

PENGARUH *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM*

CELLS (SH-MSCs) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD

(Studi Eksperimental *In vivo* pada Mencit Betina Galur C57BL/6 yang
Diinduksi *Dexamethasone*)

TESIS

Untuk memenuhi sebagai persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Abrilia Octafijayanti

MBK 2424010496

PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2026

TESIS
PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (SH-MSCs)
TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD PADA MENCIT BETINA GALUR C57BL/6
MODEL SARCOPENIA

(Studi Eksperimental *In Vivo* pada Mencit Betina Galur C57BL/6 yang diinduksi
Dexamethasone)

Disusun oleh:

Abrilia Octafijayanti
MBK.24.24.010496


telah dipertahankan Tim Penguji pada tanggal 16 Februari 2026 dan
dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


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


Dr. dr. Eko Setiawan, SpB. FINACS.

NIK. 220 198 045

NIK. 210 113 160

Mengetahui,

Ketua program studi Magister Ilmu Biomedik

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



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


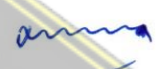



NIK. 210 198 046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis dengan Judul "PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL *STEM CELLS* (SH-MSCs) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD (Studi Eksperimental *In Vivo* pada Mencit Betina Galur C57BL/6 yang Diinduksi Dexamethasone)" ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Senin

Tanggal : 16 Februari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji I	
2.	Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H.M.H, Sp.KF, M.Ce, Adv.	Penguji II	
3.	Dr. dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes	Penguji II	
4.	Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Sumarawati, M.Kes	Pembimbing I	
5.	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	Pembimbing II	

SURAT PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan Lembaga pendidikan lainnya. Sumber pengetahuan yang diperoleh, baik dari publikasi yang telah diterbitkan maupun yang belum diterbitkan, telah dijelaskan dalam tulisan dan dicantumkan dalam daftar Pustaka.



Semarang, 16 Februari 2026

Abrilia Octafijayanti
MBK.24.24.010496

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Abrilia Octafijayanti
Alamat : Jalan Praji no 73 Rt 002 Rw 001 Kelapa Dua
Wetan Ciracas Jakarta Timur 13730
Tempat Tanggal Lahir : Jakarta, 5 Oktober 1989
Usia : 36 Tahun
Jenis kelamin : Perempuan
Agama : Islam

Riwayat Pendidikan

1. SDN Kelapa Dua Wetan 01 Pagi Ciracas : Lulus Tahun 2001
2. SMP Islam PB Soedirman Cijantung : Lulus Tahun 2004
3. SMAN 105 Jakarta Timur : Lulus Tahun 2007
4. S1 Kedokteran FK Yarsi : Lulus Tahun 2011
5. Profesi Dokter FK Yarsi : Lulus Tahun 2013
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : (2024 – sekarang)

B. Riwayat Keluarga

- a. Nama Suami : Septriyand Handayanto
- b. Nama Anak : Pranabiyu Gian Muhadzdzib
Yustiawardhana, Binar Aurora
Daniera Yustiawardhana

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas berkat dan pimpinan-Nya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penyusunan proposal tesis dengan judul “**PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (SH-MSCs) TERHADAP KADAR IL-6 DAN SOD (Studi Eksperimental *In vivo* pada Mencit Betina Galur C57BL/6 yang Diinduksi *Dexamethasone*)**”. Dalam proses penyusunan proposal tesis ini, penulis memperoleh arahan serta bimbingan yang sangat berharga. Oleh karena itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat:

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH, M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku dekan Fakultas Kedokteran UNISSULA yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah berkenan memberikan dorongan, semangat bimbingan serta masukan kepada penyusun selama mengerjakan penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes. selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan serta masukan kepada penyusun selama mengerjakan penyusunan tesis ini.

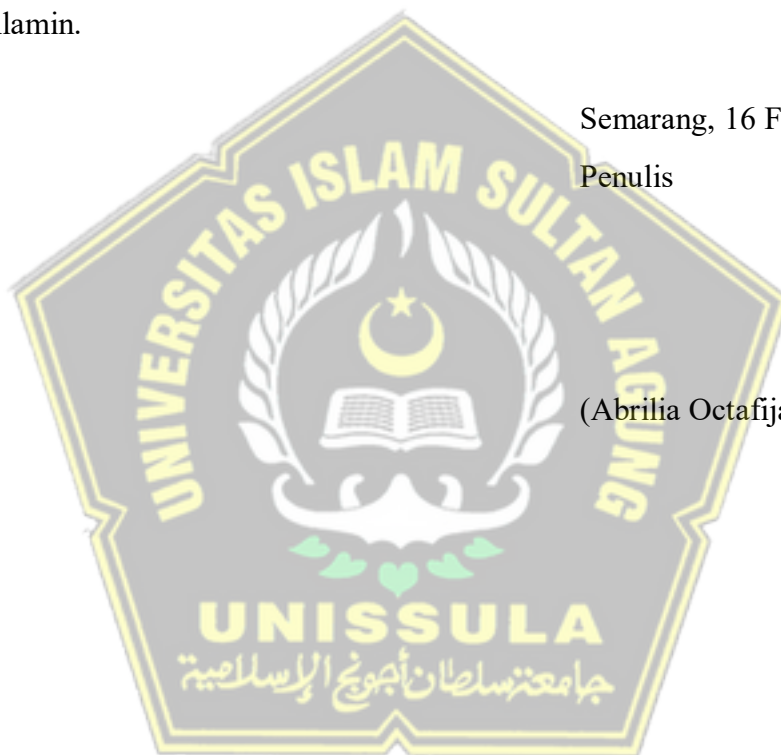
5. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS. selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan serta masukan kepada penyusun selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku penguji I yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan saran dan masukan selama proses penulisan tesis ini.
7. Dr. dr. Setyo Trisnadi, S.H.M.H, Sp.KF, M.Ce, Adv selaku penguji II yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan saran dan masukan selama proses penulisan tesis ini.
8. Dr. dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes selaku penguji III yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk memberikan saran dan masukan selama proses penulisan tesis ini.
9. Kepada seluruh dosen pengajar serta staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu per satu, atas doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan selama proses penyusunan tesis ini.
10. Rasa hormat dan terima kasih yang mendalam penulis persembahkan kepada keluarga tercinta, terutama orang tua saya Bapak (Purn) AKBP Puji Mulyanto, SE, MmTr dan Ibu (Purn) AKBP Sri Asmini, SH yang selalu menjadi sumber doa, semangat, dan sistem pendukung utama hingga tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Selanjutnya teruntuk suami saya Septriyon Handayanto yang selalu memberikan dukungan penuh kepada saya agar dapat menyelesaikan tesis ini secara baik. Tidak lupa saya ucapkan terima kasih kepada anak-anak saya, Pranabiyu Gian Muhadzdzib Yustiawardhana dan Binar Aurora Daniera Yustiawardhana yang selalu memberikan semangat untuk saya.
11. Apresiasi juga penulis tujukan kepada semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan tesis ini, meskipun tidak dapat disebutkan secara rinci satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa karya ilmiah ini masih jauh dari kesempurnaan, karena keterbatasan dan kekhilafan adalah bagian dari manusia. Meski demikian, penulis berharap hasil penelitian ini tetap mampu memberi manfaat, baik bagi pengembangan pribadi, Program Magister Ilmu Biomedik, maupun pihak lain yang berkepentingan. Sebagai penutup, penulis berdoa semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat, berkah, serta bimbingan-Nya kepada kita semua. Aamiin ya Rabbal ‘Alamin.

Semarang, 16 Februari 2026

Penulis

(Abrilia Octafijayanti)



ABSTRAK

Latar Belakang: Sarcopenia akibat dexamethasone ditandai penurunan massa dan fungsi otot, memicu stres oksidatif dan inflamasi, terlihat dari peningkatan IL-6 serta ketidakseimbangan enzim antioksidan SOD. *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) berpotensi meningkatkan kapasitas antioksidan dan memodulasi respons inflamasi, sehingga melindungi jaringan terhadap kerusakan pada model sarcopenia. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh SH-MSCs terhadap kadar IL-6 dan aktivitas SOD pada mencit betina C57BL/6 model sarcopenia yang diinduksi dexamethasone.

Metode: Penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan *post-test only control group design*. 24 ekor mencit betina C57BL/6 dibagi secara acak kedalam empat kelompok: kelompok sehat, kontrol negatif, serta kelompok yang diberi SH-MSCs 30 μ L dan 60 μ L. Pemberian dexamethasone sebagai variabel pra kondisi diberikan sebanyak 20, g/kgBB. Analisa IL-6 dan SOD dilakukan dengan cara menggunakan ELISA. Data hasil IL-6 diolah dengan uji Kruskal-Wallis sedangkan SOD dianalisa dengan ANOVA

Hasil: Kadar IL-6 tertinggi terdapat pada kelompok SH-MSCs 60 μ L ($10,94 \pm 6,60$ ng/L), sedangkan kadar SOD tertinggi juga pada kelompok yang sama ($5,14 \pm 0,27$ ng/L). Namun, perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik (IL-6, $p=0,121$; SOD, $p=0,278$), menunjukkan bahwa terapi SH-MSCs hanya menimbulkan peningkatan deskriptif pada respon inflamasi dan kapasitas antioksidan.

