁷¹ Tikus Wistar mudah diperoleh, pemeliharaannya relatif sederhana, cepat berkembang biak, dan tersedia galur standar yang secara fisiologis stabil, sehingga memungkinkan pelaksanaan eksperimen dengan variasi yang terkontrol.

Model tikus Wistar memungkinkan induksi lokal kondisi xerosis pada area spesifik punggung dorsal), pengukuran kuantitatif parameter fisiologis dan molekuler (seperti TEWL, hidrasi stratum korneum, analisis lipid epidermal, ekspresi protein sawar kulit) serta intervensi topikal yang menyerupai aplikasi klinis pada manusia. Dengan demikian, model ini memberikan platform yang cocok untuk menguji apakah terapi krim, ekstrak, atau *secretome*) dapat memperbaiki fungsi barrier kulit dan hidrasi.⁶⁹

Dalam pengembangan model xerosis cutis eksperimental, metode yang umum digunakan meliputi:

1. Perlakuan topikal menggunakan pelarut organik, seperti campuran aseton eter air (*Acetone Ether Water*, AEW). Mekanisme induksi melalui pelarutan lipid interselular di stratum korneum, menyebabkan disfungsi sawar kulit, peningkatan TEWL, penurunan Ekspresi air epidermis, dan aktivasi inflamasi ringan.

2. Defisiensi nutrisi, misalnya diet rendah asam linoleat dan asam arakidonat selama 2–4 minggu, yang menyebabkan penurunan sintesis lipid epidermal, disfungsi sawar kulit, dan penurunan NMF (*Natural Moisturizing Factor*) metode ini sebagian diterapkan dalam model kekeringan kronik.
3. Eksposur lingkungan ekstrem: suhu rendah (10–15 °C), kelembapan rendah (< 20 %), dan ventilasi berlebih telah terbukti mempercepat penurunan Ekspresi air kulit dan menginduksi respon inflamasi subklinis metode ini cocok untuk menciptakan kondisi xerosis ringan hingga sedang.
4. Induksi menggunakan surfaktan anionik (SLS/SDS), misalnya sodium lauryl sulfate (SLS) atau sodium dodecyl sulfate (SDS), yang banyak digunakan untuk menghasilkan barrier disruption secara cepat dan terstandardisasi. Paparan SLS/SDS secara berulang dapat meningkatkan TEWL dan menurunkan hidrasi stratum korneum disertai tanda klinis kulit kering seperti skuama dan eritema, sehingga menjadi pendekatan yang relevan untuk membentuk fenotipe xerosis yang terukur.

Secara biologis, SLS/SDS bekerja terutama dengan mengganggu organisasi lipid stratum korneum serta memicu respons iritan/inflamasi. Pada model SDS-induced dryness, perubahan klinis berupa kekeringan dan deskuamasi disertai perubahan mediator inflamasi, peningkatan IL-1 α dan aktivasi jalur COX-2/PGE2), hiperplasia epidermis, dan penurunan fungsi sawar yang tercermin dari peningkatan TEWL.⁷²

Pada konteks translasi, karakterisasi model kulit rusak akibat iritan pada manusia menunjukkan bahwa perlakuan surfaktan juga berkaitan dengan perubahan indikator barrier dan marker diferensiasi epidermis, termasuk penurunan ekspresi protein barrier seperti filaggrin dan loricrin, sehingga mendukung penggunaan luaran molekuler tersebut pada penelitian xerosis.⁷⁰

Selain memengaruhi fungsi sawar, paparan SLS dapat mengubah kondisi permukaan kulit. Studi pada manusia menunjukkan bahwa SLS menurunkan hidrasi stratum korneum dan memperburuk parameter barrier, serta dapat menggeser komposisi mikrobiota kulit menuju disbiosis; hal ini penting karena disbiosis dapat memperkuat kerentanan kulit terhadap iritasi lanjutan.⁷³

Pada model hewan, kulit yang diiritasi SLS juga dilaporkan lebih rentan mengalami kerusakan epidermis dan invasi bakteri, yang memperberat derajat dermatitis/kerusakan kulit pada kondisi barrier terganggu.⁷⁴

Efek klinis dan fisiologis model tersebut dapat diamati melalui perubahan makroskopik seperti kulit kasar, deskuamasi, fisura superfisial, serta melalui pengukuran kuantitatif seperti hidrasi SC (corneometer), TEWL (tewameter), dan konfirmasi histopatologi (H&E) yang menunjukkan penebalan epidermis, perubahan korneosit, penurunan lipid antarsel, dan infiltrasi sel inflamasi.⁵⁶

Pada model surfaktan (SLS/SDS), derajat kekeringan dapat dilengkapi dengan clinical scoring yang digunakan pada model SDS-induced dry skin, sehingga memastikan derajat xerosis terbentuk sebelum intervensi.⁷² Sebagai

contoh, penelitian pada tikus Wistar yang diekspos UVB menunjukkan TEWL meningkat dari $\sim 7,55 \text{ g/m}^2/\text{h}$ ke $\sim 17,53 \text{ g/m}^2/\text{h}$ dan kerap kali disertai penurunan densitas kolagen dermis.

2.9. Peran SH-MSC terhadap ekspresi *Loricrin* Dan *Filaggrin* pada tikus jantan galur wistar model *Xerosis Like* yang diinduksi SLS

Xerosis cutis derajat 3 ditandai oleh kekeringan kulit berat, deskuamasi kasar, fisura superfisial, serta peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL) yang signifikan akibat gangguan sawar epidermis. Kondisi ini berhubungan erat dengan penurunan ekspresi dua protein struktural utama kulit, yaitu *filaggrin* dan *loricrin*.^{27,36} *Filaggrin* berfungsi mengagregasi filamen keratin dan menghasilkan komponen *Natural Moisturizing Factor* (NMF), sedangkan *loricrin* membentuk *cornified cell envelope* (CE) yang memberikan kekuatan mekanik, elastisitas, dan ketahanan terhadap kehilangan air berlebih. Pada *xerosis cutis* derajat 3, Ekspresi kedua protein ini menurun secara bermakna sehingga struktur “*brick-and-mortar*” kulit menjadi rapuh dan mudah mengalami retakan.⁶⁰

Penurunan *filaggrin* dan *loricrin* pada *xerosis* derajat berat disebabkan oleh kombinasi stres oksidatif, peradangan kronik, serta paparan faktor lingkungan yang merangsang pelepasan sitokin IL-4, IL-13, dan IL-22.³⁷ Sitokin-sitokin tersebut mengaktivasi lintasan JAK/STAT6 yang menekan transkripsi gen FLG dan LOR, menghambat diferensiasi terminal keratinosit. Proses keratinisasi tidak sempurna, kulit kehilangan kemampuan mempertahankan hidrasi, dan Ekspresi NMF menurun. TEWL semakin

menurun dan menimbulkan gejala klinis berupa kulit kering, pecah-pecah, dan gatal hebat yang khas pada xerosis cutis derajat 3.^{60,68}

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (SH-MSCs) memiliki potensi tinggi untuk memperbaiki disfungsi sawar kulit tersebut melalui efek imunomodulator dan regeneratif. Dalam kondisi hipoksia (1–5 % O₂), aktivasi *Hypoxia-Inducible Factor-1 alpha* (HIF-1 α) meningkatkan sekresi growth factors pro-regeneratif seperti VEGF, HGF, dan KGF serta sitokin antiinflamasi IL-10. Kandungan miRNA seperti miR-21 dan miR-210 dalam eksosom SH-MSCs juga menekan aktivasi NF- κ B dan STAT6, sehingga mengurangi peradangan yang menekan ekspresi *filaggrin* dan *loricrin*.^{52,59} inflamasi menurun, keratinosit dapat melanjutkan diferensiasi terminal secara fisiologis dan kembali menghasilkan kedua protein penting ini.⁷⁵

Peningkatan ekspresi *filaggrin* dan *loricrin* oleh SH-MSCs terjadi melalui dua mekanisme utama. Pertama, jalur HIF-1 α /VEGF-Notch1 menstimulasi diferensiasi keratinosit dan aktivasi *transglutaminase-1* (TGM1) yang berperan dalam pembentukan *cornified envelope*. Kedua, aktivasi jalur PI3K/AKT/mTOR dan ERK meningkatkan kelangsungan hidup sel serta mempercepat proses maturasi epidermal. Melalui mekanisme ini, ekspresi FLG dan LOR meningkat, kandungan NMF membaik, dan integritas *barrier* kulit pulih. Secara histopatologis, kulit menunjukkan penurunan fisura, pengurangan TEWL, dan peningkatan hidrasi *stratum corneum*.^{27,46,76}

Terapi berbasis SH-MSCs bersifat cell-free, mudah distabilkan, dan memiliki risiko imunogenik rendah dibanding terapi sel utuh. Pada model

hewan *xerosis cutis* derajat berat, pemberian SH-MSCs intradermal terbukti menurunkan skor kekeringan kulit dan meningkatkan ekspresi *loricrin* serta *filaggrin* secara signifikan dalam waktu 5–7 hari.^{35,37} Hal ini menunjukkan bahwa SH-MSCs tidak hanya menekan proses inflamasi tetapi juga memulihkan fungsi sawar epidermis melalui peningkatan ekspresi protein kunci pembentuk stratum corneum. Penggunaan *secretome* hipoksia MSC merupakan strategi potensial untuk terapi *xerosis cutis* derajat 3 yang ditandai oleh gangguan berat pada integritas dan hidrasi kulit.



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Kerusakan *barrier* kulit pada model xerosis cutis dapat ditimbulkan melalui induksi topikal *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS), yang bekerja sebagai iritan kuat terhadap stratum korneum. Paparan SLS menyebabkan disorganisasi lipid epidermis, penipisan dan maturasi korneosit yang tidak sempurna, serta peningkatan permeabilitas kulit. Dampaknya adalah hilangnya kemampuan kulit menahan air secara normal, yang secara objektif terlihat sebagai peningkatan *transepidermal water loss* (TEWL), penurunan hidrasi stratum korneum, dan munculnya kulit sangat kering (*xerosis*) dan mudah pecah. Peningkatan TEWL setelah paparan SLS terbukti bersifat konsentrasi–dependen dan berkaitan dengan perubahan struktur epidermis dan percepatan turnover keratinosit, yang menunjukkan bahwa iritasi kimia semata sudah cukup untuk menimbulkan gangguan *barrier* tanpa perlu adanya komponen alergi. Paparan SLS secara berulang juga dilaporkan memicu eritema, rasa tidak nyaman, serta hambatan pemulihan *barrier*, sehingga model SLS banyak dipakai secara eksperimental untuk meniru kulit kering patologis dengan gangguan fungsi protektif kulit.⁷⁷

Gangguan integritas sawar kulit akibat SLS juga memicu pelepasan *Damage-Associated Molecular Patterns* (DAMPs) yang berperan sebagai sinyal bahaya endogen. DAMPs kemudian mengaktivasi *Toll-Like Receptor* (TLR) pada sel-sel kulit, terutama keratinosit. Aktivasi TLR ini selanjutnya

meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species (ROS)*, sehingga menciptakan kondisi stres oksidatif pada jaringan kulit. Peningkatan kadar ROS berperan penting dalam mengaktivasi jalur pensinyalan intraseluler, khususnya *Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK)* dan *Nuclear Factor kappa B (NF-κB)*. Aktivasi kedua jalur ini mendorong transkripsi gen proinflamasi yang ditandai dengan peningkatan kadar sitokin inflamasi seperti *Interleukin-1α (IL-1α)*, *Tumor Necrosis Factor-α (TNF-α)*, **dan** *Interleukin-6 (IL-6)*. Lingkungan inflamasi kronis ini berdampak negatif terhadap diferensiasi keratinosit dan menurunkan ekspresi protein struktural epidermis, terutama *filaggrin* dan *loricrin*, yang merupakan komponen utama pembentukan dan pemeliharaan sawar kulit.^{78,79}

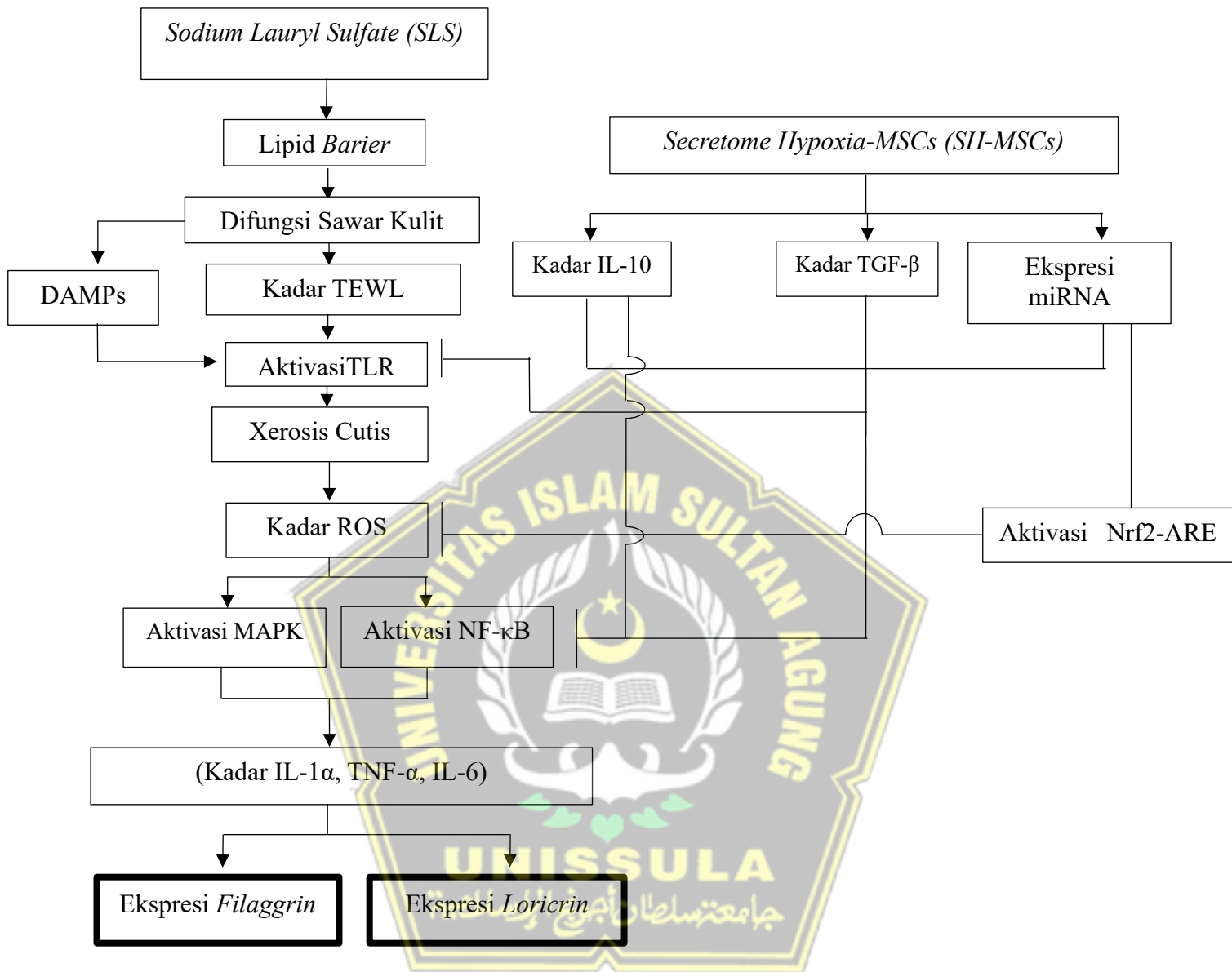
Secretome mesenchymal stem cell yang dipre-kondisi hipoksia (SH-MSC) diposisikan sebagai intervensi yang berpotensi memutus rangkaian patofisiologi kerusakan sawar kulit melalui mekanisme modulasi imun, penekanan stres oksidatif, dan perbaikan fungsi barrier epidermis. *Mesenchymal stem cell (MSC)* diketahui mensekresikan berbagai faktor terlarut bioaktif, termasuk vesikel ekstraseluler, sitokin antiinflamasi seperti *interleukin-10 (IL-10)* dan *transforming growth factor-β (TGF-β)*, serta mikroRNA yang bekerja secara parakrin dalam menggeser mikro-lingkungan jaringan dari fase inflamasi menuju fase resolusi dan regenerasi.

Secretome MSC dilaporkan mampu mendorong polarisasi makrofag ke fenotipe M2 yang bersifat antiinflamasi dan reparatif, meningkatkan pelepasan mediator antiinflamasi, menurunkan akumulasi *reactive oxygen*

species (ROS), serta menghambat aktivasi jalur proinflamasi seperti nuclear factor kappa B (NF- κ B). Kondisi mikro-lingkungan yang lebih kondusif ini selanjutnya mendukung proses diferensiasi dan maturasi keratinosit, yang esensial bagi pemulihan struktur dan fungsi epidermis.

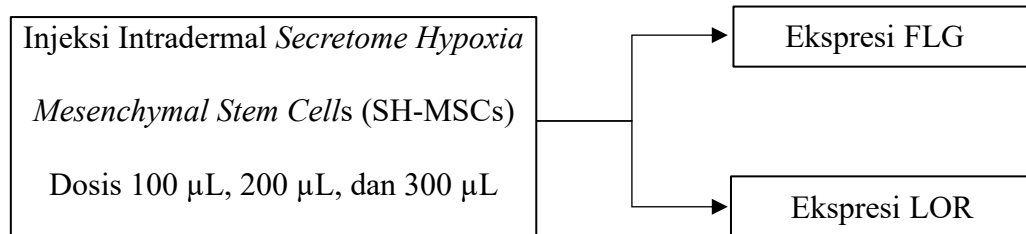
Pra-kondisi hipoksia pada MSC terbukti meningkatkan potensi parakrin sel tersebut. MSC yang dikultur dalam kondisi hipoksia menghasilkan secretome dengan kandungan mediator antiinflamasi yang lebih tinggi, termasuk IL-10 dan TGF- β , serta menunjukkan efektivitas yang lebih unggul dalam mempercepat perbaikan jaringan dibandingkan MSC pada kondisi normoksia.

SH-MSC mengandung vesikel ekstraseluler/eksosom yang membawa microRNA bioaktif. Setelah diinternalisasi keratinosit, microRNA ini terutama memodulasi jalur inflamasi dan diferensiasi untuk menekan aktivasi NF- κ B/JAK-STAT), sehingga tekanan inflamasi yang menurunkan gen barrier berkurang dan ekspresi marker diferensiasi terminal seperti filaggrin (FLG) dan loricrin (LOR) dapat pulih/meningkat.^{80,81} Pemberian secretome SH-MSC secara lokal pada kulit diharapkan mampu menekan inflamasi dan stres oksidatif, menciptakan lingkungan penyembuhan yang ditandai oleh dominasi makrofag M2, serta pada akhirnya memulihkan ekspresi protein sawar epidermis terminal, khususnya filaggrin dan loricrin, pada kondisi xerosis cutis berat.^{82,83}



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep Penelitian

3.3. Hipotesis

Pemberian injeksi intradermal *secretome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) dapat mempengaruhi ekspresi *Filaggrin* dan *loricrin* pada jaringan kulit tikus Wistar model *Xerosis Like* .



BAB IV

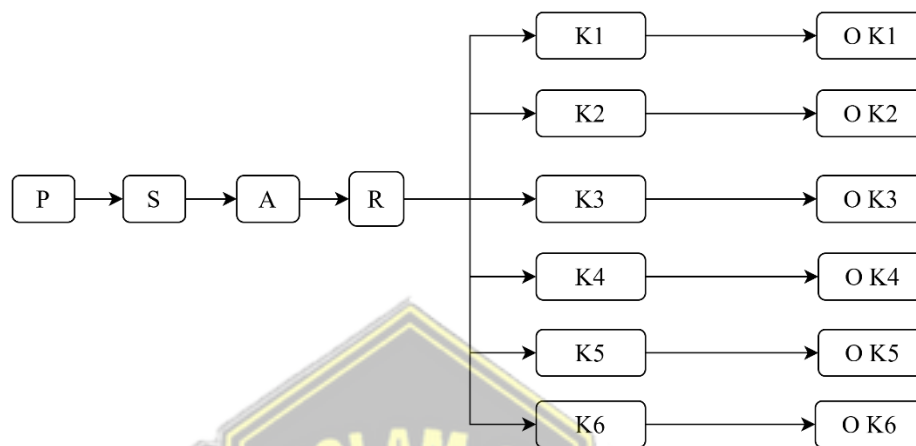
METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain studi eksperimental dengan rancangan *post-test only control group design*. Dilakukan uji efek pemberian injeksi *Secretome hypoxia* MSCs terhadap Ekspresi FLG dan LOR pada tikus galur Wistar yang telah diinduksi *Xerosis Like* menggunakan induksi *sodium lauryl sulfate* (SLS) 5%.

Setelah periode induksi *xerosis*, hewan coba akan dibagi secara acak ke dalam enam kelompok perlakuan yang berbeda. Kelompok kontrol normal (K1) terdiri atas tikus tanpa induksi SLS dan tanpa pemberian injeksi intradermal sebagai terapi, sehingga merepresentasikan kondisi kulit normal. Kelompok K2 hingga K6 merupakan kelompok tikus yang seluruhnya telah diinduksi *xerosis cutis*. Seluruh perlakuan diberikan melalui injeksi intradermal pada area dorsal tikus dengan volume total 300 μ L, yang dibagi ke dalam empat titik penyuntikan dengan dosis masing-masing 75 μ L per titik. Pemberian injeksi dilakukan secara berkala setiap 3 hari sekali selama periode 10 hari. Pada kelompok K2, tikus menerima injeksi intradermal NaCl 300 μ L sebagai kontrol negatif. Kelompok K3 menerima injeksi intradermal *hyaluronic acid* (HA) *non-crosslink* dengan konsentrasi 2 mg/mL sebagai kontrol positif. Kelompok K4, K5, dan K6 masing-masing menerima injeksi intradermal SH-MSCs dengan variasi dosis bertingkat, yaitu 100 μ L, 200 μ L, dan 300 μ L. Pada kelompok dengan dosis 100 μ L dan 200 μ L, SH-MSCs

diencerkan menggunakan larutan NaCl hingga mencapai volume akhir 300 μ L sebelum dilakukan injeksi intradermal.



Tabel 4.1. Rancangan Penelitian

Keterangan :

P: Populasi

S: sampel

A: Aklimatisasi

R: Randomisasi

K1: (Kontrol normal): Tikus *xerosis cutis* tanpa intervensi terapeutik

K2 : (Kontrol negatif): Tikus diinduksi *xerosis cutis* dan diberikan injeksi intradermal NaCl dengan volume total 300 μ L. Injeksi dilakukan pada area dorsal tikus, dibagi ke dalam empat titik penyuntikan dengan dosis 75 μ L per titik, dan diberikan sebanyak empat kali dengan interval setiap 3 hari, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

K3 : (Kontrol Positif): Tikus diinduksi *xerosis cutis* dan diberikan injeksi intradermal *Hyaluronic Acid* (HA) *non-crosslink* 2 mg/mL dengan volume total 300 μ L. Injeksi dilakukan pada area dorsal tikus, dibagi ke dalam empat titik penyuntikan dengan dosis 75 μ L per titik, dan diberikan sebanyak empat kali dengan interval setiap 3 hari, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

K4 : (SH-MSCs dosis 100 μ L): Tikus diinduksi *xerosis cutis* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs sebanyak 100 μ L, yang diencerkan dengan NaCl 200 μ L hingga mencapai volume total 300 μ L. Injeksi dilakukan pada area dorsal tikus, dibagi ke dalam empat titik penyuntikan dengan dosis 75 μ L per titik, dan diberikan sebanyak empat kali dengan interval setiap 3 hari, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

K5 : (SH-MSCs dosis 200 μ L) : Tikus diinduksi *xerosis cutis* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs sebanyak 200 μ L, yang diencerkan dengan NaCl 100 μ L hingga mencapai volume total 300 μ L. Penyuntikan dilakukan pada area dorsal tikus, dibagi menjadi empat titik injeksi dengan dosis 75 μ L per titik, dan diberikan sebanyak empat kali dengan interval setiap 3 hari, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

K6 : (SH-MSCs dosis 300 μ L): Tikus diinduksi *xerosis cutis* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs sebanyak 300 μ L. Penyuntikan dilakukan pada area dorsal tikus, dibagi menjadi empat titik injeksi dengan dosis 75 μ L per titik, dan diberikan sebanyak empat kali dengan interval setiap 3 hari, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

O K1: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 1

O K2: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 2

O K3: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 3

O K4: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 4

O K5: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 5

O K6: Observasi Ekspresi FLG & LOR pada kelompok 6

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Bebas (Independen)

Injeksi intradermal *secretome hypoxia Mesenchymal Stem Cells*

(SH-MSCs) dengan dosis 100 μ L, 200 μ L, dan 300 μ L.

4.2.2. Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Ekspresi FLG: Diukur pada sampel ekstrak jaringan kulit menggunakan metode qPCR.
2. Ekspresi LOR: Diukur pada sampel ekstrak jaringan kulit menggunakan metode qPCR.

4.2.3. Variabel Prakondisi

Variabel prakondisi pada penelitian ini adalah induksi *sodium lauryl sulfate* (SLS) 5%.

4.3. Definisi Operasional

4.3.1. Injeksi intradermal *Secretome* Hipoksia MSCs

Injeksi intradermal *secretome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) didefinisikan sebagai pemberian produk sekretori yang dihasilkan oleh *mesenchymal stem cells* yang dipra-kondisi dalam kondisi hipoksia, yang mengandung berbagai faktor pertumbuhan, sitokin antiinflamasi, serta miRNA bioaktif. SH-MSCs diperoleh dari Laboratorium *Stem Cell and Cell Culture Research* (SCCR) dan diberikan melalui injeksi intradermal pada area dorsal tikus sebagai intervensi terapeutik untuk memperbaiki hidrasi dan homeostasis kulit pada model xerosis cutis. Pemberian dilakukan dengan volume total 300 μ L per sesi injeksi, yang dibagi ke dalam empat titik penyuntikan dengan volume masing-masing 75 μ L per titik. SH-MSCs diberikan

dalam tiga variasi dosis bertingkat, yaitu 100 μL , 200 μL , dan 300 μL . Pada dosis 100 μL dan 200 μL , *secretome* diencerkan menggunakan larutan NaCl fisiologis hingga mencapai volume akhir 300 μL sebelum injeksi, sedangkan dosis 300 μL diberikan tanpa pengenceran tambahan. Pemberian injeksi dilakukan sebanyak 4 kali, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 (interval setiap 3 hari). Efek intervensi dievaluasi berdasarkan perubahan ekspresi *filaggrin* (FLG) dan *loricrin* (LOR) pada jaringan kulit tikus. Seluruh hewan coba kemudian dilakukan terminasi pada hari ke-22 untuk pengambilan sampel jaringan kulit dan pemeriksaan ekspresi FLG dan LOR sesuai prosedur analisis yang telah ditetapkan dalam penelitian.

Unit: μL

Skala: Nominal

4.3.2. Ekspresi *Filaggrin*

Ekspresi *filaggrin* (FLG) pada penelitian ini didefinisikan sebagai tingkat ekspresi mRNA gen FLG pada jaringan kulit tikus Wistar model xerosis cutis yang diukur secara kuantitatif menggunakan real-time quantitative PCR (RT-qPCR) dari sampel kulit yang diambil saat terminasi hari ke-22. Jaringan kulit dari area induksi (dorsal) diproses untuk isolasi RNA total, kemudian dilakukan sintesis cDNA, dan amplifikasi qPCR menggunakan primer spesifik FLG serta gen rumah tangga (housekeeping) sebagai kontrol internal.

Nilai ekspresi FLG dinyatakan sebagai ekspresi relatif (fold change) terhadap kelompok kontrol menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Unit: Ekspresi relatif fold change; $2^{-\Delta\Delta Ct}$

Skala: Rasio

4.3.3. Ekspresi *Loricrin*

Ekspresi loricrin (LOR) pada penelitian ini didefinisikan sebagai tingkat ekspresi mRNA gen LOR pada jaringan kulit tikus Wistar model xerosis cutis yang diukur secara kuantitatif menggunakan real-time quantitative PCR (RT-qPCR) dari sampel kulit yang diambil saat terminasi hari ke-22. Jaringan kulit dari area induksi (dorsal) diproses untuk isolasi RNA total, sintesis cDNA, dan amplifikasi qPCR menggunakan primer spesifik LOR serta gen rumah tangga sebagai kontrol internal. Nilai ekspresi LOR dinyatakan sebagai ekspresi relatif (fold change) terhadap kelompok kontrol menggunakan metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Unit: Ekspresi relatif fold change; $2^{-\Delta\Delta Ct}$

Skala: Rasio

4.4. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.4.1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini menggunakan tikus jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang sehat dengan rentang usia 6–8 minggu serta berat badan antara 180–200 gram. Hewan coba dipilih tanpa adanya

kelainan kulit dan diperoleh dari fasilitas laboratorium hewan percobaan milik Stem Cell dan Cancer Research.