Kesimpulan: Pemberian SH-MSCs pada dosis 30 μ L dan 60 μ L menimbulkan peningkatan deskriptif kadar IL-6 dan SOD, namun perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun SH-MSCs berpotensi memodulasi respons inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan otot mencit, efeknya belum cukup kuat untuk menghasilkan perubahan signifikan.

Kata kunci: Sarcopenia, SH-MSCs, IL-6, SOD, Dexamethasone

ABSTRACT

Background: Sarcopenia induced by dexamethasone causes reduced muscle mass and function, triggering oxidative stress and inflammation, marked by elevated IL-6 and disrupted SOD. Secretome from Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) may enhance antioxidant capacity and modulate inflammation. This study aimed to evaluate SH-MSCs effects on IL-6 levels and SOD activity in female C57BL/6 mice with dexamethasone-induced sarcopenia.

Methods: An *in vivo* experimental study with a post-test only control group design was conducted. Twenty-four female C57BL/6 mice were randomly assigned into four groups: healthy control, negative control, and SH-MSCs 30 μ L and 60 μ L groups. The administration of dexamethasone as a pre-condition variable is given as much as 20mg/KgBb. IL-6 and SOD analysis is done by using ELISA. IL-6 with Kruskal-Wallis test while SOD was analysed with Anova.

Results: The highest IL-6 level was observed in the SH-MSCs 60 μ L group (10.94 ± 6.60 ng/L), while the highest SOD level was also in the same group (5.14 ± 0.27 ng/L). However, differences between groups were not statistically significant (IL-6, $p=0.121$; SOD, $p=0.278$), indicating SH-MSCs therapy only produced descriptive increases in inflammatory response and antioxidant capacity.

Conclusion: SH-MSCs therapy at 30 μ L and 60 μ L caused descriptive increases in IL-6 and SOD levels, but differences between groups were not statistically significant. This suggests that although SH-MSCs can modulate inflammatory responses and enhance antioxidant capacity in mouse muscle, the effects were not strong enough to produce significant changes.

Keywords: Sarcopenia, SH-MSCs, IL-6, SOD, Dexamethasone

UNISSULA
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN TESIS	ii
SURAT PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR SINGKATAN	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	5
1.5 Originalitas Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Fisiologi Otot	13
2.1.1. Struktur dan Fungsi Otot.....	13
2.1.2. Proses Anabolisme pada Otot.....	15
2.1.3. Proses Katabolisme pada Otot.....	16
2.2 Sarcopenia.....	17
2.2.1. Definisi dan Epidemiologi	17
2.2.2. Etiologi dan Faktor Risiko	19
2.2.3. Patofisiologi Kehilangan Massa Otot pada Sarcopenia	20
2.2.4. Patofisiologi <i>Sarcopenia</i> Secara Molekuler	23
2.3 Interleukin-6 (IL-6)	26
2.3.1. Definisi	26
2.3.2. Struktur dan Fungsi	27
2.3.3. Regulasi IL-6 pada Otot di Ubiquitin-Proteasome System.....	29
2.3.4. Peningkatan IL-6 pada Sarcopenia	31
2.4 Superoxide Dismutase (SOD)	32
2.4.1 Definisi	32
2.4.2 Struktur dan Fungsi	33
2.4.3 Regulasi SOD pada Otot di Ubiquitin-Proteasome System	33
2.4.4 Penurunan SOD pada Sarcopenia	35
2.5 Mesenchymal Stem Cells (MSC)	36

2.5.1 Definisi dan Fungsi	36
2.5.2 Kandungan Bioaktif SH-MSCS	37
2.5.3 Mekanisme Hipoksia dalam Meningkatkan Potensi Regeneratif MSCs	39
2.5.4 Perbandingan Efek SH-MSCS dengan MSC Normoksia.....	41
2.6 Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs).....	42
2.6.1 Definisi dan Fungsi	42
2.6.2 Kandungan Bioaktif SH-MSCs	43
2.6.3 Mekanisme Hipoksia dalam Meningkatkan Potensi Regeneratif MSCs	45
2.6.4 Perbandingan Efek SH-MSCs dengan MSC Normoksia	46
2.7 Mencit Betina Galur C57BL/6 pada <i>Sarcopenia</i>	48
2.8 Dexametashone (DEX).....	49
2.8.1 Definisi dan Fungsi pada Atrofi Otot.....	49
2.8.2 Mekanisme Kerja Dexamethasone Sebagai Antiinflamasi	50
2.8.3 Mekanisme Kerja Dexametashone pada Atrofi Otot	51
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	53
3.1 Kerangka Teori.....	53
3.2 Kerangka Konsep	57
3.3 Hipotesis	57
BAB IV METODE PENELITIAN	58
4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	58
4.2 Populasi dan Sampel Penelitian	59
4.2.1 Populasi dan Sampel	59
4.2.2 Besar Sampel	60
4.2.3 Cara Pengambilan Sampel.....	61
4.2.4 Kriteria Inklusi	61
4.2.5 Kriteria Eksklusi	61
4.2.6 Kriteria <i>Dropout</i>	62
4.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian	62
4.3.1 Variabel Penelitian	62
4.3.1.1 Variabel Bebas.....	62
4.3.2 Definisi Operasional.....	63
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	65
4.4.1 Alat Penelitian.....	65
4.4.2 Bahan Penelitian.....	66
4.5 Cara Penelitian	67
4.5.1 Ethical Clearance	67
4.5.2 Aklimatisasi	68
4.5.3 Induksi Sarcopenia	69
4.5.4 Pemeriksaan <i>Sarcopenia</i>	69
4.5.5 Prosedur Perlakuan dengan Kondisi Hipoksia	70
4.5.6 Tahapan Persiapan Sediaan SH-MSCs untuk Perlakuan.....	71
4.5.7 Klasifikasi Kelompok Uji.....	71
4.5.8 Rute dan Cara Pemberian SH-MSCs	72
4.5.9 Proses Terminasi dan <i>Sampling</i>	72

4.5.10 Pemeriksaan Biomarker.....	73
4.6 Langkah Penelitian	76
4.7 Waktu dan Tempat Penelitian.....	77
4.7.1 Waktu Penelitian	77
4.7.2 Tempat Penelitian.....	77
4.8 Metode Analisis Data.....	78
4.9 Alur Penelitian.....	79
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	80
5.1 Hasil Penelitian	80
5.1.1 Hasil Validasi SH-MSCs	81
5.1.2 Hasil Validasi Sarcopenia.....	85
5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Jaringan Otot.....	91
5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar SOD pada Jaringan Otot.....	93
5.2 Pembahasan.....	95
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	103
6.1 Kesimpulan	103
6.2 Saran	104
DAFTAR PUSTAKA.....	105
LAMPIRAN.....	112



DAFTAR SINGKATAN

Akt	: Protein Kinase B (<i>v-Akt murine thymoma viral oncogene homolog</i>)
AMPK	: <i>AMP-Activated Protein Kinase</i>
APAF-1	: <i>Apoptotic Protease Activating Factor-1</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
AWGS	: <i>Asian Working Group for Sarcopenia</i>
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
CoA	: <i>Certificate of Analysis</i>
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
CXCR4/7	: <i>C-X-C Chemokine Receptor 4/7</i>
DEX	: <i>Dexamethasone</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EC-SOD	: <i>Extracellular Superoxide Dismutase</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-Regulated Kinase</i>
EVs	: <i>Extracellular Vesicles</i>
EWGSOP	: <i>European Working Group on Sarcopenia in Older People</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
FOXO	: <i>Forkhead Box O</i>
GFAP	: <i>Glial Fibrillary Acidic Protein</i>
GH	: <i>Growth Hormone</i>
GPx	: <i>Glutathione Peroxidase</i>
GR	: <i>Glucocorticoid Receptor</i>
H&E	: <i>Hematoxylin and Eosin</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF-1 α	: <i>Hypoxia-Inducible Factor-1 Alpha</i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase-1</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor-1</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1 Beta</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
JAK/STAT	: <i>Janus Kinase / Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
KO	: <i>Knockout</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>

MAFbx : *Muscle Atrophy F-Box (Atrogin-1)*
 MSC : *Mesenchymal Stem Cell*
 mTOR : *Mammalian Target of Rapamycin*
 MuRF-1 : *Muscle RING Finger Protein-1*
 NF- κ B : *Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*
 NMJ : *Neuromuscular Junction*
 NQO1 : *NAD(P)H Quinone Dehydrogenase 1*
 Nrf2 : *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2*
 PBS : *Phosphate-Buffered Saline*
 PCR : *Polymerase Chain Reaction*
 PI3K : *Phosphoinositide 3-Kinase*
 RNA : *Ribonucleic Acid*
 ROS : *Reactive Oxygen Species*
 SAMP10 : *Senescence-Accelerated Mouse-Prone 10*
 SASP : *Senescence-Associated Secretory Phenotype*
 SDF-1 α : *Stromal Cell-Derived Factor-1 Alpha*
 SH-MSCs : *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells*
 SOD : *Superoxide Dismutase*
 S1P : *Sphingosine-1-Phosphate*
 STAT3 : *Signal Transducer and Activator of Transcription 3*
 TFF : *Tangential Flow Filtration*
 TGF- β : *Transforming Growth Factor Beta*
 TNF- α : *Tumor Necrosis Factor Alpha*
 TUNEL : *Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick-End Labeling*
 uCMSCs : *Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells*
 UPS : *Ubiquitin-Proteasome System*
 VEGF : *Vascular Endothelial Growth Factor*

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1 Profil Komponen SH-MSCs.....	85
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Berat Badan Mencit Betina C57BL/6.....	86
Tabel 5.3 Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	92
Tabel 5.4 Deskriptif Rata-rata Kadar SOD dan Uji <i>One Way-ANOVA</i>	94

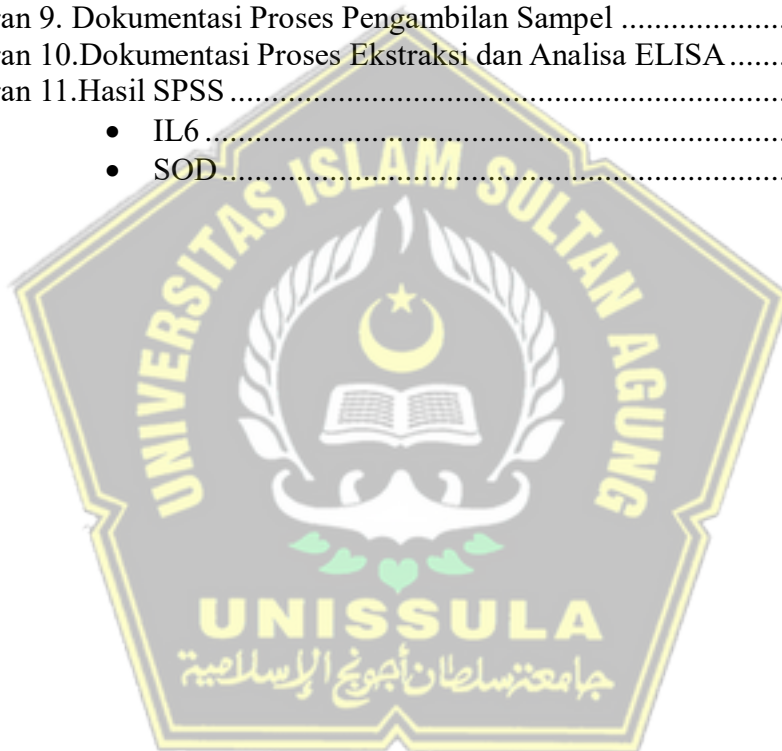


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.2 Sel Satelit Otot Selama Regenerasi Otot. ³³	22
Gambar 2.3. Peran mioksin terhadap regulasi fungsi otot. ³⁴	26
Gambar 2.4. Skematik jalur molekuler dalam sarcopenia. ³⁶	26
Gambar 2.5 Peran IL-6 dalam Sarcopenia. ³⁷	29
Gambar 2.6 Jalur Pensinyalan yang terlibat dalam atrofi otot rangka yang diinduksi peradangan. ⁴¹	31
Gambar 2.7 Skema Hubungan Antara Ubiquitin–Proteasome System (UPS) dan Stres Oksidatif. ⁴⁴	35
Gambar 2.8 Keunggulan MSC yang Dikondisikan Sebelumnya dengan Hipoksia Dibandingkan dengan MSC yang Dikondisikan Sebelumnya dengan Normoksia. ⁴⁹	40
Gambar 3.1 Kerangka Teori.	56
Gambar 3.2 Kerangka Konsep.	57
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.	59
Gambar 4.2 Alur Penelitian.	79
Gambar 5.1 Morfologi Khas MSC. Morfologi berbentuk fibroblast-like pada pembesaran 100x	81
Gambar 5.2 Gating populasi sel MSC yang <i>viable</i>	82
Gambar 5.3 Analisis <i>flow cytometry</i> terhadap ekspresi CD45, CD31,CD90 dan CD29	83
Gambar 5.4 Kemampuan MSCs berdiferensiasi. (A) Berdeferensiasi menjadi <i>Chondrocyte Alician Blue Staining</i> perbesaran 100x.(B) Berdeferensiasi menjadi <i>Osteogenic Alizarin-red staining</i> perbesaran 200x.....	84
Gambar 5.5 Gambaran Histologi Otot Gastrocnemeus Mencit Betina C57BL/6	88
Gambar 5.6 Perbandingan Kadar IL-6 antar Kelompok Perlakuan	93
Gambar 5.7 Perbandingan Kadar SOD antar Kelompok Perlakuan	95

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ethical Clearance	112
Lampiran 2. Surat Ijin Penelitian.....	113
Lampiran 3. <i>Certificate of Analysis</i>	114
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 dan SOD	116
Lampiran 5. Data Pengukuran Berat Badan Mencit	119
Lampiran 6. Dokumentasi Proses Aklimasi Mencit Betina C57BL/6	120
Lampiran 7. Dokumentasi Proses Induksi Sarkopenia	121
Lampiran 8. Dokumentasi Proses Perlakuan SH-MSCs.....	122
Lampiran 9. Dokumentasi Proses Pengambilan Sampel	123
Lampiran 10. Dokumentasi Proses Ekstraksi dan Analisa ELISA	124
Lampiran 11. Hasil SPSS	125
• IL6	125
• SOD	127



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sarcopenia merupakan sindrom geriatri yang ditandai dengan penurunan progresif massa, kekuatan, dan fungsi otot berdampak serius pada kualitas hidup karena meningkatkan risiko jatuh, fraktur, disabilitas fisik, dan pada kondisi tertentu dapat menyebabkan kematian.¹ Salah satu mekanisme yang dapat mempercepat proses ini adalah inflamasi kronis tingkat rendah atau *inflammaging*, di mana *Interleukin-6* (IL-6) menjadi sitokin utama yang meningkat secara konsisten pada individu dengan *sarcopenia*.² Kadar IL-6 yang tinggi berhubungan dengan penurunan massa otot, fungsi kontraktile, serta resistensi terhadap stimulasi anabolik.³ Selain itu, stres oksidatif turut berperan melalui aktivitas abnormal *Superoxide Dismutase* (SOD) yang mencerminkan beban oksidatif tinggi serta berhubungan dengan mortalitas lebih tinggi.^{4,5} Hingga kini, terapi *sarcopenia* masih terbatas pada latihan fisik dan intervensi nutrisi yang meski bermanfaat, tidak selalu efektif pada lansia atau pasien dengan penyakit kronis.⁶ Alternatif farmakologis seperti penghambat myostatin dan SARMs masih menghadapi keterbatasan efektivitas dan efek samping jangka panjang.⁷ Penelitian yang akan kami lakukan disini adalah dengan menggunakan *secretome* hipoksia MSCs dengan variasi dosis perlakuan 30 μ L dan 60 μ L.^{8,9}

Prevalensi *sarcopenia* pada populasi lanjut usia secara global diperkirakan berkisar 10–16%. Meta analisis menunjukkan prevalensi antara 5% berdasarkan definisi *European Working Group on Sarcopenia in Older People* (EWGSOP) pertama yang kemudian diperbaharui hingga 22% berdasarkan EWGSOP kedua. Sementara pada definisi lain seperti *Asian Working Group for Sarcopenia* (AWGS) dan *Foundation for The National Institutes of Health* (FNIH) prevalensi berada pada kisaran 11-17%. Di Indonesia, prevalensinya dilaporkan cukup tinggi, yaitu 41,8% di Surabaya, 45,5% di Pekanbaru, hingga 50,25% secara nasional.^{10,11} Angka ini menunjukkan bahwa *sarcopenia* bukan sekadar proses fisiologis penuaan pada manusia saja, melainkan masalah kesehatan masyarakat yang mendesak karena menambah beban layanan geriatri serta biaya perawatan jangka panjang.¹⁰

Penelitian mengenai terapi berbasis *mesenchymal stem cells* (MSC) dan *secretome* telah banyak dilakukan, namun sebagian besar masih berfokus pada kultur normoksia atau biomarker IGF-1. Evaluasi simultan biomarker inflamasi (IL-6) dan stres oksidatif (SOD) pada model *sarcopenia* glukokortikoid jarang dilakukan. Penelitian ini memiliki sesuatu hal yang baru dengan menggunakan *secretome hypoxia*-MSCs (SH-MSCs) dengan dosis perlakuan 30 μ L dan 60 μ L pada mencit betina galur C57BL/6 yang diinduksi *Dexamethasone* dengan dosis 20mg/kgBB diberikan secara intraperitoneal selama 10 hari, serta menganalisis IL-6 dan SOD secara bersamaan sebagai dasar pengembangan terapi regeneratif.^{12–15} Penentuan

variasi dosis perlakuan *SH-MSCs* tersebut mengacu pada jurnal *Sari et al.* yang pada penelitiannya memberikan dosis terapi secretome pada tikus sebanyak 150 μ L dan 300 μ L sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh penulis menggunakan mencit dengan dilakukan konversi dosis berdasarkan rumus FDA luas permukaan tubuh yaitu 30 μ L dan 60 μ L.¹⁰

Dari uraian tersebut, *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-*MSCs*) diajukan sebagai salah satu alternatif solusi lain dengan berbasis terapi *cell-free*. Prekondisi hipoksia meningkatkan muatan eksosom, mikroRNA, dan faktor pertumbuhan pada *secretome* sehingga memperkuat efek imunomodulator dan anabolik.^{16,17} Hal tersebut diperkuat dengan adanya jurnal kajian sistematis dari jurnal *Kerkis et al.* yang menegaskan bahwa MSC memiliki kapasitas imunomodulator yang mampu menekan IL-6 dan meningkatkan mekanisme protektif otot. Selain aspek inflamasi, *Okutsu et al.* membuktikan bahwa adanya peningkatan ekspresi *extracellular superoxide dismutase (EcSOD)* mampu melindungi otot rangka dari atrofi akibat glukokortikoid melalui penekanan ROS dan penghambatan ekspresi atrogen.^{4,18} Dengan demikian, penelitian ini diharapkan dapat memberikan evidensi baru untuk mengembangkan terapi regeneratif yang lebih efektif, konsisten, dan berpotensi diterapkan di klinik.^{3,4,5,19}