Selama penelitian, tikus dipelihara dengan pemberian pakan standar berupa pelet Bravo 512 dan air minum aquades. Pemeliharaan dilakukan pada ruangan dengan suhu terkontrol 20–26°C, disertai ventilasi serta pencahayaan yang memadai untuk menjaga kesehatan hewan tetap stabil. Sebelum dilakukan perlakuan, seluruh tikus menjalani masa adaptasi selama 7 hari guna memastikan kondisi fisiologis dalam keadaan stabil.^{79,80}

4.4.2. Besar Sampel

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

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

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Di mana n menunjukkan jumlah tikus per kelompok, dan t adalah jumlah kelompok uji (misalnya, kontrol dan perlakuan). Jika terdapat 6 kelompok, maka minimal 4 tikus per kelompok diperlukan, dengan total sampel sebanyak 24 tikus. Sampel ditambah 1 untuk

mengantisipasi dropout sehingga total tikus adalah 5 ekor tiap kelompok dengan total 30 ekor.⁸⁴

4.4.3. Subjek Penelitian

4.4.3.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus Wistar jantan berumur 6 – 8 minggu.
- b. Berat badan antara 180-200 gram.
- c. Sehat secara klinis (aktif, nafsu makan baik, bulu bersih, dan tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit).

4.4.3.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang tidak menunjukkan kriteria *xerosis cutis* setelah proses induksi SLS 5%.

4.4.3.3. Kriteria *Drop Out*

- a. Tikus menunjukkan gejala stres berat, seperti penurunan berat badan yang signifikan ($>20\%$ dari berat awal), kelemahan yang parah, atau inaktivitas yang mengganggu hasil penelitian.
- b. Tikus yang menunjukkan reaksi lokal berat pada lokasi injeksi intradermal, seperti nekrosis, ulserasi luas, atau infeksi berat, sehingga pengukuran lanjutan tidak dapat dilakukan.
- c. Tikus mati selama periode penelitian, baik akibat efek perlakuan, prosedur, atau penyebab lain.
- d. Tikus yang mengalami kesalahan dalam prosedur,

seperti dosis secretome yang tidak sesuai, teknik intervensi gagal, atau pengambilan sampel jaringan yang tidak berhasil.

4.5. Cara Pengambilan *Sampling*

Penelitian ini menggunakan metode randomisasi sederhana untuk memastikan setiap tikus memiliki peluang yang sama untuk masuk ke salah satu kelompok perlakuan atau kelompok kontrol. Proses ini dijelaskan sebagai berikut:

1. Seleksi Awal

Tikus Wistar diperiksa untuk memastikan kondisi kesehatan normal, tidak menunjukkan tanda-tanda penyakit, aktif bergerak, dan memiliki berat badan yang sesuai dengan kriteria inklusi.

2. Aklimatisasi

Tikus dipelihara dalam kondisi standar, dengan suhu ruangan dijaga pada suhu 20-26°C, kelembapan 40–60%, siklus terang-gelap 12 jam, dan akses bebas ke makanan serta minuman. Tikus menjalani periode adaptasi minimal selama 1 minggu sebelum dimulainya perlakuan.

3. Pembagian Kelompok

Tikus dibagi secara acak menjadi enam kelompok:

- Kelompok 1 (Normal): Tikus tanpa *xerosis cutis* dan tanpa intervensi terapeutik
- Kelompok 2 (Negatif): Tikus diinduksi *Xerosis Like* dan diberikan injeksi intradermal NaCl 300 μ L pada area dorsal, dibagi ke empat titik

dengan dosis 75 μ L per titik. Pemberian dilakukan setiap 3 hari sekali, pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.

- Kelompok 3 (Positif): Tikus diinduksi *Xerosis Like* dan diberikan injeksi intradermal *hyaluronic acid* (HA) *non-crosslink* 2 mg/mL pada area dorsal dengan total volume 300 μ L, dibagi ke empat titik dengan dosis 75 μ L per titik. Pemberian dilakukan setiap 3 hari sekali, pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.
- Kelompok 4 (*Secretome* MSCs hipoksia): Tikus diinduksi *Xerosis Like* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs pada area dorsal dengan dosis 100 μ L yang diencerkan dengan NaCl 200 μ L hingga total 300 μ L, dibagi ke empat titik dengan dosis 75 μ L per titik. Pemberian dilakukan setiap 3 hari sekali, pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.
- Kelompok 5 (*Secretome* MSCs hipoksia): Tikus diinduksi *Xerosis Like* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs pada area dorsal dengan dosis 200 μ L yang diencerkan dengan NaCl 100 μ L hingga total 300 μ L, dibagi ke empat titik dengan dosis 75 μ L per titik. Pemberian dilakukan setiap 3 hari sekali, pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi *xerosis cutis*.
- Kelompok 6 (*Secretome* MSCs hipoksia): Tikus diinduksi *Xerosis Like* dan diberikan injeksi intradermal SH-MSCs pada area dorsal dengan dosis 300 μ L tanpa pengenceran, dibagi ke empat titik dengan dosis 75

μL per titik. Pemberian dilakukan setiap 3 hari sekali, pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 setelah induksi xerosis cutis.

4. Alokasi Sampel

Proses pengacakan dilakukan dengan metode seperti random number generator atau undian sederhana untuk memastikan penyebaran sampel yang merata ke setiap kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 tikus.⁸¹

4.6. Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1. Bahan Penelitian

1. Hewan Coba Tikus Wistar jantan, usia 6–8 minggu, berat badan 180–200 gram.
2. Ketamine
3. Xylazine
4. *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS) 5%
5. Primer Rat PCR *Filagrin*
6. Primer Rat PCR *Loricrin*
7. Primer Rat *Refrence*
8. Reagen PBS (*phosphate-buffer saline*)
9. *Hematoxylin-Eosin* (HE) staining
10. *Alcohol*
11. Aquades
12. Medium kultur MSCs
13. Trypsin-EDTA atau *detachment solution*

14. NaCl 0,9% steril
15. Reagen Oil Red O & Alizarin Red
16. Antibodi marker CD29, CD44, CD45, CD31, CD9, CD63, CD81

4.6.2. Alat Penelitian

1. Kandang untuk pemeliharaan tikus, tempat makan dan minum.
2. Timbangan Digital
3. Tempat air minum tikus.
4. 6mm biopsy punch
5. *Centrifuge & microcentrifuge*
6. Mikropipet 1
7. 1000 μ L mikropipet tip
8. Vial tube 1,5 mL
9. *Coated desk glass*
10. *Cover glass.*
11. *Biosafety cabinet class II*
12. *Flow cytometer*
13. *Hypoxic chamber*
14. *Tangential Flow Filtration (TFF) system*
15. *qPCR*
16. *Paraffin embedding station & mikrotom.*

4.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research*, Semarang, Jawa Tengah. Penelitian rencana akan mulai dilakukan pada Desember 2025.

Tabel 4.2. Jadwal Penelitian

Jenis Kegiatan	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4	Minggu ke-5	Minggu ke-6
Persiapan Penelitian						
Penyusunan proposal dan Pengajuan ke komite etik						
Pengadaan alat dan bahan penelitian						
Tahap Eksperimental						
Induksi <i>xerosis</i> pada tikus						
Pemberian Injeksi <i>secretome</i> MSCs hypoxia						
Pengambilan Sampel dan Analisis						
Pengukuran parameter tambahan						
Analisis ekspresi FLG						
Analisis ekspresi LOR						
Pengolahan Data dan Penyusunan Laporan						
Pengolahan dan analisis data						
Penyusunan laporan penelitian						

4.8. Prosedur Penelitian

4.8.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Penelitian ini diawali dengan pengajuan permohonan persetujuan etik kepada Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung, Semarang. Tahapan ini dilakukan setelah proposal penelitian memperoleh persetujuan dari pembimbing dan penguji. Permohonan persetujuan etik bertujuan untuk memastikan penelitian berjalan sesuai prinsip-prinsip etika, terutama terkait penggunaan hewan coba hewan (3R: *Reduction, Refinement, Replacement*).

Persetujuan etik juga menjamin bahwa perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan dengan memperhatikan kesejahteraan dan hak-hak hewan, serta mengurangi penderitaan yang tidak perlu.

4.8.2. Persiapan Awal

Pemilihan tikus Wistar jantan berusia 6–8 minggu dengan berat badan 180–200 gram. Pemeliharaan tikus dalam kondisi standar (suhu 20–26°C dan akses bebas ke makanan dan minuman). Adaptasi dilakukan pada kondisi standar minimal 1 minggu sebelum perlakuan.



4.8.3. Induksi *Xerosis cutis*

1. Persiapan Hewan Uji

Pada tahap awal, bagian punggung tikus dibersihkan dengan mencukur rambut seluas $\pm 2 \times 3$ cm (6 cm^2) menggunakan alat cukur elektrik. Proses pencukuran dilakukan hati-hati untuk menghindari terjadinya luka pada permukaan kulit.

2. Induksi *Xerosis cutis*

Larutan Sodium Lauryl Sulfate (SLS) 5% disiapkan dengan melarutkan 2,5 gram SLS ke dalam 50 mL akuades steril hingga larut sempurna. Larutan yang telah homogen kemudian dimasukkan ke dalam wadah steril. Kasa steril dicelupkan ke dalam larutan SLS 5% dan diaplikasikan secara merata pada area dorsal tikus yang telah dicukur, dengan arah pengolesan dari kepala ke ekor, tanpa menekan kulit.

Proses induksi dilakukan dua kali sehari pada jam yang sama selama sembilan hari berturut-turut. Seluruh tikus pada kelompok K2 hingga K6 menjalani induksi ini hingga terbentuk kondisi *Xerosis Like*, yang kemudian dikonfirmasi melalui pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis (dermoskop) sesuai kriteria yang telah ditetapkan.

4.8.4. Pemberian Secretome dan Titik Injeksi

Secretome Hypoxia-MSC (SH-MSC) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari lab SCCR. SH-MSC diberikan sebanyak empat kali, yaitu pada hari ke-10, 13, 16, dan 19 pasca induksi *xerosis cutis*. Penyuntikan dilakukan secara intradermal di empat titik yang terletak pada setiap sudut area perlakuan berukuran 2×3 cm untuk memastikan distribusi merata di kulit.^{85,86} SH-MSCs diberikan sesuai kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat 100 μ L, 200 μ L, dan 300 μ L per ekor. Untuk dosis 100 μ L dan 200 μ L, SH-MSCs diencerkan menggunakan NaCl steril hingga mencapai volume total 300 μ L. Seluruh volume injeksi kemudian dibagi ke empat titik pada area dorsal tikus, sehingga setiap titik menerima 75 μ L larutan.

Rincian pemberian SH-MSCs pada masing-masing kelompok adalah sebagai berikut:

- Kelompok dosis 100 μ L menerima 100 μ L SH-MSCs yang diencerkan dengan 200 μ L NaCl steril dengan total volume 300 μ L per ekor, dibagi menjadi empat titik penyuntikan masing-masing 75 μ L per titik.
- Kelompok dosis 200 μ L menerima 200 μ L SH-MSCs yang diencerkan dengan 100 μ L NaCl steril dengan total volume 300 μ L per ekor, dibagi menjadi

empat titik penyuntikan masing-masing 75 μ L per titik.

- Kelompok dosis 300 μ L menerima 300 μ L SH-MSCs tanpa pengenceran tambahan, dibagi menjadi empat titik penyuntikan masing-masing 75 μ L per titik.

4.8.5. Observasi Makroskopis dan Mikroskopis pada *Xerosis cutis*

Pengamatan kondisi xerosis cutis dilakukan melalui pemeriksaan makroskopis (klinis) dan mikroskopis (dermoskop) untuk memastikan tercapainya Xerosis Like sebelum pemberian intervensi. Pemeriksaan dilakukan menggunakan sistem scoring XASI dan mikroskop elektron/dermoskop, serta didokumentasikan dalam bentuk foto klinis dan foto mikroskopis/dermoskop. Pemeriksaan klinis dan dermoskopi dilakukan pada hari ke-1, 3, 6, dan 9 selama periode induksi Sodium Lauryl Sulfate (SLS) 5%.

Pada hari pertama, pemeriksaan dilakukan pada tikus normal sebagai kondisi dasar (*baseline*), sedangkan pada hari ke-3, 6, dan 9 dilakukan pada tikus yang telah diinduksi SLS untuk memantau progresivitas perubahan kulit hingga mencapai *Xerosis Like*. Foto makroskopis juga dilakukan pada hari ke 16 dan 22 sedangkan dermoskop diambil pada setiap kali pemberian perlakuan dan pada akhir penelitian (hari ke 16, 19, dan 22) untuk mengevaluasi perbaikan kondisi kulit setelah intervensi.

Pada waktu kulit tikus diinduksi dgn SLS 5%, perubahan kondisi kulit dipantau setiap hari untuk menilai perkembangan *Xerosis Like* dengan perwakilan perkelompok secara sistem skoring XASI sebagai berikut:

- a. Skor 0: Kulit normal, halus tanpa tanda kekeringan, sisik, retakan, maupun kemerahan.
- b. Skor 1: *Xerosis cutis* ringan, ditandai sisik tipis, retakan halus, dan eritema ringan pada sebagian kecil area.
- c. Skor 2: *Xerosis cutis* sedang, dengan sisik lebih jelas, retakan tampak nyata, serta kemerahan yang meluas.
- d. Skor 3: *Xerosis cutis* berat, kulit sangat kering dengan sisik tebal, retakan cukup dalam, dan eritema intens.
- e. Skor 4: *Xerosis cutis* sangat berat, ditandai dengan kekasaran kulit yang nyata, inflamasi jelas, sisik berukuran besar, serta adanya retakan dalam atau pecah-pecah.

Objective signs (physician's assessment)					
	0 (none)	1 (mild)	2 (moderate)	3 (severe)	4 (very severe)
Scaling					
Fissures/rhagades					
Erythema					

Gambar 4.1. Skor *Xerosis cutis*.³

Dermoskop memungkinkan penilaian yang lebih mendetail terhadap perubahan kulit yang mungkin tidak tampak jelas dengan mata telanjang. Dalam penilaian *xerosis cutis*, dermoskop dapat digunakan untuk menilai pola sisik, ketebalan sisik, perubahan vaskular, serta kerusakan pada stratum korneum. Dermoskopi sangat membantu dalam mendeteksi perubahan-perubahan halus seperti adanya retakan dan sisik yang lebih terlihat, serta perubahan pada pola pigmen yang dapat mengindikasikan tanda-tanda penuaan kulit atau *xerosis* berat.

Xerosis cutis berat dianggap tercapai ketika tikus menunjukkan skor derajat III berdasarkan pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pemeriksaan histologis menggunakan pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE) dilakukan bukan sebagai metode validasi, melainkan sebagai bukti tambahan bahwa induksi SLS 5% telah menimbulkan perubahan struktural pada kulit sesuai dengan *Xerosis Like*.

Pemeriksaan HE hanya dilakukan pada empat ekor tikus sebagai sampel perwakilan, yaitu tikus yang dipilih secara acak, terdiri atas dua tikus dari kelompok sehat (kontrol normal) dan dua tikus dari kelompok yang diinduksi *xerosis cutis*. Jaringan kulit dorsal diambil dengan ukuran $\pm 1 \times 1$ cm, kemudian diproses menjadi preparat histologi menggunakan metode blok parafin dan pewarnaan HE.

Secara histopatologis, Xerosis Like ditandai oleh penebalan stratum korneum (hiperkeratosis), disorganisasi lapisan epidermis, berkurangnya kelembapan jaringan yang tampak sebagai celah antar sel, serta infiltrasi ringan sel inflamasi pada dermis superfisial. Temuan ini berfungsi untuk memperkuat hasil pengamatan makroskopis dan mikroskopis, tanpa menjadi dasar penentuan derajat xerosis cutis pada seluruh hewan coba.

Tahapan preparasi histologi dilaksanakan melalui beberapa langkah sebagai berikut:

1. Potongan kulit dari setiap kelompok tikus difiksasi menggunakan larutan NBF 10%.
2. Sampel kemudian dibilas dengan etanol 70% hingga bebas dari sisa fiksatif.
3. Tahap dehidrasi dilakukan dengan merendam jaringan secara bertahap dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan absolut, masing-masing selama 30 menit.
4. Setelah itu, sampel dimasukkan ke dalam toluol hingga jaringan tampak jernih (± 1 jam).
5. Proses infiltrasi dilakukan di oven bersuhu 56–60°C dengan perendaman dalam campuran toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing 30 menit, dilanjutkan perendaman berturut-turut dalam parafin murni I, II, dan III selama 30 menit tiap tahap.

6. Pada tahap *embedding*, jaringan yang telah berada dalam parafin murni dituangkan ke cetakan blok parafin dan dibiarkan hingga parafin mengeras.
7. Blok parafin kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan $\pm 6 \mu\text{m}$.
8. Potongan jaringan ditempelkan pada kaca objek yang sebelumnya dilapisi Mayer's albumin, ditetesi sedikit aquades, lalu dipanaskan di *hot plate* hingga menempel sempurna.
9. Preparat yang sudah menempel dideparafinisasi dengan perendaman dalam xylol selama 24 jam.
10. Pewarnaan jaringan dilakukan dengan *metode Hematoksilin-Eosin* (HE) di mana sisa *xylol* dihilangkan, jaringan direndam berturut-turut dalam alkohol 96–30% dan aquades, lalu dicelupkan ke hematoksin (5–10 detik), dibilas air mengalir (10 menit), dehidrasi bertahap kembali dalam alkohol 30–96%, kemudian dicelupkan ke eosin (5–10 menit). Setelah itu, sampel dikeringkan, dimasukkan ke xylol ± 15 menit, dan ditetesi canada balsam.
11. Preparat ditutup kaca penutup, diberi label, dan disimpan dalam kotak sediaan.
12. Pembacaan mikroskopis dan parameter yang dinilai

Preparat kulit yang telah diwarnai HE kemudian diamati menggunakan mikroskop cahaya pada beberapa pembesaran ($40\times$,

100×, dan 400×). Penilaian dilakukan pada area induksi yang sama, dan (bila memungkinkan) oleh penilai yang dibutakan terhadap kelompok perlakuan. Parameter histopatologi yang dinilai meliputi:

- a. Ketebalan epidermis: diukur sebagai jarak dari stratum basale hingga batas bawah stratum korneum pada beberapa titik pengukuran, kemudian dihitung nilai rerata. Parameter ini menggambarkan respons epidermal terhadap iritasi/kerusakan sawar.
- b. Ketebalan stratum korneum (hiperkeratosis): dinilai secara kuantitatif (pengukuran ketebalan) atau semi-kuantitatif (0 = tidak ada, 1 = ringan, 2 = sedang, 3 = berat). Penebalan stratum korneum merupakan salah satu gambaran khas xerosis berat sebagai respons kompensasi sawar kulit.
- c. Gangguan integritas permukaan epidermis: dinilai berdasarkan adanya deskuamasi berlebihan, permukaan epidermis yang tidak rata, serta diskontinuitas stratum korneum yang dapat mencerminkan kekeringan dan kerapuhan barrier.
- d. Fissura/retakan mikro (microfissures): dicatat berdasarkan adanya celah atau robekan pada stratum korneum/epidermis yang sesuai dengan gambaran “pecah-pecah” pada xerosis berat. Bila diperlukan, retakan dapat dinilai semi-kuantitatif

(0 = tidak ada, 1 = sedikit, 2 = sedang, 3 = banyak).

e. Spongiosis epidermis: dinilai berdasarkan adanya edema interselular pada epidermis yang mencerminkan iritasi dan proses inflamasi lokal.

f. Infiltrasi sel inflamasi dermis: dinilai berdasarkan kepadatan sel radang pada dermis, menggunakan skor semi-kuantitatif (0 = tidak ada, 1 = ringan, 2 = sedang, 3 = berat). Parameter ini digunakan untuk mendukung adanya komponen inflamasi pada xerosis akibat induksi.

g. Perubahan vaskular dermis: meliputi kongesti atau dilatasi pembuluh darah yang dinilai, sebagai indikator respons inflamasi.

13. Seluruh hasil pengamatan dicatat pada lembar penilaian histopatologi. Bila dilakukan pengukuran kuantitatif, data dilaporkan sebagai nilai rerata per hewan dan dianalisis perbandingan antar kelompok sesuai rencana analisis statistik.

4.9. Teknik Pengumpulan Data

4.9.1. Persiapan sampel

1. Pengambilan Sampel: Sampel jaringan kulit diambil dengan prosedur biopsi pada hewan percobaan yang telah disetujui oleh komite etik.
2. Ekstraksi Protein: Jaringan sampel dicuci dengan PBS (phosphate-buffered saline) untuk menghilangkan kotoran kemudian disimpan

dalam cryotube yang bebas dari RNAase dan disimpan pada suhu -80°C dalam RNA later.

4.9.2. Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA

1. Sampel kulit sebanyak 100 mg diambil dari RNA later kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil dimasukkan ke dalam tube yang berisi 50 ml RNA Iso Plus.
2. Potongan kulit ditumbuk menggunakan micopastle dan ditambahkan lagi RNA Iso Plus sebanyak 50 ml dan diinkubasi di suhu ruang selama 5 menit.
3. Ditambahkan 20 ml *chloroform* dan *divortex* hingga larutan menjadi putih susu.
4. 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 terlibat memiliki 3 lapisan. Lapisan yang paling atas berupa RNA (fase liquid), lapisan kedua berupa DNA (fase semisolid) dan lapisan bawah mengandung debris-debris sel.
5. 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.
6. 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 di dasar tabung.

7. 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.
8. 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.
9. Sintesis cDNA dengan membuat campuran A dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung, 1 µl oligoDT serta PCR water hingga mencapai volume 10 µl, kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 70°C.
10. Campuran A ditambah dengan campuran B yang terdiri dari 5 X buffer 4 µl, DEPC-Treated H₂O 5 µl, revertraAce 1 µl. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit dan 85°C selama 5 menit.

4.9.3. Prosedur Pembacaan Ekspresi FLG dan LOR dengan *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

1. Ekspresi mRNA dari Gen FLG dianalisis menggunakan RT-PCR. Campuran dari 3 µl cDNA sampel, Taq master mix (dNTPs, Taq DNA polymerase, reaction buffer dan MgCl₂) sebanyak 12,5 µl,

primer spesifik pada Gen FLG target sebanyak 0,6 µl untuk primer forward 5'- AGGCCTCTGTTGAAGGTTCTG-3' dan reverse 5'-CTAGTGCAGGCAGGGCATTAT-3' dan 8,3µl *Nuclease Free Water*.

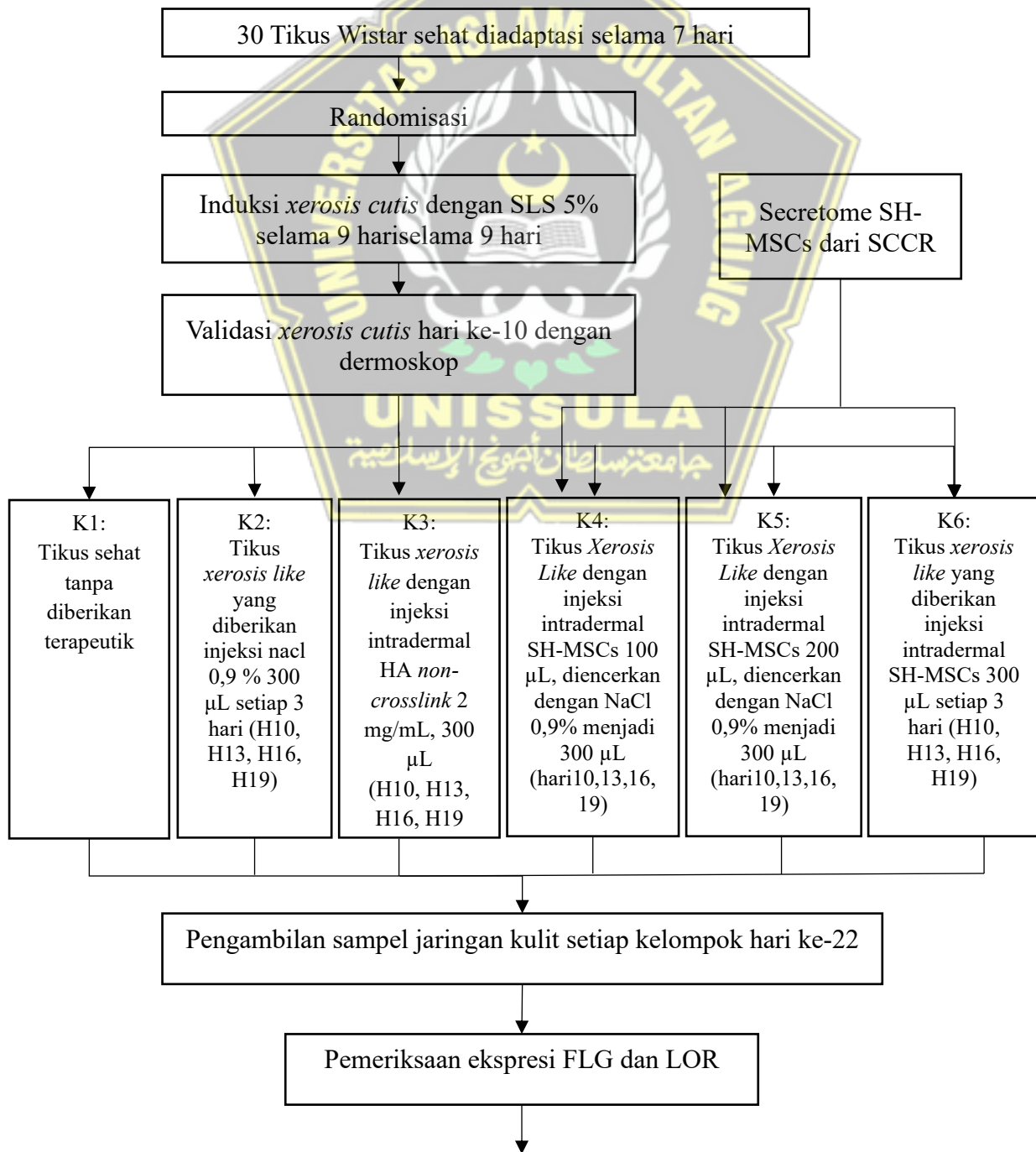
2. Ekspresi mRNA dari Gen LOR dianalisis menggunakan RT-PCR. Campuran dari 3 µl cDNA sampel, Taq master mix (dNTPs, Taq DNA polymerase, reaction buffer dan MgCl₂) sebanyak 12,5 µl, primer spesifik pada Gen LOR target sebanyak 0,6 µl untuk primer forward 5'-AGTTCTCCGTGGACGCCTAT-3' dan reverse 5'-GCACTGGAATTGGGAGGGAAT-3' dan 8,3µl *Nuclease Free Water*.
3. Ekspresi gen housekeeping GAPDH digunakan sebagai baseline dengan primer forward 5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3' dan reverse 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'.
4. PCR produk dianalisis menggunakan qRT-PCR illumina.
5. Peningkatan ekspresi gen dianalisis dalam ratio peningkatan terhadap housekeeping gen menggunakan software EcoStudy.

4.10. Analisis Data

Data penelitian dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik dan disajikan sebagai statistik deskriptif berupa rerata±SD untuk setiap kelompok. Sebelum analisis komparatif, dilakukan uji asumsi yang mencakup uji normalitas Shapiro–Wilk dan uji homogenitas varians menggunakan Levene. Perbedaan rerata ekspresi FLG dan LOR antar kelompok dianalisis

dengan One-Way ANOVA, kemudian dilanjutkan uji post hoc Tukey HSD apabila varians homogen atau uji Tamhane apabila varians tidak homogen (Levene $p < 0,05$). Fokus utama perbandingan adalah kelompok perlakuan (K3–K6) terhadap kontrol induksi xerosis-like (K2), sedangkan kelompok sehat (K1) digunakan sebagai pembanding baseline, dengan batas kemaknaan statistik ditetapkan pada $p < 0,05$.

4.11. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

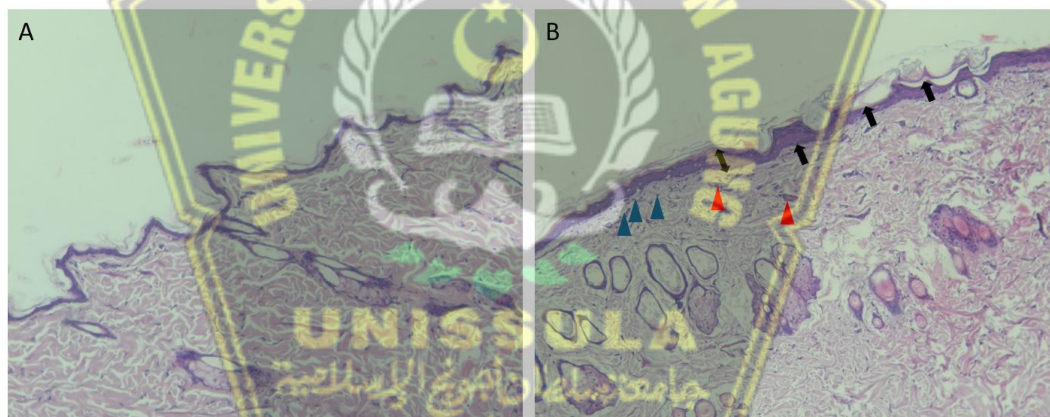
5.1. Hasil Penelitian

Validasi terbentuknya model *xerosis-like* selama periode induksi *Sodium Lauryl Sulfate* (SLS) 5% dilakukan melalui observasi makroskopis dan mikroskopis/dermoskopis pada hari 0 (*baseline*), hari ke-3, hari ke-6, dan hari ke-9. Seiring waktu, tampak progresivitas kerusakan sawar kulit berupa peningkatan kekasaran permukaan, munculnya skuama (sisik) yang semakin tebal, eritema/inflamasi yang makin jelas, hingga terbentuk retakan/fisura pada hari ke-9. Temuan klinis dan dermoskopis tersebut menunjukkan bahwa induksi berhasil mencapai fenotipe *xerosis-like* sesuai kriteria skor (Gambar 5.1).