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-*MSCs*) dapat menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar

SOD pada Mencit Betina galur C57BL/6 model *sarcopenia* yang diinduksi *dexamethasone*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) terhadap kadar IL-6 dan kadar SOD pada Mencit Betina galur C57BL/6 model *sarcopenia* yang diinduksi *Dexamethasone* secara *in vivo*.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memvalidasi model *sarcopenia* dengan membandingkan kadar IL-6 dan SOD antara mencit kelompok kontrol sehat dengan mencit kelompok model *sarcopenia* yang sudah diinduksi *dexamethasone*.
2. Menganalisis efek terapi SH-MSCs dengan menilai perbedaan kadar IL-6 dan kadar SOD antara kelompok model *sarcopenia* yang diinduksi *dexamethasone* dengan kelompok perlakuan variasi dosis SH-MSCs (30 μ L dan 60 μ L).
3. Mengidentifikasi efek dosis dengan membandingkan kadar IL-6 dan kadar SOD antara mencit yang diberi SH-MSCs 30 μ L dengan mencit yang diberi 60 μ L untuk mengetahui pengaruh perbedaan

dosis SH-MSCs terhadap efektivitasnya dalam menurunkan IL-6 dan peningkatan SOD

4. Menganalisis hubungan antara kadar IL-6 dengan kadar SOD pada seluruh kelompok perlakuan serta menilai potensi SH-MSCs sebagai agen terapeutik untuk sarcopenia.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap perkembangan ilmu pengetahuan di bidang biomedik, khususnya mengenai mekanisme molekuler *sarcopenia* yang melibatkan peningkatan kadar IL-6 dan penurunan kadar SOD. Temuan dari penelitian ini dapat menjadi dasar teoritis bagi pengembangan terapi regeneratif yang lebih spesifik menggunakan *secretome hypoxia-MSC* (SH-MSCs) sebagai alternatif inovatif dari penggunaan sel punca secara langsung dalam upaya menekan inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan otot.

1.4.2. Manfaat Praktis

Manfaat secara praktis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan kontribusi terhadap inovasi penggunaan *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) sebagai *terapi cell-free* yang berpotensi menurunkan kadar IL-6 dan meningkatkan kadar SOD sehingga dapat memperbaiki homeostasis otot pada kondisi *sarcopenia*.

2. Penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai alternatif terapi yang lebih aman, mudah diaplikasikan, dan ekonomis dibandingkan pendekatan berbasis sel punca secara langsung, khususnya dalam pencegahan dan penatalaksanaan *sarcopenia*.

1.5 Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian.

No.	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
1	Wang <i>et al.</i> (2022)	<i>Mesenchymal Stem Cells Alleviate Dexamethasone-Induced Muscle Atrophy in Mice and The Involvement of ERK1/2 Signalling Pathway</i>	<i>In vivo</i> (DEX-induced muscle atrophy, C57BL/6 betina)	Pemberian MSC meningkatkan massa otot (10–30%), kekuatan genggam (~37%), serta menekan gen atrofi (Murf-1, Atrogin-1). Efek protektif dimediasi jalur ERK1/2. ⁹
2	Silvana S <i>et al.</i> (2024)	<i>Secretome from Hypoxic Mesenchymal Stem Cells As A Potential Therapy For Ischemic Stroke: Investigations On VEGF And GFAP Expression</i>	<i>In vivo</i>	<i>Secretome</i> hipoksia MSCs meningkatkan ekspresi VEGF dan GFAP, menunjukkan efek protektif dan potensi terapi berbasis <i>secretome</i> . ²⁰
3	Lumban <i>et al.</i> (2024)	<i>Role of Hypoxic Secretome from Mesenchymal Stem Cells in Enhancing Tissue</i>	<i>In vivo</i>	<i>Secretome</i> hipoksia MSCs meningkatkan ekspresi HIF-1 α dan VEGF serta proliferasi fibroblas, menunjukkan

No.	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
		<i>Repair: Regulatory Effects on HIF-1α, VEGF, and Fibroblast in a Sphincterotomy Rat Model.</i>		efek regeneratif <i>secretome</i> berbasis hipoksia. ²¹
4	Qin M <i>et al.</i> (2024)	<i>Adipose-derived exosomes ameliorate skeletal muscle atrophy via miR-146a-5p/IGF-1R signaling</i>	<i>In vivo</i>	Menargetkan penurunan IL-6; menghubungkan mekanisme inflamasi & anabolik. ²²
5	Mankhong <i>et al.</i> (2020)	<i>Experimental Models of Sarcopenia: Bridging Molecular Mechanism and Therapeutic Strategy</i>	<i>In vivo</i>	Penggunaan hewan model seperti mencit C57BL/6 dengan penuaan relevan untuk mempelajari ketidakseimbangan jalur anabolik–katabolik dan strategi pengembangan terapi anti-sarcopenia. ²³
6	Kerkis <i>et al.</i> (2024)	<i>The impact of Interleukin-6 (IL-6) and mesenchymal stem cells</i>	SLR	MSC mampu menekan IL-6 pada berbagai kondisi inflamasi. ²⁴
7	Gupta <i>et al.</i> (2021)	<i>Dosing extracellular vesicles</i>	<i>Review (meta-analysis in vivo)</i>	Mengulas variasi dosis EV/ <i>secretome</i> pada hewan kecil dan besar; menjadi dasar metodologis dosis 15–45 μ L/20 g BB pada mencit/tikus. ²⁵
8	Sari <i>et al.</i> (2023)	<i>The role of Mesenchymal Stem Cell Secretome in the</i>	<i>In vivo</i>	<i>Secretome</i> menurunkan NF- κ B/TNF- α pada model sepsis, dengan dosis 300

No.	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Metode	Hasil Penelitian
		<i>Inflammatory Mediators and the Survival Rate of Rat Model of Sepsis</i>		μ L lebih efektif daripada 150 μ L, serta meningkatkan IL-10. Efek ini relevan karena NF- κ B mengatur IL-6 dan berkaitan dengan SOD. ⁸
9	Okutsu et al. (2014)	<i>Extracellular Superoxide Dismutase Ameliorates Skeletal Muscle Abnormalities, Cachexia, and Exercise</i>	<i>In vivo (DEX-induced muscle atrophy)</i>	<i>Injeksi Dexamethasone menurunkan ekspresi EcSOD pada otot yang mengalami atrofi. EcSOD berperan penting dalam mengurangi stres oksidatif dan atrofi otot.</i> ²⁶

Dalam beberapa tahun terakhir, *secretome* dari *mesenchymal stem cells* (MSC) menunjukkan potensi terapeutik pada kondisi degeneratif, termasuk gangguan muskuloskeletal, melalui mekanisme imunomodulasi, antiinflamasi, dan antioksidan. Namun, sebagian besar penelitian masih berfokus pada MSC atau *secretome* normoksia, tanpa melihat keunggulan pra-kondisioning hipoksia.

Selain itu, evaluasi simultan biomarker inflamasi (IL-6) dan stres oksidatif (SOD) pada model *sarcopenia* glukokortikoid masih jarang dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini menawarkan kebaruan dengan menggunakan SH-MSCs pada mencit betina galur C57BL/6 untuk menilai perubahan kadar IL-6 dan SOD secara bersamaan sebagai dasar pengembangan terapi regeneratif berbasis *secretome*.

Pada tabel 1.1 penelitian yang dilakukan oleh *Wang et al* menunjukkan bahwa pemberian MSCs yang diberikan pada otot yang sudah diinduksi dengan dexamethasone terjadi peningkatan massa otot sebesar 10-30% serta kekuatan genggam sebesar 37% dengan menekan gen atrofi yaitu Murf-1 dan Atrogin-1. Perbandingan penelitian yang akan dilakukan pada saat ini adalah dalam melakukan perbaikan terhadap kondisi otot yang atrofi, peneliti mencoba untuk menggunakan SH-MSCs dengan harapan persentase perbaikan massa otot dan kekuatan otot lebih besar dibandingkan dengan memakai MSCs¹³

Pada jurnal *Silvana et al.* menjelaskan bahwa pemakaian SH-MSCs memiliki efek anti inflamasi, neuroprotektif serta angiogenik dan dapat melewati blood brain barrier pada tatalaksana pasien stroke iskemik. Pemakaian SH-MSCs dengan dosis 300 μ L lebih unggul dibanding MSC normoksia karena pada kondisi hipoksia meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan sehingga dapat mengurangi area infark. Pada penelitian yang akan dilakukan, peneliti akan menggunakan SH-MSCs untuk digunakan sebagai terapi sarcopenia untuk mengembalikan massa otot dan kekuatan otot.²³

Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh *Lumban et al* menunjukkan bahwa *secretome* hipoksia MSCs mampu meningkatkan ekspresi HIF-1 α , VEGF, dan proliferasi fibroblas pada model *sphincterotomy*, menegaskan peran *secretome* dalam mendukung regenerasi jaringan. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan adalah fokus

organ target dan biomarker: penelitian ini akan menguji IL-6 dan SOD dalam konteks *sarcopenia* akibat dexamethasone, bukan VEGF/ fibroblast dalam model *sphincterotomy*.²¹