Gambar 5.1. Validasi klinis dan dermoskopis/mikroskopis progresivitas *xerosis-like* selama induksi SLS 5%. (A) Dokumentasi mikroskopis menggunakan *digital microscope* pada hari 0, 3, 6, dan 9 menunjukkan progresivitas kekasaran permukaan kulit dan penebalan skuama hingga tampak skuama besar pada hari ke-9. (B) Dokumentasi makroskopis menggunakan kamera digital pada hari 0, 3, 6, dan 9 menunjukkan progresivitas eritema/inflamasi, kekeringan, dan fisura/pecah-pecah yang paling jelas pada hari ke-9—menggambarkan *xerosis cutis* sangat berat.

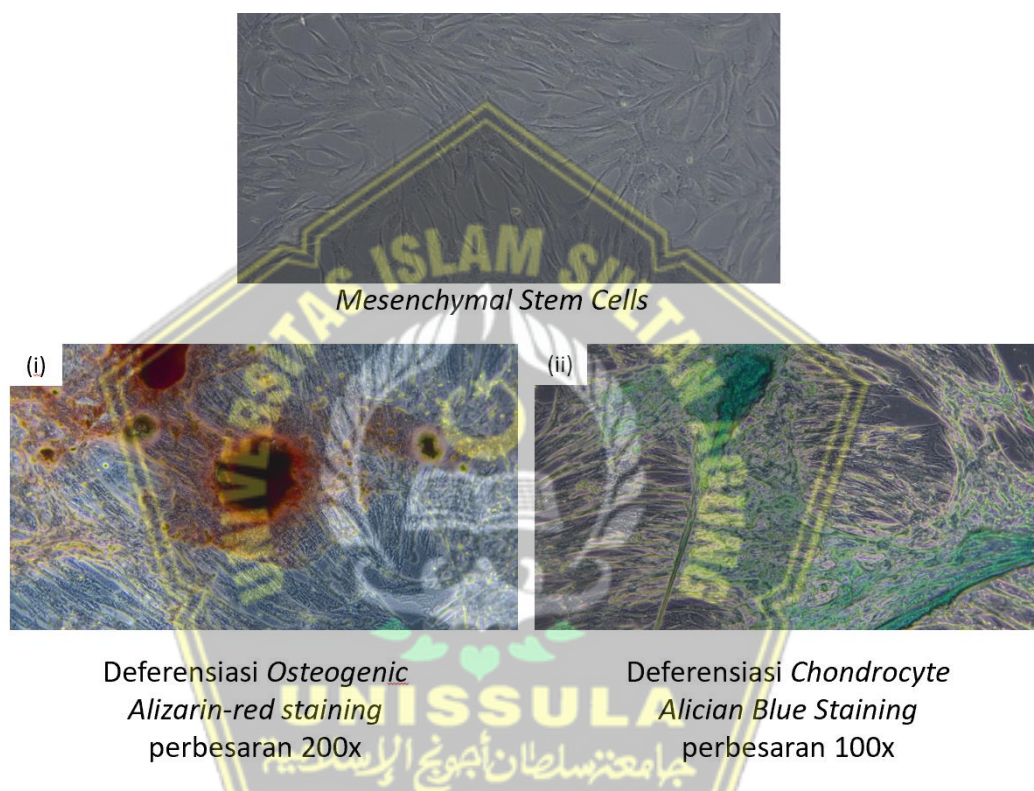
Pemeriksaan histopatologi kulit punggung dengan pewarnaan *Hematoxylin–Eosin* (HE) perbesaran 100× memperlihatkan perbedaan struktur kulit antara kontrol normal dan kulit yang telah diinduksi SLS. Pada kulit yang diinduksi, tampak gambaran gangguan *barrier* berupa deskuamasi/terkelupasnya stratum korneum, penebalan epidermis, peningkatan lapisan granula, diferensiasi keratinosit yang abnormal, serta perubahan serat kolagen dermis yang cenderung lebih tipis dan tidak teratur; pada beberapa area tampak pula ruang putih yang luas dan akumulasi sel darah merah pada dermis. Gambaran ini konsisten dengan perubahan struktural kulit pada kondisi *xerosis-like* (Gambar 5.2).



Gambar 5.2. Histopatologi kulit punggung tikus (HE, 100×) sebagai bukti tambahan terbentuknya *xerosis-like*. (A) Kontrol normal: struktur epidermis–dermis tampak relatif utuh. (B) Kulit terinduksi SLS 5%: tampak deskuamasi stratum korneum (panah hitam), penebalan epidermis (panah hitam berkepala dua), peningkatan lapisan granula (segitiga biru), diferensiasi keratinosit yang abnormal, serta serat kolagen dermis yang lebih tipis/tidak teratur; tampak pula area putih yang luas dan akumulasi sel darah merah di dermis (panah merah).

Validasi UC-MSC dilakukan melalui (1) evaluasi morfologi dan kemampuan diferensiasi, serta (2) karakterisasi penanda permukaan sel dengan *flow cytometry*. Secara morfologi, kultur sel menunjukkan bentuk *fibroblast-like/spindle-shaped* yang khas pada MSC dan melekat pada

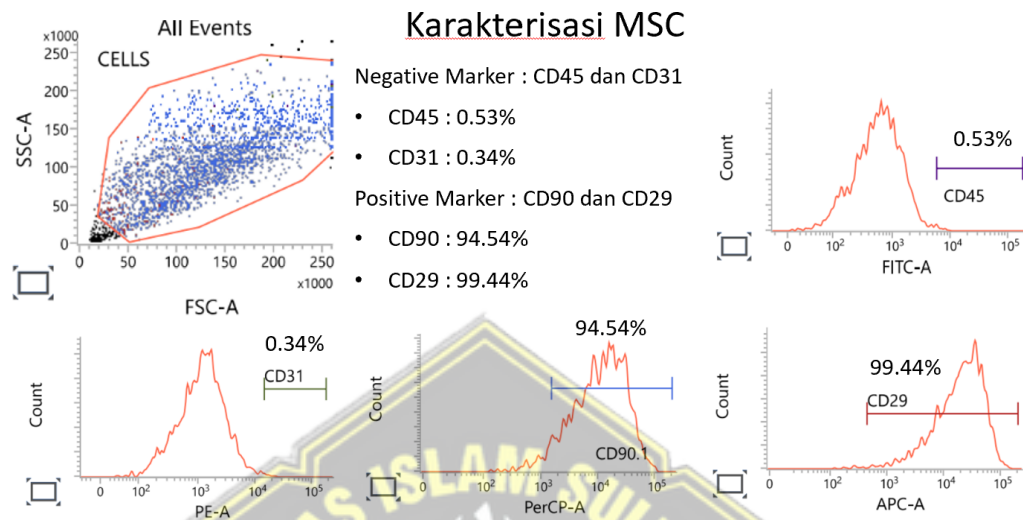
permukaan kultur (Gambar 5.3). Uji diferensiasi menunjukkan diferensiasi osteogenik yang ditandai pewarnaan *Alizarin Red* positif pada area mineralisasi (perbesaran 200×) serta diferensiasi kondrogenik yang ditandai pewarnaan *Alcian Blue* positif pada matriks proteoglikan (perbesaran 100×) (Gambar 5.3).



Gambar 5.3. Validasi UC-MSC melalui morfologi dan uji diferensiasi. Kultur UC-MSC memperlihatkan morfologi sel berbentuk *spindle/fibroblast-like* dan melekat pada permukaan kultur. Uji diferensiasi menunjukkan (i) diferensiasi osteogenik dengan pewarnaan *Alizarin Red* positif pada area mineralisasi (perbesaran 200×) dan (ii) diferensiasi kondrogenik dengan pewarnaan *Alcian Blue* positif pada matriks proteoglikan (perbesaran 100×).

Karakterisasi imunofenotipe dengan *flow cytometry* memperlihatkan ekspresi marker negatif yang sangat rendah, yaitu CD45 0,53% dan CD31 0,34%, serta ekspresi marker positif yang tinggi, yaitu CD90 94,54% dan CD29 99,44% (Gambar 5.4; Tabel 5.1). Profil ini konsisten dengan karakteristik MSC, yakni rendah pada marker hematopoietik/endotel dan

tinggi pada marker mesenkimal, sehingga UC-MSC yang digunakan dalam penelitian dinyatakan tervalidasi untuk tahap produksi secretome/intervensi.



Gambar 5.4. Karakterisasi imunofenotipe UC-MSC dengan *flow cytometry*. *Plot gating* menunjukkan populasi sel yang dianalisis, diikuti histogram ekspresi marker permukaan. UC-MSC memperlihatkan ekspresi rendah pada CD45 (0,53%) dan CD31 (0,34%) serta ekspresi tinggi pada CD90 (94,54%) dan CD29 (99,44%).

Tabel 5.1. Ringkasan hasil flow cytometry marker permukaan UC-MSC.

Kelompok marker	Marker	Hasil (%)	Interpretasi
Negatif	CD45	0,53	Rendah (non-hematopoietik)
Negatif	CD31	0,34	Rendah (non-endotel)
Positif	CD90	94,54	Tinggi (mesenkimal)
Positif	CD29	99,44	Tinggi (mesenkimal)

Ekspresi relatif gen LOR pada jaringan kulit dianalisis pada enam kelompok, dengan ringkasan statistik deskriptif yang menunjukkan bahwa rerata ekspresi LOR terendah terdapat pada K2 ($0,5340 \pm 0,3027$), sedangkan rerata tertinggi terdapat pada K6 ($5,8280 \pm 1,4793$). Secara umum, ekspresi LOR meningkat pada kelompok terapi dibanding kelompok kontrol negatif, dengan kecenderungan peningkatan seiring kenaikan dosis secretome (Tabel 5.2).

Tabel 5.2. Statistik deskriptif ekspresi relatif Loricrin (LOR) per kelompok.

Kelompok	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
K1	1.0000	0.05050	0.02258	0.93	1.06
K2	0.5340	0.30270	0.13537	0.11	0.96
K3	3.1820	1.42663	0.63801	1.77	5.46
K4	2.9900	0.97085	0.43418	1.87	4.03
K5	4.4680	0.79657	0.35624	3.84	5.78
K6	5.8280	1.47928	0.66155	4.69	8.34

Uji normalitas menggunakan Shapiro–Wilk menunjukkan seluruh kelompok memiliki sebaran data yang normal (seluruh $p > 0,05$) (Tabel 5.3).

Tabel 5.3. Uji normalitas Shapiro–Wilk ekspresi LOR.

Kelompok	Shapiro–Wilk	p-value	Interpretasi
K1	0.951	0.742	Normal
K2	0.947	0.714	Normal
K3	0.899	0.407	Normal
K4	0.855	0.210	Normal
K5	0.827	0.132	Normal
K6	0.810	0.097	Normal

Uji homogenitas varians *Levene* menunjukkan varians antar kelompok tidak homogen ($p = 0,021$) (Tabel 5.4).

Tabel 5.4. Uji homogenitas varians (Levene) ekspresi LOR.

Variabel	Levene Statistic	p-value	Interpretasi
Loricrin (LOR)	3.297	0.021	Tidak homogen

Perbedaan rerata antar kelompok dianalisis dengan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji lanjut *post hoc Tamhane*. Hasil *One-Way ANOVA* menunjukkan terdapat perbedaan rerata ekspresi LOR yang bermakna antar kelompok ($F(5,24) = 20,629$; $p < 0,001$) (Tabel 5.5).

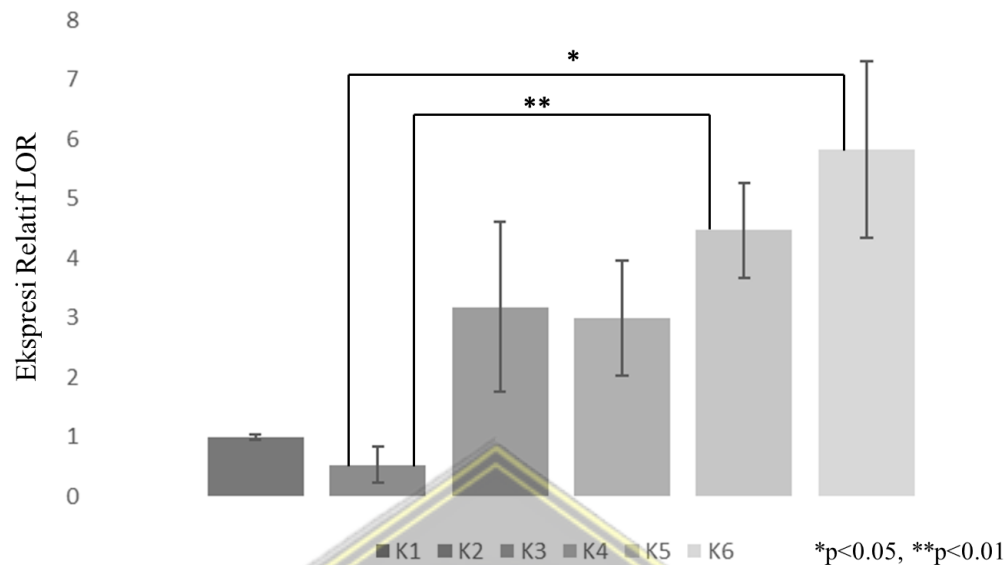
Tabel 5.5. Uji perbandingan rerata ekspresi LOR antar kelompok (One-Way ANOVA).

Sumber variasi	<i>Sum of Squares</i>	df	Mean Square	F	p-value
Antar kelompok	101.335	5	20.267	20.629	<0.001
Dalam kelompok	23.579	24	0.982		

Uji post hoc Tamhane menunjukkan perbedaan bermakna terutama antara K1 vs K5 ($p=0,009$), K1 vs K6 ($p=0,028$), serta antara K2 vs K5 ($p=0,002$) dan K2 vs K6 ($p=0,015$). Selain itu, K2 vs K4 berada pada batas signifikansi ($p=0,050$) (Tabel 5.6 dan Gambar 5.5).

Tabel 5.6. Hasil uji post hoc Tamhane untuk ekspresi LOR (* mengindikasikan $p<0,05$ bermakna).

Perbandingan	Selisih rerata (I-J)	SE	p-value
K1 vs K2	0.4660	0.13724	0.318
K1 vs K3	-2.1820	0.63841	0.334
K1 vs K4	-1.9900	0.43476	0.141
K1 vs K5	-3.4680	0.35695	0.009*
K1 vs K6	-4.8280	0.66194	0.028*
K2 vs K3	-2.6480	0.65221	0.177
K2 vs K4	-2.4560	0.45479	0.050*
K2 vs K5	-3.9340	0.38109	0.002*
K2 vs K6	-5.2940	0.67526	0.015*
K3 vs K4	0.1920	0.77173	1.000
K3 vs K5	-1.2860	0.73072	0.869
K3 vs K6	-2.6460	0.91908	0.268
K4 vs K5	-1.4780	0.56162	0.377
K4 vs K6	-2.8380	0.79131	0.128
K5 vs K6	-1.3600	0.75137	0.851



Gambar 5.5. Diagram ekspresi relatif Loricrin (LOR) per kelompok. Diagram batang menunjukkan rerata ekspresi relatif Loricrin (LOR) pada masing-masing kelompok (K1–K6). Notasi signifikansi ($p<0,05$; $*p<0,01$; $**p<0,001$) mengikuti hasil uji post hoc Tamhane.

Eksresi relatif gen FLG pada jaringan kulit dianalisis pada enam kelompok perlakuan (K1–K6; masing-masing $n=5$). Secara deskriptif, rerata ekspresi FLG terendah terdapat pada K2 ($0,5540 \pm 0,25599$), sedangkan rerata tertinggi terdapat pada K6 ($3,6420 \pm 0,75324$). Dibanding kelompok kontrol negatif (K2), kelompok terapi menunjukkan peningkatan ekspresi FLG dengan kecenderungan peningkatan seiring kenaikan dosis secretome, terutama pada K5 dan K6 (Tabel 5.7).

Tabel 5.7. Statistik deskriptif ekspresi relatif FLG per kelompok.

Kelompok	Mean	SD	SE	Minimum	Maximum
K1	1.032	0.31467	0.14073	0.81	1.53
K2	0.554	0.25599	0.11448	0.25	0.9
K3	1.564	0.64918	0.29032	0.91	2.5
K4	2.012	0.35436	0.15847	1.56	2.45
K5	3.104	1.03135	0.46123	2.13	4.5
K6	3.642	0.75324	0.33686	3.05	4.89

Uji normalitas menggunakan Shapiro–Wilk menunjukkan seluruh kelompok memiliki sebaran data normal (seluruh $p>0,05$) (Tabel 5.8), namun

uji homogenitas varians Levene menunjukkan varians antar kelompok tidak homogen ($p=0,010$) (Tabel 5.9).

Tabel 5.8. Uji normalitas (Shapiro–Wilk) ekspresi FLG.

Kelompok	Shapiro–Wilk (W)	p-value	Interpretasi
K1	0.8	0.082	Normal
K2	0.961	0.818	Normal
K3	0.923	0.55	Normal
K4	0.976	0.912	Normal
K5	0.873	0.28	Normal
K6	0.842	0.17	Normal

Tabel 5.9. Uji homogenitas varians (Levene) ekspresi FLG.

Variabel	Levene Statistic	p-value	Interpretasi
FLG	3.929	0.010	Tidak homogen

Uji One-Way ANOVA selanjutnya dilakukan dan menunjukkan terdapat perbedaan rerata ekspresi FLG yang bermakna antar kelompok ($F(5,24)=18,266$; $p<0,001$) (Tabel 5.10).

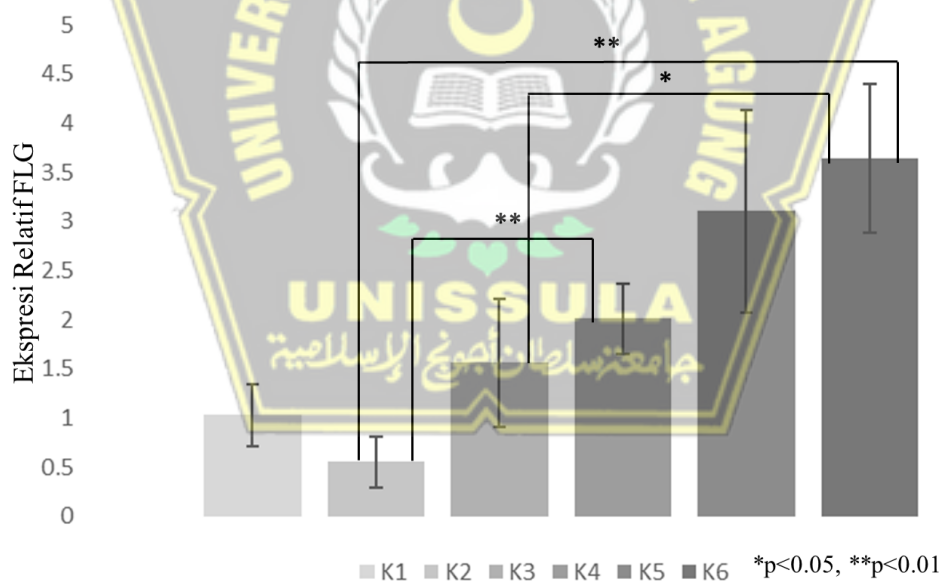
Tabel 5.10. Uji perbandingan rerata ekspresi FLG antar kelompok (One-Way ANOVA)

Sumber variasi	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p-value
Antar kelompok	35.659	5	7.132	18.266	<0.001
Dalam kelompok	9.37	24	0.39		

Analisis dilanjutkan dengan post hoc Tamhane karena varians tidak homogen dan menunjukkan perbedaan bermakna terutama antara K1 vs K4 ($p=0,026$), K1 vs K6 ($p=0,009$), K2 vs K4 ($p=0,002$), K2 vs K6 ($p=0,005$), serta K3 vs K6 ($p=0,025$) (Tabel 5.11 dan ; Gambar 5.6).

Tabel 5.11. Hasil uji post hoc Tamhane untuk ekspresi FLG (* mengindikasikan $p < 0,05$ bermakna).

Perbandingan	Selisih rerata (I-J)	SE	p-value
K1 vs K2	0.478	0.18141	0.377
K1 vs K3	-0.532	0.32263	0.916
K1 vs K4	-0.98	0.21194	0.026*
K1 vs K5	-2.072	0.48222	0.123
K1 vs K6	-2.61	0.36507	0.009*
K2 vs K3	-1.01	0.31208	0.28
K2 vs K4	-1.458	0.1955	0.002*
K2 vs K5	-2.55	0.47523	0.061
K2 vs K6	-3.088	0.35578	0.005*
K3 vs K4	-0.448	0.33076	0.977
K3 vs K5	-1.54	0.545	0.333
K3 vs K6	-2.078	0.4447	0.025*
K4 vs K5	-1.092	0.4877	0.695
K4 vs K6	-1.63	0.37227	0.077
K5 vs K6	-0.538	0.57115	0.999



Gambar 5.6. Diagram ekspresi relatif FLG per kelompok. Diagram batang menunjukkan rerata ekspresi relatif FLG pada masing-masing kelompok (K1–K6). Notasi signifikansi ($p < 0,05$; $*p < 0,01$; $**p < 0,001$) mengikuti hasil uji post hoc Tamhane.

5.2. Pembahasan Penelitian

Model iritasi menggunakan *sodium lauryl sulfate* (SLS) dipakai luas untuk menimbulkan disrupsi sawar epidermis karena SLS dapat

memperburuk fungsi sawar dan meningkatkan *transepidermal water loss* (TEWL) disertai respons inflamasi epidermal, sehingga secara fenotip dapat mereplikasi kulit kering-iritatif yang relevan dengan *xerosis*.⁸⁷ Kalibrasi biologis model *xerosis-like* juga dapat ditopang oleh perubahan biomarker diferensiasi epidermis dan integritas sawar, karena protein diferensiasi seperti filaggrin dan loricrin merupakan indikator program maturasi keratinosit yang menentukan kualitas *stratum corneum* dan kekuatan sawar.⁸⁸

Eksresi filaggrin yang lebih rendah pada kelompok *xerosis* kontrol negatif (K2) konsisten dengan konsep bahwa defisit filaggrin menurunkan pembentukan *natural moisturizing factor* (NMF) dan mengganggu hidrasi *stratum corneum*, sehingga memfasilitasi kulit kering, bersisik, dan rentan iritan.⁸⁸ Kenaikan filaggrin pada kelompok perlakuan (K3–K6) dapat diinterpretasikan sebagai pemulihan diferensiasi keratinosit menuju sawar yang lebih matang, karena peningkatan biomarker epidermal barrier sering dipakai sebagai penanda membaiknya integritas dan fungsi sawar pada kondisi kulit kering/iritatif.⁸⁹

Loricrin merupakan komponen utama *cornified envelope* yang berperan penting pada ketahanan mekanik dan stabilitas lapisan tanduk, sehingga penurunan loricrin pada kondisi sawar terganggu mencerminkan disfungsi *terminal differentiation* yang relevan dengan kulit kering-iritatif.⁹⁰ Peningkatan loricrin pada kelompok perlakuan (K3–K6) mendukung interpretasi bahwa maturasi keratinosit dan perakitan *cornified envelope*

bergerak ke arah pemulihan, yang secara biologis sejalan dengan perbaikan kualitas sawar dan resistensi terhadap stres lingkungan.^{88,90}

K2 (xerosis-like + NaCl) sebagai kontrol negatif, perbandingan antar-kelompok menunjukkan bahwa peningkatan marker diferensiasi epidermis pada kelompok terapi melampaui efek injeksi vehicle semata.⁹¹ Pada FLG, kelompok SH-MSC 100 μ L (K4) dan 300 μ L (K6) lebih tinggi bermakna dibanding K2, sedangkan K3 (HA) dan SH-MSC 200 μ L (K5) belum berbeda bermakna (Tabel 5.11), konsisten dengan peran FLG sebagai komponen kunci barier stratum korneum yang bila menurun berasosiasi dengan meningkatnya kehilangan air transepidermal dan kulit kering.⁹² Pada LOR, peningkatan terhadap K2 bermakna pada K5 dan K6, sementara K4 berada pada batas signifikansi dan K3 tidak berbeda bermakna (Tabel 5.6), selaras dengan konsep bahwa pemulihan protein cornified envelope (termasuk LOR) mencerminkan perbaikan terminal differentiation dan penguatan barier kulit.^{91,92} Secara mekanistik, temuan ini sejalan dengan bukti pra-klinik bahwa MSC/MSC-EV (sebagai komponen sekretom) dapat memperbaiki fungsi barier dan meningkatkan ekspresi protein diferensiasi epidermis seperti FLG dan LOR pada model dermatitis/kerusakan barier dibanding kelompok vehicle melalui efek imunomodulator dan regeneratif.^{91,93} Sementara itu, HA dapat memodulasi proses diferensiasi keratinosit melalui interaksi dengan reseptor CD44 dan pada kondisi tertentu meningkatkan profilaggrin/filaggrin, sehingga efek HA cenderung lebih dominan pada hidrasi/dukungan barier awal yang dapat menjelaskan mengapa K3 tidak

selalu menunjukkan kenaikan marker sebesar kelompok SH-MSC pada model ini.⁹⁴

HA berkaitan dengan fungsi sawar melalui sumbu reseptor CD44 yang memengaruhi proliferasi dan diferensiasi keratinosit serta komponen lipid sawar, sehingga HA dapat diposisikan sebagai pembanding biologis yang relevan pada pendekatan perbaikan kulit kering.⁹⁵ Bukti eksperimental juga menunjukkan *low-molecular-weight hyaluronan* dapat mendorong sintesis filaggrin pada model keratinosit, sehingga masuk akal bila K3 memperlihatkan arah perbaikan biomarker diferensiasi epidermis.⁹⁶ Peran HA dalam regenerasi kulit dan perbaikan jaringan juga ditopang literatur *wound healing* yang menempatkan HA dan turunannya sebagai matriks bioaktif yang memodulasi migrasi sel, remodeling, dan sinyal perbaikan.⁹⁷

UC-MSC *secretome* merupakan terapi *cell-free* yang membawa campuran faktor pertumbuhan, sitokin, dan EVs yang dapat meningkatkan aktivitas proliferasi/migrasi keratinosit, mendukung angiogenesis, dan menekan inflamasi, sehingga relevan untuk mendorong pemulihan struktur kulit dan sawar.⁹⁸ Literatur EVs dari MSC juga menegaskan potensi EVs sebagai mediator pro-regeneratif yang memfasilitasi interaksi antar sel pada perbaikan jaringan kulit, sehingga peningkatan filaggrin dan loricrin pada kelompok K4–K6 dapat diposisikan sebagai keluaran hilir dari dukungan parakrin yang memperbaiki *keratinocyte differentiation program*.⁹⁹

Kondisi *hypoxia preconditioning* pada MSC dilaporkan meningkatkan sekresi faktor trofik, termasuk faktor pro-angiogenik seperti VEGF, sehingga

masuk akal bila peningkatan dosis *hypoxia secretome* berpotensi memperkuat sinyal perbaikan jaringan secara bertahap.¹⁰⁰ Data literatur pada model *hypoxia-preconditioned secretome* juga menunjukkan keberlimpahan VEGF dan IL-10 pada produk sekretom serta asosiasi dengan peningkatan angiogenesis jaringan, sehingga pola kenaikan biomarker sawar pada K4–K6 dapat dijelaskan melalui kombinasi dukungan vaskular/perbaikan mikro-lingkungan dan modulasi inflamasi.¹⁰¹ Bukti klinis dan pra-klinis menempatkan VEGF sebagai mediator kunci percepatan penyembuhan luka dan perbaikan jaringan, sedangkan IL-10 berperan pada resolusi inflamasi dan transisi ke fase perbaikan, sehingga keduanya relevan sebagai kerangka biologis untuk menjelaskan perbaikan diferensiasi epidermis pada kelompok sekretom.¹⁰²

Loricrin (LOR) merepresentasikan komponen utama *cornified envelope* yang terkait erat dengan fase *cornification* dan pematangan struktur *stratum corneum*, sehingga perubahan LOR sering mencerminkan perubahan “kualitas maturasi” diferensiasi terminal keratinosit pada proses pemulihan sawar¹⁰³. Filaggrin (FLG) memiliki fungsi ganda sebagai pengatur agregasi filamen keratin dan prekursor komponen hidrasi melalui *natural moisturizing factor* (NMF), sehingga respons FLG lebih sensitif terhadap dinamika inflamasi–hidrasi–pemrosesan profilaggrin dan tidak selalu paralel dengan LOR pada setiap fase perbaikan¹⁰⁴. Pola peningkatan LOR yang tampak lebih tegas dibanding FLG dapat dijelaskan sebagai “pemulihan struktural” *cornified envelope* yang terjadi lebih dominan pada fase remodeling,

sedangkan FLG mencerminkan pemulihan sawar yang juga bergantung pada keseimbangan inflamasi dan lingkungan mikro yang memengaruhi pematangan serta degradasi protein *stratum corneum* ¹⁰⁵.