Qin et al. melaporkan bahwa exosome yang berasal dari MSC adiposa mampu mengurangi atrofi otot melalui jalur miR-146a-5p/IGF-1R dengan melalui mekanisme penekanan kadar IL-6 serta meningkatkan sinyal anabolik. Perbedaan dengan penelitian yang akan dilakukan adalah dari jenis produk yang digunakan. Pada penelitian *Qin* yang digunakan adalah berbasis *exosome*, sedangkan penelitian ini menggunakan bahan *secretome* hipoksia MSCs dengan fokus pada IL-6 dan SOD.²²

Penelitian Mankhong *et al* menjelaskan bahwa terdapat mekanisme fundamental yang dapat memicu *sarcopenia* dengan model eksperimental *in vitro* dan *in vivo* untuk meneliti *sarcopenia* melalui strategi molekuler potensial dengan dilakukan perlakuan induksi H₂O₂, ceramide, TNF-alfa, *Dexamethasone* pada mencit laki laki usia lanjut. Hal tersebut berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti yaitu dengan memberikan perlakuan *Dexamethasone* pada mencit perempuan usia remaja dewasa.²³

Kajian sistematis oleh *Kerkis et al.* menegaskan bahwa *MSC* memiliki kapasitas imunomodulator yang signifikan, termasuk menurunkan IL-6 pada berbagai model inflamasi, meskipun tinjauan ini belum secara khusus menilai SOD dalam konteks *sarcopenia*. Dengan demikian, meskipun terdapat bukti kuat bahwa *MSC* mampu menekan IL-6 dan

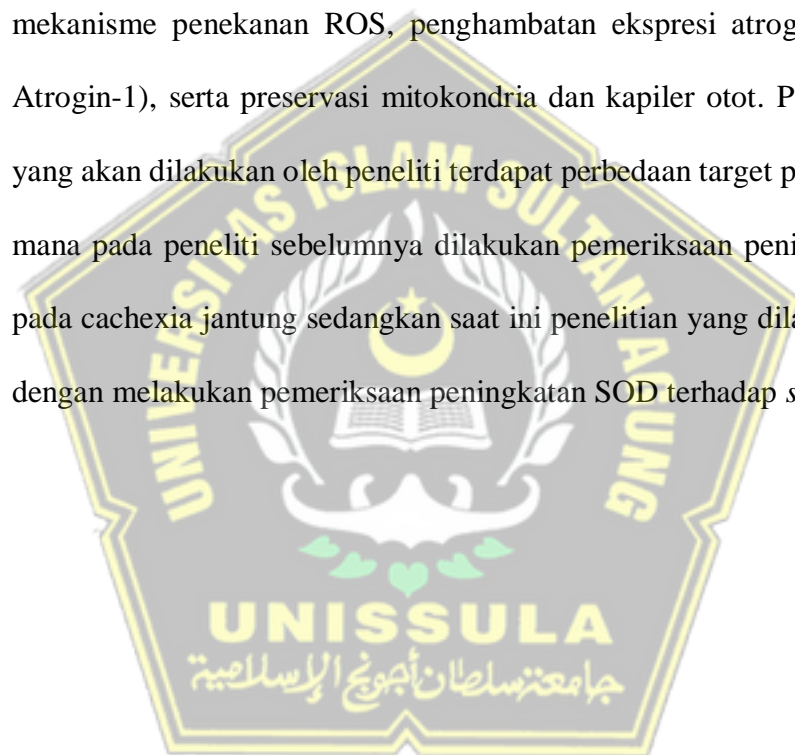
meningkatkan mekanisme protektif otot, belum ada penelitian yang secara khusus mengevaluasi kombinasi IL-6 dan SOD pada model *sarcopenia* dengan pendekatan *secretome hipoksia (SH-MSCs)* yang akan dilakukan pada penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini memiliki posisi unik dan orisinal.²⁴

Di sisi lain, terapi berbasis *extracellular vesicles (EVs)* atau *exosome* yang merupakan salah satu komponen utama *secretome*, menghadapi tantangan pada aspek dosis dan standarisasi. Tinjauan sistematis oleh Gupta *et al* menekankan bahwa perlunya dilakukan identifikasi, perbandingan, serta standart strategi penentuan dosis untuk terapi berbasis *extracellular vesicles* dengan menekankan bahwa dosis sebaiknya dihitung berdasarkan potensi biologis muatan EV seperti miRNA atau protein terapeutik, bukan hanya jumlah atau berat pertikelnya. Berdasarkan sumber di atas maka peneliti harus melakukan penyesuaian dosis pemakaian SC-MSCs dengan berat badan mencit yang akan digunakan agar tepat sasaran.²⁵

Pada jurnal Sari *et al* menilai bahwa peran Secretome MSCs terhadap mediator inflamasi (NF-kB P65/P50, TNF-alfa, IL-10) dengan perlakuan pemberian dosis terapi secretome 150 μ L dan 300 μ L dapat menurunkan ekspresi NF-kB P65/P50 dan TNF-alfa serta meningkatkan IL-10. Dalam penelitian di atas dosis yang dipakai adalah dosis yang diberikan untuk tikus, berbeda dengan penelitian yang akan dilakukan saat ini bahwa terdapat penyesuaian dosis terapi secretome yang diberikan kepada mencit

yang dianalisa berdasarkan berat badan mencit adalah 30 μ L dan 60 μ L dengan biomarker yang akan dinilai adalah mediator inflamasi IL-6.¹⁰

Selain aspek inflamasi, antioksidan juga merupakan hal yang krusial. *Okutsu et al.* membuktikan bahwa peningkatan ekspresi *extracellular superoxide dismutase* (EcSOD) mampu melindungi otot rangka dari atrofi akibat glukokortikoid dan cachexia jantung, melalui mekanisme penekanan ROS, penghambatan ekspresi atrogene (MuRF1, Atrogin-1), serta preservasi mitokondria dan kapiler otot. Pada penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti terdapat perbedaan target penelitian yang mana pada peneliti sebelumnya dilakukan pemeriksaan peningkatan SOD pada cachexia jantung sedangkan saat ini penelitian yang dilakukan adalah dengan melakukan pemeriksaan peningkatan SOD terhadap *sarcopenia*.²⁶



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fisiologi Otot

2.1.1. Struktur dan Fungsi Otot

Otot merupakan jaringan yang sangat penting dalam tubuh manusia karena berperan dalam berbagai fungsi fisiologis, mulai dari menghasilkan gerakan hingga melindungi organ-organ internal. Secara umum, otot dibedakan menjadi tiga tipe utama, yaitu otot rangka, otot polos, dan otot jantung. Otot rangka tersusun atas serabut-serabut panjang yang membentuk miofibril yang tersusun rapi. Miofibril ini terdiri atas dua jenis filamen protein utama, yaitu aktin dan miosin yang bekerja sama dalam menghasilkan kontraksi otot. Proses kontraksi ini memungkinkan terjadinya berbagai gerakan tubuh, seperti berjalan, berlari, atau mengangkat benda. Aktivitas otot rangka dikendalikan oleh sistem saraf somatik, sehingga gerakannya bersifat sadar dan dapat diatur sesuai kehendak individu.^{27,28}

Otot polos ditemukan di dinding organ-organ dalam, seperti usus, lambung, dan pembuluh darah. Struktur otot polos lebih ramping dan tidak memiliki pola penyerasian (*striated*) seperti pada otot rangka. Otot polos bekerja secara tidak sadar di bawah kendali sistem saraf otonom, dengan pola kontraksi yang lebih lambat namun memiliki ketahanan yang lebih lama. Kemampuan ini memungkinkan

otot polos mempertahankan fungsi organ-organ internal secara berkesinambungan, seperti pergerakan peristaltik pada sistem pencernaan dan pengaturan diameter pembuluh darah.^{27,28}

Otot jantung merupakan tipe otot khusus yang hanya terdapat di organ jantung. Strukturnya menyerupai otot rangka karena memiliki pola melintang, namun serabutnya bercabang dan saling terhubung melalui diskus interkalaris. Struktur ini memungkinkan terjadinya kontraksi yang sinkron dan efisien, sehingga darah dapat dipompa secara ritmis ke seluruh tubuh. Kinerja otot jantung berlangsung otomatis di bawah pengendalian sistem saraf otonom, untuk memastikan suplai oksigen dan nutrisi tetap terjaga.²⁷⁻²⁹

Fungsi otot dalam tubuh sangat beragam dan esensial untuk mempertahankan kehidupan. Fungsi utamanya adalah menghasilkan gerakan tubuh, baik gerakan halus seperti menulis maupun gerakan besar seperti berlari atau mengangkat beban. Selain itu, otot juga berperan dalam menjaga postur dan keseimbangan tubuh. Otot-otot inti, seperti otot perut dan punggung, membantu mempertahankan posisi tegak dan memberikan stabilitas selama bergerak.²⁹

Selain fungsi mekanis, otot juga berperan sebagai pelindung organ vital. Contohnya, otot dinding perut melindungi organ-organ seperti hati, lambung, dan ginjal dari tekanan eksternal. Otot juga berperan dalam menjaga suhu tubuh, karena setiap kontraksi otot menghasilkan panas yang membantu mempertahankan suhu tubuh

dalam batas normal, terutama saat melakukan aktivitas fisik. Otot jantung memiliki peranan vital dalam sistem sirkulasi darah. Kontraksi otot jantung yang terkoordinasi memompa darah ke seluruh tubuh, menyalurkan oksigen dan nutrisi ke jaringan, serta mengangkat produk sisa metabolisme untuk dibuang.²⁹