Pada penelitian ini, ekspresi FLG dan LOR diukur dengan qPCR relatif (fold-change), sehingga “nilai normal” operasional paling tepat direpresentasikan oleh kelompok sehat (K1) sebagai baseline (≈ 1) dan bukan rentang angka baku universal lintas laboratorium.¹⁰⁶ Secara biologis, filaggrin diekspresikan kuat pada stratum granulosum dan berperan penting dalam pembentukan natural moisturizing factor serta fungsi sawar kulit, sedangkan loricrin merupakan protein struktural utama cornified envelope (sekitar $\sim 70\%$ massa), sehingga peningkatan ekspresi keduanya umumnya sejalan dengan pemulihan terminal differentiation dan penguatan barrier.⁸⁰ K6 menunjukkan ekspresi yang jauh lebih tinggi dibanding K1 (LOR $5,828 \pm 1,479$ vs $1,000 \pm 0,051$; FLG $3,642 \pm 0,753$ vs $1,032 \pm 0,315$), dan pola ini lebih konsisten ditafsirkan sebagai augmentasi/perbaikan program diferensiasi epidermis setelah kondisi *xerosis-like* terutama karena pada gangguan barrier dan inflamasi kulit, ekspresi FLG dan LOR sering diturunkan (downregulated) oleh jalur sitokin seperti IL-4/IL-13.¹⁰⁷

Peningkatan FLG maupun LOR dipandang protektif (karena keduanya merupakan protein diferensiasi terminal atau *barrier*), dan problem klinis yang paling klasik justru adalah penurunan FLG/LOR pada kondisi inflamasi tipe 2 seperti dermatitis atopik.⁸⁰ Kenaikan FLG dan LOR tidak otomatis berbahaya, tetapi kenaikan ekstrem berpotensi berkaitan dengan perubahan

dinamika diferensiasi/perbaikan barrier dan sebaiknya diinterpretasikan bersama luaran lain seperti TEWL, hidrasi, histologi, dan proliferasi.⁸⁰ Overekspresi loricrin $\sim 2\times$ pada tikus transgenik dilaporkan memberi fenotipe normal (tidak mengganggu fungsi/struktur epitel pada studi Yoneda *et al.*¹⁰⁸ Overekspresi filaggrin pada epidermis suprabasal dilaporkan dapat menunda barrier repair setelah kerusakan barrier.¹⁰⁹

Ekspresi marker diferensiasi yang melampaui kontrol normal dapat dipahami sebagai fenomena fase perbaikan aktif, karena kerusakan superfisial epidermis mampu memicu respons adaptif yang meningkatkan ekspresi gen terkait *cornification* melalui jalur regulasi stres seperti NRF2 yang berkoordinasi dengan loricrin dalam pematangan *stratum corneum*¹⁰³. Lingkungan parakrin yang kaya mediator regeneratif dari *mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles* (MSC-EVs) juga dilaporkan mendukung seluruh tahapan *wound healing* seperti anti-inflamasi, proliferasi/migrasi keratinosit, *re-epithelialization*, remodeling matriks, dan angiogenesis, sehingga ekspresi gen diferensiasi epidermis dapat meningkat sebagai bagian dari percepatan remodeling sawar pasca-insult¹¹⁰. Kerangka *skin barrier-inflammation interplay* menempatkan pemulihan sawar sebagai proses dinamis yang dapat menunjukkan “overshoot sementara” pada marker diferensiasi ketika inflamasi mereda dan program diferensiasi terminal kembali dominan, terutama saat sinyal perbaikan jaringan (growth factors/EV cargo) masih tinggi pada fase regenerasi¹¹¹.

Limitasi pada penelitian ini antara lain: (i) Hasil filaggrin dan loricrin pada penelitian ini masih berada pada level ekspresi gen (*mRNA*), sehingga peningkatan ekspresi belum otomatis bermakna peningkatan kadar protein dan pematangan struktur *stratum corneum* secara langsung. (ii) Keterbatasan lain terletak pada belum adanya pengukuran fungsi sawar kulit yang objektif (TEWL/hidrasi) dan karakterisasi produk *cell-free* yang lebih luas (*mis.* parameter *potency* dan komponen *extracellular vesicles*), sehingga kekuatan inferensi mekanistik dan reproduibilitas batch belum dapat dikunci secara maksimal.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Ekspresi filaggrin pada kulit tikus model *xerosis-like* yang mendapat injeksi intradermal SH-MSCs meningkat pada kelompok perlakuan dibanding kontrol negatif, dengan kecenderungan peningkatan seiring kenaikan dosis dari 100 μ L, 200 μ L, hingga 300 μ L.
2. Ekspresi loricrin pada kulit tikus model *xerosis-like* yang mendapat injeksi intradermal SH-MSCs meningkat pada kelompok perlakuan dibanding kontrol negatif, dengan kecenderungan peningkatan yang lebih nyata pada dosis menengah hingga tinggi.
3. Dosis injeksi intradermal SH-MSCs yang paling optimal dalam mempengaruhi ekspresi filaggrin dan loricrin pada model *xerosis-like* adalah 300 μ L, karena dosis ini memberikan nilai rerata ekspresi tertinggi pada kedua marker dan menunjukkan perbedaan yang paling konsisten dibanding kontrol negatif.

6.2. Saran

1. Penelitian lanjutan dapat menambahkan konfirmasi level protein filaggrin/loricrin menggunakan *immunohistochemistry* atau *western blot* agar hubungan ekspresi gen dengan pembentukan *cornified envelope* dan pemulihan sawar menjadi lebih kuat.

2. Penelitian lanjutan dapat menambahkan luaran fungsi sawar (*mis.* TEWL/hidrasi) serta memperluas standardisasi/karakterisasi produk sekretom/*extracellular vesicles* sesuai rekomendasi MISEV2023 agar interpretasi efek biologis lebih konsisten lintas batch.



DAFTAR PUSTAKA

1. Görög A, Bánvölgyi A, Holló P. Characteristics of the ageing skin, xerosis cutis and its complications. *Developments in Health Sciences*. 2022 Jul 5;4(4):77–80.
2. Yao D, Gong X, Ma Y, Gong T, Wang G. The prevalence and interventions of xerosis cutis among older adults: A systematic review and meta-analysis. *Geriatr Nurs (Minneap)*. 2023 Nov;54:219–28.
3. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, Kersch M, Itschert G, Dippel M, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2019 Nov 18;17(S7):3–33.
4. Völzer B, El Genedy-Kalyoncu M, Fastner A, Tomova-Simitchieva T, Neumann K, Sill J, et al. Prevalence and associations of xerosis cutis, incontinence-associated dermatitis, skin tears, pressure ulcers, and intertrigo in aged nursing home residents: A representative prevalence study. *Int J Nurs Stud*. 2023 May;141:104472.
5. Damayanti, Astindari, Indranarum T, Mappamasing H, Hadiwidjaja FN, Axelia PG. Knowledge Improvement of Xerosis Cutis through Health Education in the Elderly. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2022 Nov 30;34(3):174–7.
6. Prabowo Y, Ariani T. Retrospective Study: Characteristics Of Skin Disease In Geriatric Patients At The Dermatology Venereology Department Of Dr. M. Djamil Padang Hospital During 2016-2018. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2019 Apr 12;19(1):1–4.
7. Mekić S, Jacobs LC, Gunn DA, Mayes AE, Ikram MA, Pardo LM, et al. Prevalence and determinants for xerosis cutis in the middle-aged and elderly population: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol*. 2019 Oct;81(4):963-969.e2.
8. Damayanti, Putri NS, Triesayuningtyas DC, Firdausi H, Astindari, Indranarum T, et al. The Correlation between Comorbid Factors and Xerosis Cutis in Elderly. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists [Internet]*. 2023 Jul 2;33(2):507–12. Available from: <https://www.jpadd.com.pk/index.php/jpad/article/view/2084>
9. Lumban Gaol L, Purba A, Diposarosa R, Pratiwi Y. Role of Hypoxic Secretome from Mesenchymal Stem Cells in Enhancing Tissue Repair: Regulatory Effects on HIF-1 α , VEGF, and Fibroblast in a Sphincterotomy Rat Model. *J Inflamm Res*. 2024 Oct;Volume 17:7463–84.

10. Zare S, Jafarzadeh A, Zare S, Shamloo A. Exploring the dermatological applications of human mesenchymal stem cell secretome: a comprehensive review. *Stem Cell Res Ther.* 2025 Apr 12;16(1):177.
11. Shin KO, Ha DH, Kim JO, Crumrine DA, Meyer JM, Wakefield JS, et al. Exosomes from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Epidermal Barrier Repair by Inducing de Novo Synthesis of Ceramides in Atopic Dermatitis. *Cells.* 2020 Mar 10;9(3):680.
12. Alinda MD, Christopher PM, Listiawan MY, Endaryanto A, Suroto H, Rantam FA, et al. Comparative efficacy of topical Adipocyte-derived Mesenchymal Stem Cells-Conditioned Medium (ADMSC-CM) and Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cells-Conditioned Medium (AMSC-CM) on chronic plantar ulcers in leprosy: a randomized controlled trial. *Bali Medical Journal.* 2021 Dec 10;10(3):958–63.
13. Kim SY, Yoon TH, Na J, Yi SJ, Jin Y, Kim M, et al. Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles Derived from Canine Adipose Tissue Ameliorates Inflammation, Skin Barrier Function and Pruritus by Reducing JAK/STAT Signaling in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 27;23(9):4868.
14. Kim J, Lee SK, Jung M, Jeong SY, You H, Won JY, et al. Extracellular vesicles from IFN- γ -primed mesenchymal stem cells repress atopic dermatitis in mice. *J Nanobiotechnology.* 2022 Dec 10;20(1):526.
15. Koudounas S, Minematsu T, Mugita Y, Nakai A, Tobe H, Takizawa C, et al. Bacterial invasion into the epidermis of rats with sodium lauryl sulphate-irritated skin increases damage and induces incontinence-associated dermatitis. *Int Wound J.* 2023 Jan 2;20(1):191–200.
16. Damayanti, Astindari, Indranarum T, Mappamasing H, Hadiwidjaja FN, Axelia PG. Knowledge Improvement of Xerosis Cutis through Health Education in the Elderly. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin.* 2022 Nov 30;34(3):174–7.
17. Zukhiroh Z, Putra A, Chodidjah C, Sumarawati T, Subchan P, Trisnadi S, et al. Effect of Secretome-Hypoxia Mesenchymal Stem Cells on Regulating SOD and MMP-1 mRNA Expressions in Skin Hyperpigmentation Rats. *Open Access Maced J Med Sci.* 2022 Dec 15;10(A):1–7.
18. Pang QQ, Noh BW, Park HS, Kim YS, Kim JH, Cho EJ. Improvement Effect of Membrane-Free Stem Cell Extract on Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice. *Applied Sciences.* 2023 Apr 3;13(7):4542.
19. Lin TY, Chang TM, Tsai WC, Hsieh YJ, Wang LT, Huang HC. Human Umbilical Cord Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Reduce Skin Inflammation In Vitro. *Int J Mol Sci.* 2023 Dec 4;24(23):17109.

20. Wikanta ET, Subchan P, Putra A. The Effect of Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) Cream on IL-6 Gene Expression (In Vivo Study on Psoriasis-like Rats Model Induced by SH-MSCs). *International Journal of Multidisciplinary Research and Analysis*. 2023 Mar 25;06(03).
21. Dirja BT, Wardoyo EH, Putra A, Amalina ND. Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic Mesenchymal Stem Cells' Secretome: IL-10 Upregulation and TNF- α /PGE2 Suppression. *Trends in Sciences*. 2024 Sep 30;21(10):8288.
22. Lumban Gaol L, Purba A, Diposarosa R, Pratiwi Y. Role of Hypoxic Secretome from Mesenchymal Stem Cells in Enhancing Tissue Repair: Regulatory Effects on HIF-1 α , VEGF, and Fibroblast in a Sphincterotomy Rat Model. *J Inflamm Res*. 2024 Oct; Volume 17:7463–84.
23. Dirja BT, Wardoyo EH, Putra A, Amalina ND. Enhanced Third Degree Burn Wound Healing by Hypoxic Mesenchymal Stem Cells' Secretome: IL-10 Upregulation and TNF- α /PGE2 Suppression. *Trends in Sciences*. 2024 Sep 30;21(10):8288.
24. Dirja BT, Putra A, Amalina ND. Mesenchymal stem cell-derived secretome accelerates third-degree burn wound healing: Effects on proliferation, angiogenesis, and fibrosis regulation. *Narra J*. 2025 May 19;5(2):e1828.
25. Kim JW, Lee H, Lee JM, Kim JC. Hypoxic conditioning induced by CoCl₂ enhanced the therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on oxazolone-induced atopic dermatitis-like skin lesions. 2024.
26. Yanti EL, Harlisa P, Zulaikhah ST. The Effect of Cucumber (*Cucumis sativus*) Extract Cream on VEGF and IL-10 in Xerotic Rats. *Medical Laboratory Technology Journal*. 2025 Dec 9;11(2):157–69.
27. Kim Y, Lim KM. Skin barrier dysfunction and filaggrin. *Arch Pharm Res*. 2021 Jan 18;44(1):36–48.
28. Kezic S, Jakasa I. Filaggrin and Skin Barrier Function. In 2016. p. 1–7.
29. Rerknimitr P, Otsuka A, Nakashima C, Kabashima K. Skin Barrier Function and Atopic Dermatitis. *Curr Dermatol Rep*. 2018 Dec 3;7(4):209–20.
30. Hooper JK, Eggink LL. The Discovery and Function of Filaggrin. *Int J Mol Sci*. 2022 Jan 27;23(3):1455.
31. Irvine AD. Crossing Barriers; Restoring Barriers? Filaggrin Protein Replacement Takes a Bow. *Journal of Investigative Dermatology*. 2014 Feb;134(2):313–4.