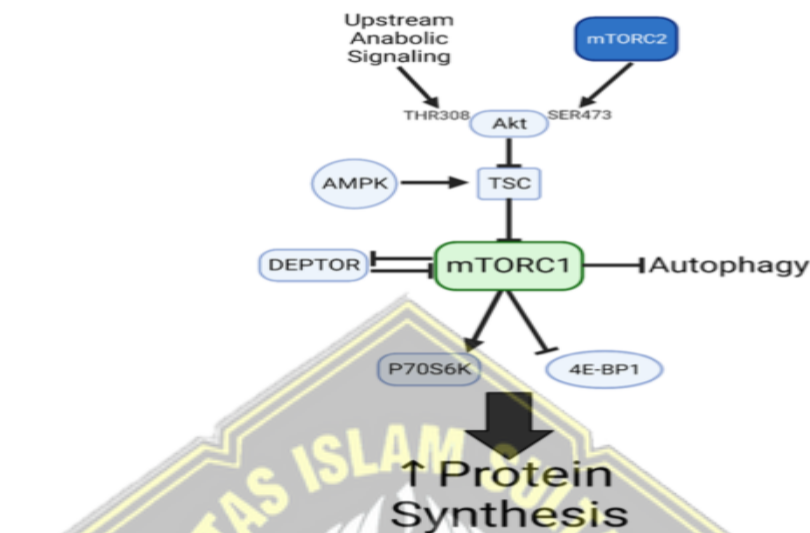
2.1.2. Proses Anabolisme pada Otot

Anabolisme otot merupakan proses yang menghasilkan protein baru melalui aktivasi berbagai jalur molekuler yang mengatur sintesis protein dan pertumbuhan serat otot. Jalur utama yang mengatur anabolisme ialah Insulin/IGF-1–Akt–mTOR berperan dalam menstimulasi translasi protein dan menghambat degradasi protein melalui pengendalian autophagy.²⁸

Aktivasi mTOR *complex-1* (mTORC1) meningkatkan fosforilasi P70S6K dan 4EBP1 yang memicu translasi mRNA dan memperkuat sintesis protein kontraktil seperti aktin dan miosin.³⁰ Selain itu, mTORC1 mengatur biogenesis mitokondria serta metabolisme lipid yang mendukung kebutuhan energi selama proses pertumbuhan otot.

Faktor yang menstimulasi jalur anabolik meliputi hormon insulin dan IGF-1 mengaktifkan PI3K/Akt, serta faktor mekanik seperti kontraksi otot dan asupan nutrisi (leusin) yang secara langsung mengaktifkan mTORC1.^{28,31} Gambar 2.1 menunjukkan bahwa ketika

kadar energi sel tinggi (ATP/AMP tinggi), aktivitas AMPK menurun, sehingga mTORC1 tetap aktif dan memacu sintesis protein otot.³⁰



Gambar 2.1 Jalur mTOR adalah pengatur utama aktivitas anabolik seluler mampu mengubah anabolisme seluler P70S6K dan 4EBP1 untuk meningkatkan sintesis protein serta menghambat autofagi.³²

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa *autophagy* tidak hanya berfungsi katabolik, tetapi juga mendukung aktivitas anabolik dengan mempertahankan keseimbangan protein intraseluler yang diperlukan untuk aktivasi mTORC1.³⁰ Dengan demikian, proses anabolisme otot bergantung pada koordinasi sinyal antara mTORC1, Akt, dan autophagy dalam menjaga homeostasis protein otot.

2.1.3. Proses Katabolisme pada Otot

Katabolisme otot merupakan proses yang menyebabkan degradasi protein dan menurunkan massa serta fungsi otot. Dua sistem utama yang mengatur degradasi protein adalah *ubiquitin–proteasome system* (UPS) dan *autophagy–lysosome system*.²⁷

Pada kondisi stres, imobilisasi, atau paparan glukokortikoid, faktor transkripsi FoxO menginduksi ekspresi gen Atrogin-1 (MAFbx) dan MuRF-1, dua enzim ligase E3 yang menandai protein kontraktil untuk degradasi melalui proteasom. Bersamaan dengan itu, jalur *autophagy* mengaktifkan pembentukan autophagosome yang mengelilingi organel rusak dan mengirimkannya ke lisosom untuk diuraikan oleh enzim hidrolitik.²⁷

Aktivitas *autophagy* dikendalikan oleh protein ATG dan LC3, yang berfungsi dalam inisiasi dan elongasi membran autophagosom.²⁸ Ketika *autophagy* berlebihan, protein kontraktil terdegradasi secara masif, sedangkan ketika terhambat, protein rusak dan mitokondria disfungsi menumpuk yang menyebabkan stres oksidatif dan gangguan fungsi serat otot.²⁷

Kedua jalur tersebut diatur oleh keseimbangan aktivitas mTOR dan AMPK. Ketika energi sel menurun, AMPK menghambat mTORC1 dan mengaktifkan *autophagy* serta UPS sehingga memperkuat proses katabolik.²⁸ Dengan demikian, keseimbangan antara jalur anabolik dan katabolik menentukan status homeostasis protein otot dan menjadi dasar terjadinya hipertrofi atau atrofi otot.

2.2 Sarcopenia

2.2.1. Definisi dan Epidemiologi

Sarcopenia merupakan suatu sindrom geriatri yang ditandai dengan penurunan progresif massa otot rangka, kekuatan, serta fungsi

fisik yang berhubungan dengan proses penuaan. Kondisi ini kini telah diakui sebagai penyakit otot dalam *International Classification of Disease* (ICD-10: M62.84). Definisi *sarcopenia* pertama kali diformalkan oleh *European Working Group on Sarcopenia in Older People* (EWGSOP) pada tahun 2010, dan kemudian diperbarui menjadi EWGSOP2 pada tahun 2019, yang menekankan pentingnya parameter kekuatan otot selain hanya massa otot. *Asian Working Group for Sarcopenia* (AWGS) juga mengadaptasi definisi ini dengan nilai ambang yang disesuaikan untuk populasi Asia.¹⁰

Dari sisi epidemiologi, prevalensi *sarcopenia* sangat bervariasi bergantung pada definisi dan metode diagnostik yang digunakan. Secara global, prevalensi pada populasi lanjut usia diperkirakan berkisar antara 10–16%. Meta-analisis menunjukkan prevalensi antara 5% berdasarkan definisi EWGSOP2 hingga 22% berdasarkan EWGSOP pertama, sementara pada definisi lain seperti IWGS dan FNIH prevalensi berada pada kisaran 11–17%.¹⁰

Di Indonesia, penelitian melaporkan prevalensi yang relatif tinggi. Studi komunitas di Pekanbaru melaporkan angka 45,5% pada lansia, dengan faktor dominan berupa status gizi dan aktivitas fisik. Penelitian lain di Surabaya menemukan prevalensi sebesar 41,8%, sementara studi berskala nasional menunjukkan angka sekitar 50,25%.¹¹

Selain prevalensinya yang tinggi, *sarcopenia* juga menimbulkan beban kesehatan masyarakat yang signifikan karena berhubungan dengan peningkatan risiko jatuh, keterbatasan fungsional, penurunan kualitas meliputi usia lanjut, jenis kelamin, status gizi buruk, aktivitas fisik rendah, depresi, dan sindrom metabolik.^{10,11} Dengan demikian, *sarcopenia* bukan hanya konsekuensi alami dari penuaan, tetapi juga merupakan kondisi multifaktorial yang membutuhkan perhatian dalam konteks promotif dan preventif di layanan kesehatan geriatri.

2.2.2. Etiologi dan Faktor Risiko

Etiologi *sarcopenia* terutama berkaitan dengan proses penuaan yang menyebabkan perubahan fisiologis, hormonal, dan metabolik. Massa otot biasanya mencapai puncaknya pada usia dewasa muda, kemudian menurun secara bertahap seiring bertambahnya usia. Faktor utama yang mendasari kondisi ini meliputi penurunan kadar hormon anabolik seperti testosteron, estradiol, hormon pertumbuhan, dan IGF-1, disertai peningkatan stres oksidatif dan inflamasi kronis tingkat rendah (*inflammaging*). Selain itu, terjadi pula perubahan neuromuskular berupa denervasi serabut otot yang menyebabkan melemahnya kontraksi dan regenerasi otot. Kombinasi faktor-faktor ini berkontribusi pada penurunan massa, kekuatan, dan fungsi otot pada lansia.³²

Faktor risiko *sarcopenia* dapat dibagi menjadi faktor yang tidak dapat diubah (*non-modifiable*) dan faktor yang dapat dimodifikasi (*modifiable*). Faktor *non-modifiable* mencakup usia lanjut, jenis kelamin, serta predisposisi genetik. Prevalensi *sarcopenia* meningkat tajam pada usia ≥ 80 tahun, dan wanita lebih berisiko akibat penurunan hormon pasca menopause, meskipun pria juga menunjukkan prevalensi tinggi.³²

Sementara itu, faktor risiko yang dapat dimodifikasi meliputi status gizi, gaya hidup, dan penyakit penyerta. Malnutrisi, BMI rendah, lingkaran betis kecil, serta defisiensi protein dan mikronutrien (misalnya vitamin D dan B12) mempercepat terjadinya *sarcopenia*. Gaya hidup, merokok meningkatkan risiko hingga dua kali lipat akibat efek toksik pada metabolisme otot, peningkatan inflamasi, dan stres oksidatif, sedangkan kurangnya aktivitas fisik, khususnya latihan resistensi, memperburuk penurunan massa otot. Penyakit penyerta seperti osteoporosis, depresi, dan gangguan metabolik juga berhubungan erat dengan *sarcopenia*, bahkan kondisi *osteosarcopenia* menegaskan keterkaitan erat antara kesehatan tulang dan otot.³²

2.2.3. Patofisiologi Kehilangan Massa Otot pada Sarcopenia

Kehilangan massa otot pada *sarcopenia* merupakan hasil dari berbagai mekanisme yang saling terkait. Salah satu mekanisme utama adalah penurunan fungsi dan jumlah *muscle satellite cells*. Sel ini berperan penting dalam regenerasi otot, di mana dalam keadaan

normal mereka tetap dorman di antara membran sel otot dan membran basal, lalu teraktivasi ketika terjadi kerusakan otot untuk berproliferasi dan berfusi membentuk serat otot baru. Pada proses penuaan, fungsi sel satelit menurun, ekspresi notch ligand berkurang, dan jalur Wnt cenderung meningkat sehingga sel satelit lebih banyak berdiferensiasi menjadi sel fibrogenik daripada sel otot. Akibatnya, kapasitas regenerasi otot berkurang sehingga mempercepat penurunan massa otot.^{33,34}

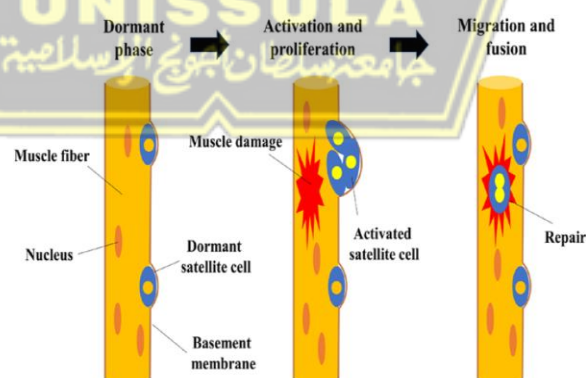
Ketidakseimbangan antara sintesis dan degradasi protein otot. Pada usia lanjut, sensitivitas jalur mTOR terhadap leucine berkurang sehingga sintesis protein menurun (*anabolic resistance*). Aktivitas jalur degradasi seperti *ubiquitin-proteasome* meningkat melalui ekspresi gen MuRF1 dan Atrogin-1. Kondisi ini menyebabkan degradasi protein otot melebihi sintesis, yang pada akhirnya memicu atrofi otot.³⁴

Faktor lain yang berkontribusi adalah inflamasi kronis atau *inflammaging*. Lansia mengalami peningkatan kadar sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 yang dapat mengganggu fungsi mitokondria, meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS), serta mengaktifkan jalur ubiquitin-proteasome dan apoptosis. Hal ini mempercepat kerusakan serat otot dan menurunkan massa otot. Infiltrasi makrofag ke jaringan otot juga semakin banyak

ditemukan pada lansia, memperparah kehilangan massa dan kekuatan otot.³⁴

Perubahan serabut otot dan sistem neuromuskular juga berperan penting. Serabut otot tipe II (*fast-twitch fibers*) adalah yang paling awal mengalami penurunan baik dari segi jumlah maupun ukuran, menyebabkan kelemahan otot. Bersamaan dengan itu, terjadi penurunan jumlah motor unit dan perubahan morfologi pada neuromuscular junction yang memperburuk fungsi kontraksi.^{33,34}

Penurunan kadar hormon anabolik seperti testosteron, estrogen, GH, dan IGF-1, ditambah aktivasi sistem renin-angiotensin (RAS), mempercepat degradasi protein otot melalui peningkatan myostatin, sitokin inflamasi, dan stres oksidatif. Semua perubahan ini secara sinergis mempercepat kehilangan massa otot seiring bertambahnya usia.³⁴



Gambar 2.1 Sel Satelit Otot Selama Regenerasi Otot.³³

2.2.4. Patofisiologi *Sarcopenia* Secara Molekuler

Pada *sarcopenia* terjadi ketidakseimbangan antara anabolisme dan katabolisme otot yang berujung pada kehilangan massa dan fungsi otot. Proses katabolisme lebih dominan pada penuaan dan *sarcopenia*. Beberapa jalur berperan dalam peningkatan degradasi protein, seperti p38 MAPK *pathway* yang menginduksi ekspresi ligase ubiquitin (MuRF1, MAFbx) untuk menandai protein yang akan dihancurkan, NF- κ B *pathway* yang diaktifkan oleh stres oksidatif serta sitokin proinflamasi (IL-1, TNF- α , IL-6) sehingga memperkuat degradasi otot, serta *glucocorticoid pathway* yang melalui reseptor GCRec menstimulasi gen atrofik. Selain itu, myostatin/SMAD2/3 *signaling* juga berperan penting dalam menghambat pertumbuhan otot dan meningkatkan proteolisis. Akumulasi aktivasi jalur-jalur ini meningkatkan aktivitas *ubiquitin-proteasome system* (UPS) serta autofagi/lysosomal system yang pada akhirnya mempercepat degradasi protein dan menurunkan massa otot.³⁵

Sebaliknya, proses katabolisme lebih dominan pada penuaan dan *sarcopenia*. Beberapa jalur berperan dalam peningkatan degradasi protein, seperti p38 MAPK *pathway* yang menginduksi ekspresi ligase ubiquitin (MuRF1, MAFbx) untuk menandai protein yang akan dihancurkan, NF- κ B *pathway* yang diaktifkan oleh stres oksidatif serta sitokin proinflamasi (IL-1, TNF- α) sehingga memperkuat degradasi otot, serta *glucocorticoid pathway* yang melalui reseptor

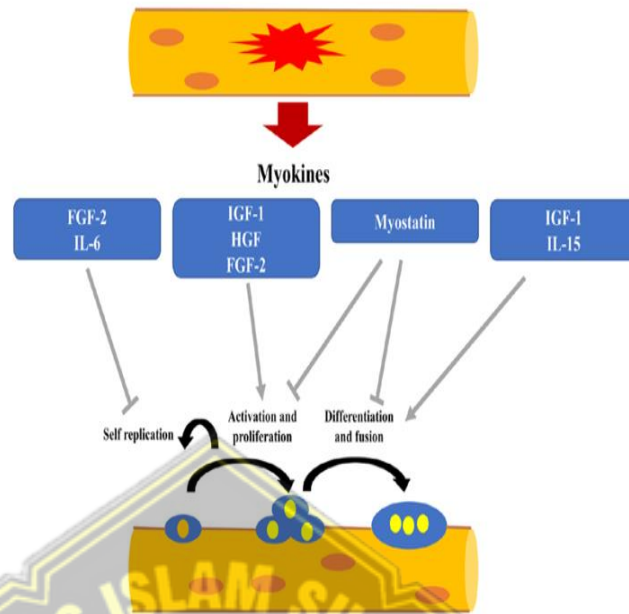
GCR α menstimulasi gen atrofik. Selain itu, myostatin/SMAD2/3 signaling juga berperan penting dalam menghambat pertumbuhan otot dan meningkatkan proteolisis. Akumulasi aktivasi jalur-jalur ini meningkatkan aktivitas *ubiquitin-proteasome system* (UPS) serta autofagi/lysosomal system yang pada akhirnya mempercepat degradasi protein dan menurunkan massa otot.^{34,36}

Pada tingkat molekuler, keseimbangan antara sinyal katabolik dan anabolik otot sangat dipengaruhi oleh interaksi IL-6 dan IGF-1. IL-6 adalah myokine yang pada kondisi normal berperan penting dalam metabolisme energi dan regenerasi otot. Saat otot berkontraksi atau mengalami kerusakan, IL-6 dilepaskan untuk mendukung proliferasi sel satelit. Namun, pada penuaan terjadi peningkatan kadar IL-6 secara kronis akibat inflamming, obesitas, dan gaya hidup tidak sehat. IL-6 berlebih ini mengaktifasi jalur JAK/STAT3 dan NF- κ B meningkatkan ekspresi gen katabolik atrogin-1 dan MuRF-1. Aktivasi kedua ligase tersebut merangsang sistem *ubiquitin-proteasome* (UPS) yang mempercepat degradasi protein otot. Selain itu, IL-6 kronis meningkatkan produksi ROS dan disfungsi mitokondria, sehingga memperkuat proses proteolisis dan menyebabkan penurunan massa otot.^{34,36}