32. Ishitsuka Y, Roop DR. Loricrin at the Boundary between Inside and Outside. *Biomolecules*. 2022 May 6;12(5):673.
33. Koch PJ, de Viragh PA, Scharer E, Bundman D, Longley MA, Bickenbach J, et al. Lessons from loricrin-deficient mice: compensatory mechanisms maintaining skin barrier function in the absence of a major cornified envelope protein. *J Cell Biol*. 2000 Oct 16;151(2):389–400.
34. Lee AY. Molecular Mechanism of Epidermal Barrier Dysfunction as Primary Abnormalities. *Int J Mol Sci*. 2020 Feb 11;21(4).
35. Ishitsuka Y, Roop DR. Loricrin: Past, Present, and Future. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 25;21(7):2271.
36. Nithya S, Radhika T, Jeddy N. Loricrin - an overview. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2015;19(1):64.
37. Furue M. Regulation of Filaggrin, Loricrin, and Involucrin by IL-4, IL-13, IL-17A, IL-22, AHR, and NRF2: Pathogenic Implications in Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci*. 2020 Jul 29;21(15):5382.
38. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*. 1991 Sep 18;9(5):641–50.
39. Silvana S, Japardi I, Rusda M, Dauly RS, Putra A, Mangunatmadja I, et al. Secretome from hypoxic mesenchymal stem cells as a potential therapy for ischemic stroke: Investigations on VEGF and GFAP expression. *Narra J*. 2024 Dec;4(3):e1181.
40. Zhuo H, Chen Y, Zhao G. Advances in application of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Front Cell Dev Biol*. 2024;12:1446050.
41. 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 Sep;27:98–112.
42. Liu L, Yu Q, Lin J, Lai X, Cao W, Du K, et al. Hypoxia-Inducible Factor-1 α Is Essential for Hypoxia-Induced Mesenchymal Stem Cell Mobilization into the Peripheral Blood. *Stem Cells Dev*. 2011 Nov;20(11):1961–71.
43. Sazli BI, Lindarto D, Hasan R, Putra A, Pranoto A, Sembiring RJ, et al. Secretome of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells Enhance Angiogenesis in Diabetic Rats with Peripheral Artery Disease. *Med Arch*. 2023 Apr;77(2):90–6.

44. Lee J, Yoon Y, Lee S. Hypoxic Preconditioning Promotes the Bioactivities of Mesenchymal Stem Cells via the HIF-1 α -GRP78-Akt Axis. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 21;18(6):1320.
45. Xu Z, Lin L, Fan Y, Huselstein C, De Isla N, He X, et al. Secretome of Mesenchymal Stem Cells from Consecutive Hypoxic Cultures Promotes Resolution of Lung Inflammation by Reprogramming Anti-Inflammatory Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2022 Apr 14;23(8):4333.
46. Levin J, Friedlander SF, Del Rosso JQ. Atopic dermatitis and the stratum corneum: part 1: the role of filaggrin in the stratum corneum barrier and atopic skin. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2013 Oct;6(10):16–22.
47. Baek J, Kim JH, Park J, Kim DH, Sa S, Han JS, et al. 1-Kestose Blocks UVB-Induced Skin Inflammation and Promotes Type I Procollagen Synthesis via Regulating MAPK/AP-1, NF- κ B and TGF- β /Smad Pathway. *J Microbiol Biotechnol.* 2024 Apr 28;34(4):911–9.
48. Gupta S, Rawat S, Krishnakumar V, Rao EP, Mohanty S. Hypoxia preconditioning elicit differential response in tissue-specific MSCs via immunomodulation and exosomal secretion. *Cell Tissue Res.* 2022 Jun 22;388(3):535–48.
49. Yasan GT, Gunel-Ozcan A. Hypoxia and Hypoxia Mimetic Agents As Potential Priming Approaches to Empower Mesenchymal Stem Cells. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2024 Jan;19(1):33–54.
50. Vizoso F, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *Int J Mol Sci.* 2017 Aug 25;18(9):1852.
51. Haraszti RA, Miller R, Stoppato M, Sere YY, Coles A, Didiot MC, et al. Exosomes Produced from 3D Cultures of MSCs by Tangential Flow Filtration Show Higher Yield and Improved Activity. *Molecular Therapy.* 2018 Dec;26(12):2838–47.
52. Kim JW, Lee H, Lee JM, Kim JC. Hypoxic conditioning induced by CoCl₂ enhanced the therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived exosomes on oxazolone-induced atopic dermatitis-like skin lesions. 2024.
53. Koch PJ, de Viragh PA, Scharer E, Bundman D, Longley MA, Bickenbach J, et al. Lessons from loricerin-deficient mice: compensatory mechanisms maintaining skin barrier function in the absence of a major cornified envelope protein. *J Cell Biol.* 2000 Oct 16;151(2):389–400.
54. Leoty-Okombi S, Gillaizeau F, Leuillet S, Douillard B, Le Fresne-Languille S, Carton T, et al. Effect of Sodium Lauryl Sulfate (SLS) Applied as a Patch

- on Human Skin Physiology and Its Microbiota. *Cosmetics*. 2021 Jan 6;8(1):6.
55. Shen Y, Ye Y, Wang L, Hu H, Wang C, Wu Y, et al. Study of the Repair Action and Mechanisms of a Moisturizing Cream on an SLS-Damaged Skin Model Using Two-Photon Microscopy. *Cosmetics*. 2025 Jun 10;12(3):119.
 56. Koudounas S, Minematsu T, Mugita Y, Nakai A, Tobe H, Takizawa C, et al. Bacterial invasion into the epidermis of rats with sodium lauryl sulphate-irritated skin increases damage and induces incontinence-associated dermatitis. *Int Wound J*. 2023 Jan 2;20(1):191–200.
 57. Danby SG, Brown K, Wigley AM, Chittock J, Pyae PK, Flohr C, et al. The Effect of Water Hardness on Surfactant Deposition after Washing and Subsequent Skin Irritation in Atopic Dermatitis Patients and Healthy Control Subjects. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018 Jan;138(1):68–77.
 58. Chen J, Liu C, Yang Y, Gong X, Qian H. The stratum corneum barrier: impaired function in relation to associated lipids and proteins. *Tissue Barriers*. 2025 Apr 3;13(2).
 59. Amin R, Lechner A, Vogt A, Blume-Peytavi U, Kottner J. Molecular characterization of xerosis cutis: A systematic review. *PLoS One*. 2021 Dec 16;16(12):e0261253.
 60. Görög A, Bánvölgyi A, Holló P. Characteristics of the ageing skin, xerosis cutis and its complications. *Developments in Health Sciences*. 2022 Jan 12;4(4):77–80.
 61. Fluhr JW, Muguet V, Christen-Zaech S. Restoring Skin Hydration and Barrier Function: Mechanistic Insights Into Basic Emollients for Xerosis Cutis. *Int J Dermatol*. 2025 Jun 15;64(S1):5–12.
 62. Mekić S, Jacobs LC, Gunn DA, Mayes AE, Ikram MA, Pardo LM, et al. Prevalence and determinants for xerosis cutis in the middle-aged and elderly population: A cross-sectional study. *J Am Acad Dermatol*. 2019 Oct;81(4):963-969.e2.
 63. Yulisa D, Menaldi SL. Perawatan Kulit Kering pada Lansia. *eJournal Kedokteran Indonesia*. 2023 May 31;86.
 64. Narauskaitė D, Vydmantaitė G, Rusteikaitė J, Sampath R, Rudaitytė A, Stašytė G, et al. Extracellular Vesicles in Skin Wound Healing. *Pharmaceuticals*. 2021 Aug 18;14(8):811.
 65. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, Kerscher M, Itschert G, Dippel M, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG*:

- Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 2019 Nov 18;17(S7):3–33.
66. Baker P, Huang C, Radi R, Moll SB, Jules E, Arbiser JL. Skin Barrier Function: The Interplay of Physical, Chemical, and Immunologic Properties. *Cells*. 2023 Nov 30;12(23):2745.
 67. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, Kerscher M, Itschert G, Dippel M, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2019 Nov 18;17(S7):3–33.
 68. Augustin M, Wilsmann-Theis D, Körber A, Kerscher M, Itschert G, Dippel M, et al. Diagnosis and treatment of xerosis cutis – a position paper. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2019 Nov 18;17(S7):3–33.
 69. Moniaga CS, Tominaga M, Takamori K. Mechanisms and Management of Itch in Dry Skin. *Acta Derm Venereol*. 2020 Jan 15;100(2):adv00024.
 70. Barthe M, Clerbaux LA, Thénot JP, Braud VM, Osman-Ponchet H. Systematic characterization of the barrier function of diverse ex vivo models of damaged human skin. *Front Med (Lausanne)*. 2024 Dec 4;11.
 71. Niczyporuk M. Rat skin as an experimental model in medicine. *Progress in Health Sciences*. 2018 Dec 31;8(2):223–8.
 72. Li F, Nakanishi Y, Murata K, Shinguchi K, Fujita N, Chiba S, et al. Coix Seed Extract Prevents Inflammation-mediated Skin Dryness Induced by Sodium Dodecyl Sulfate Exposure in HR-1 Hairless Mice. *Planta Medica International Open*. 2022 Jun 30;9(01):e108–15.
 73. Leoty-Okombi S, Gillaizeau F, Leuillet S, Douillard B, Le Fresne-Languille S, Carton T, et al. Effect of Sodium Lauryl Sulfate (SLS) Applied as a Patch on Human Skin Physiology and Its Microbiota. *Cosmetics*. 2021 Jan 6;8(1):6.
 74. Koudounas S, Minematsu T, Mugita Y, Nakai A, Tobe H, Takizawa C, et al. Bacterial invasion into the epidermis of rats with sodium lauryl sulphate-irritated skin increases damage and induces incontinence-associated dermatitis. *Int Wound J*. 2023 Jan 2;20(1):191–200.
 75. Chen Y, Ye X, Escames G, Lei W, Zhang X, Li M, et al. The NLRP3 inflammasome: contributions to inflammation-related diseases. *Cell Mol Biol Lett*. 2023 Jun 27;28(1):51.
 76. Singh D, Rai V, Agrawal DK. Regulation of Collagen I and Collagen III in Tissue Injury and Regeneration. *Cardiol Cardiovasc Med*. 2023;7(1):5–16.

77. Mei-Hsia Chan M, Tan LS, Leow YH, Goon ATJ, Goh CL. Comparison of Irritancy Potential of Sodium Lauryl Sulfate-free Aqueous Cream to Other Moisturizers: An Intraindividual Skin Occlusive Study. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2019 Jul;12(7):52–8.
78. Yamamura Y, Nakashima C, Otsuka A. Interplay of cytokines in the pathophysiology of atopic dermatitis: insights from Murin models and human. *Front Med (Lausanne)*. 2024 Mar 25;11.
79. Averill-Bates D. Reactive oxygen species and cell signaling. Review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2024 Feb;1871(2):119573.
80. Kustyah AR, Fatimah N, Rizkiyani EM, Ramadhanti OW, Istiqomah DAF, Hidayah N, et al. Hypoxia Precondition Enhance the Therapeutic Effects of Mesenchymal Stem Cells via regulating TGF- β 1 and IL-10 serial expression in Skin Excision Rat Models. *International Journal of Cell and Biomedical Science*. 2022 Apr 22;1(1):2–9.
81. González-González A, García-Sánchez D, Dotta M, Rodríguez-Rey JC, Pérez-Campo FM. Mesenchymal stem cells secretome: The cornerstone of cell-free regenerative medicine. *World J Stem Cells*. 2020 Dec 26;12(12):1529–52.
82. Ishak S, Chorunissa R, Agystiawan, Purnama Y. Metodologi Penelitian Kesehatan. Vol. viii. Bandung: Media Sains Indonesia; 2023. 263–264 p.
83. Malewicz-Oeck NM, Zhang Z, Shimada SG, LaMotte RH. Itch and Pain Behaviors in Irritant Contact Dermatitis Produced by Sodium Lauryl Sulfate in Mice. *Int J Mol Sci*. 2024 Jul 1;25(14).
84. Sommer R, Augustin M, da Silva N, von Stülpnagel CC. Development and validation of an outcome instrument measuring dry skin – the Xerosis Area and Severity Index (XASI). Vol. 36, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. e70–2.
85. Teramura T, Nomura T. Acute skin barrier disruption alters the secretion of lamellar bodies via the multilayered expression of ABCA12. *J Dermatol Sci*. 2020 Oct;100(1):50–7.
86. Chen J, Liu C, Yang Y, Gong X, Qian H. The stratum corneum barrier: impaired function in relation to associated lipids and proteins. *Tissue Barriers*. 2025 Apr 3;13(2).
87. de Boer FL, van der Molen HF, Kezic S. Epidermal biomarkers of the skin barrier in atopic and contact dermatitis. *Contact Dermatitis*. 2023 Oct 12;89(4):221–9.

88. Xu B, Wang Y, Ren J. Moisturizer Based on Multi-Targeted Skin Barrier Repair Conception: Evidence From In Vitro and Clinical Evaluations. *Int J Dermatol*. 2025 Dec 17;64(S2):33–41.
89. Thonthula S, Sousa S De, Dubuis A, Boudah S, Mehta R, Singh A, et al. Improved Skin Barrier Function Along with Hydration Benefits of *Viola yedoensis* Extract, Aesculin, and Schaftoside and LC-HRMS/MS Dereplication of Its Bio-Active Components. *Int J Mol Sci*. 2024 Nov 27;25(23):12770.
90. Hashimoto M, Maeda K. New Functions of Low-Molecular-Weight Hyaluronic Acid on Epidermis Filaggrin Production and Degradation. *Cosmetics*. 2021 Dec 16;8(4):118.
91. Shang L, Li M, Xu A, Zhuo F. Recent applications and molecular mechanisms of hyaluronic acid in skin aging and wound healing. *Med Nov Technol Devices*. 2024 Sep;23:100320.
92. Li X, Zhang D, Yu Y, Wang L, Zhao M. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell secretome promotes skin regeneration and rejuvenation: From mechanism to therapeutics. *Cell Prolif*. 2024 Apr 26;57(4).
93. Tsiapalis D, O'Driscoll L. Mesenchymal Stem Cell Derived Extracellular Vesicles for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications. *Cells*. 2020 Apr 16;9(4):991.
94. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. *Tissue Eng Part B Rev*. 2022 Oct 11;28(5):966–77.
95. Sazli B, Lindarto D, Hasan R, Putra A, Pranoto A, Sembiring R, et al. Secretome of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells Enhance Angiogenesis in Diabetic Rats with Peripheral Artery Disease. *Medical Archives*. 2023;77(2):90.
96. Bang FS, Leeberg V, Ding M, Dreyer CH. The effect of <sc>VEGF</sc> stimulation in diabetic foot ulcers: A systematic review. *Wound Repair and Regeneration*. 2024 Jul 17;32(4):384–92.
97. Ishitsuka Y, Roop DR. Loricrin at the Boundary between Inside and Outside. *Biomolecules*. 2022 May 6;12(5):673.
98. van Mierlo MMF, Caspers PJ, Jansen MS, Puppels GJ, Nouwen AEM, Bronner MB, et al. Natural moisturizing factor as a biomarker for filaggrin mutation status in a multi-ethnic paediatric atopic dermatitis cohort. *Clinical & Experimental Allergy*. 2021 Nov 28;51(11):1510–3.

99. Stefanovic N, Irvine AD. Filaggrin and beyond. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2024 Feb;132(2):187–95.
100. Ding JY, Chen MJ, Wu LF, Shu GF, Fang SJ, Li ZY, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in skin wound healing: roles, opportunities and challenges. *Mil Med Res*. 2023 Aug 17;10(1):36.
101. Baker P, Huang C, Radi R, Moll SB, Jules E, Arbiser JL. Skin Barrier Function: The Interplay of Physical, Chemical, and Immunologic Properties. *Cells*. 2023 Nov 30;12(23):2745.