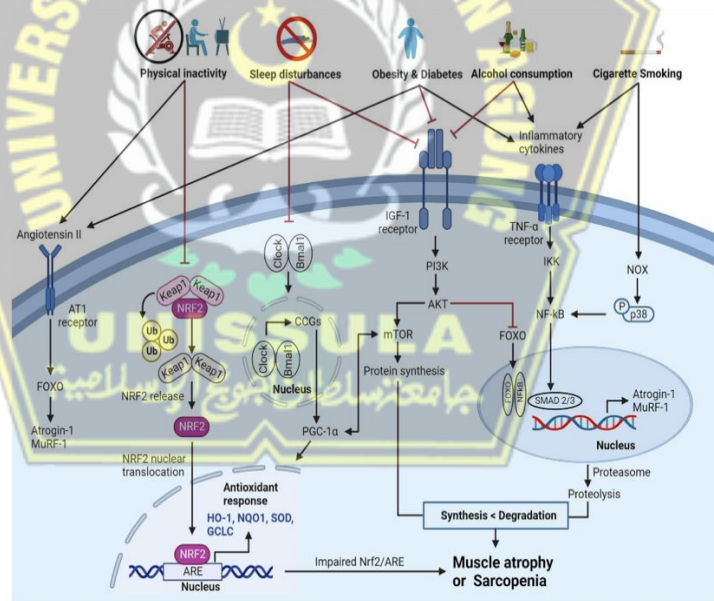
Sebaliknya, SOD berfungsi sebagai enzim antioksidan utama yang melindungi sel otot dari akumulasi ROS. Aktivitas SOD yang adekuat mampu menetralkan radikal bebas superoksida menjadi

hidrogen peroksida, sehingga mengurangi stres oksidatif dan mencegah aktivasi berlebih jalur katabolik. Namun, pada lansia sering terjadi penurunan kadar SOD yang menyebabkan ketidakmampuan otot menghadapi beban oksidatif. Kondisi ini mempercepat kerusakan protein, disfungsi mitokondria, dan penurunan kapasitas regenerasi otot.^{4,5}

Secara visual, gambar jalur molekuler memperlihatkan dua sisi yang berlawanan. Pada sisi katabolisme, IL-6 berlebihan dari inflamasi kronis mengaktifkan NF- κ B dan meningkatkan ekspresi atrogin-1 serta MuRF-1, yang mempercepat degradasi protein melalui UPS dan autofagi. Sementara itu, pada sisi protektif SOD berperan menekan stres oksidatif dan ROS berlebih sehingga melindungi sel otot dari degradasi. Pada *sarcopenia*, dominasi IL-6 kronis dan penurunan SOD menjelaskan mengapa degradasi otot lebih besar daripada perlindungan antioksidan yang menghasilkan atrofi progresif khas pada lansia.^{4,34,36}



Gambar 2.2. Peran miokin terhadap regulasi fungsi otot.³⁴



Gambar 2.3. Skematik jalur molekuler dalam sarcopenia.³⁶

2.3 Interleukin-6 (IL-6)

2.3.1. Definisi

Interleukin-6 (IL-6) merupakan suatu sitokin multifungsi yang termasuk dalam keluarga glikoprotein dan memiliki peran sentral dalam

respon imun, inflamasi, dan hematopoiesis.^{37,38} Molekul ini pertama kali diidentifikasi sebagai faktor yang mendorong diferensiasi sel B menjadi sel plasma penghasil antibodi. Seiring perkembangan penelitian, IL-6 diketahui juga terlibat dalam aktivasi dan proliferasi berbagai jenis sel imun seperti limfosit T, makrofag, serta sel endotel.³⁸

Selain itu, IL-6 berfungsi sebagai mediator utama pada respon inflamasi akut maupun kronis dengan meningkatkan produksi protein fase akut seperti C-reactive protein (CRP) dan fibrinogen. Oleh karena itu, IL-6 dikategorikan sebagai sitokin pleiotropik karena mampu memberikan efek luas terhadap berbagai sistem fisiologis maupun patologis tubuh, tergantung pada intensitas serta durasi ekspresinya.³⁷

2.3.2. Struktur dan Fungsi

Secara struktural, IL-6 merupakan glikoprotein dengan berat molekul sekitar 26 kDa, terdiri atas 184 asam amino, dan termasuk ke dalam kelompok four-helix bundle cytokines.³⁸ Mekanisme kerja IL-6 dimulai ketika molekul ini berikatan dengan reseptornya, yaitu IL-6 *receptor* (IL-6R) yang dapat ditemukan dalam dua bentuk, yakni reseptor membran (membrane-bound IL-6R) dan reseptor larut (soluble IL-6R). Kompleks IL-6 dan IL-6R kemudian berikatan dengan glikoprotein 130 (gp130) yang terdapat pada permukaan berbagai jenis sel. Ikatan ini akan mengaktifasi jalur pensinyalan intraseluler yang penting, meliputi JAK/STAT, MAPK, dan

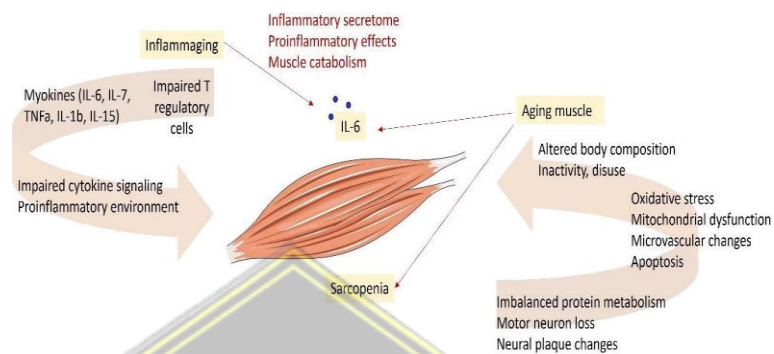
PI3K/AKT *pathways* selanjutnya mengatur berbagai proses biologis.³⁷

Fungsi IL-6 bersifat pleiotropik dan dapat bersifat protektif maupun merugikan. Dalam kondisi fisiologis, IL-6 berperan dalam respon imun dengan menginduksi diferensiasi sel T dan menstimulasi proliferasi sel B, serta berperan dalam regenerasi jaringan melalui aktivasi fibroblas dan sel punca otot sehingga mendukung penyembuhan luka.³⁸ Selain itu, IL-6 juga berfungsi sebagai myokine yang dilepaskan serabut otot saat kontraksi berperan dalam menjaga homeostasis energi melalui peningkatan oksidasi lemak dan metabolisme glukosa.³⁷

Namun, pada kondisi kronis, IL-6 berperan dalam menciptakan lingkungan proinflamasi yang berdampak negatif terhadap jaringan. Gambar dari Assyov *et al.* (2023) menunjukkan bahwa IL-6 menjadi bagian dari sekretom inflamasi pada proses inflammaging menyebabkan efek proinflamasi dan katabolisme otot. Pada otot yang menua, IL-6 berkontribusi terhadap berbagai perubahan patologis, seperti komposisi tubuh yang berubah, penurunan aktivitas fisik, stres oksidatif, disfungsi mitokondria, perubahan mikrovaskular, serta apoptosis.³⁷

Akumulasi proses tersebut memicu ketidakseimbangan metabolisme protein, kehilangan neuron motorik, dan perubahan pada plak neural yang akhirnya bermuara pada terjadinya *sarcopenia*.

Dengan demikian, IL-6 tidak hanya sekadar sitokin regulator, tetapi juga penghubung utama antara inflamasi kronis dan degenerasi otot rangka.^{37,38}



Gambar 2.4 Peran IL-6 dalam *Sarcopenia*.³⁷

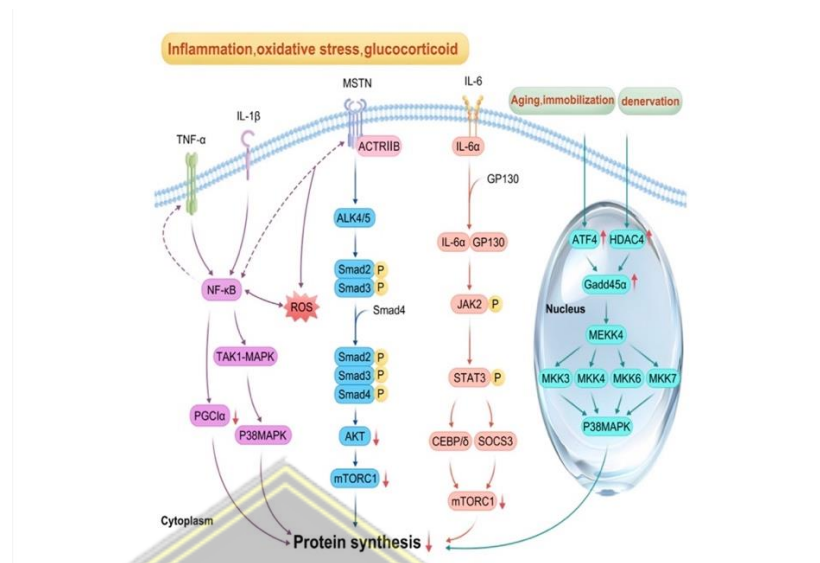
2.3.3. Regulasi IL-6 pada Otot di Ubiquitin-Proteasome System

IL-6 berperan penting dalam degradasi protein otot dengan cara mengaktifasi *Ubiquitin-Proteasome System* (UPS). Ikatan IL-6 dengan reseptor membran (IL-6R/gp130) mengaktifkan JAK/STAT3 *pathway*, yang kemudian meningkatkan ekspresi faktor transkripsi C/EBP δ . Aktivasi ini mendorong peningkatan transkripsi gen atrogenik seperti Atrogin-1 (MAFbx) dan MuRF1, dua E3 ubiquitin ligase utama pada otot. Kedua ligase tersebut menandai protein struktural seperti myosin untuk dihancurkan oleh proteasome, sehingga mempercepat kehilangan massa otot.³⁹

Selain itu, IL-6 juga dapat meningkatkan produksi ROS yang berujung pada penurunan kadar SOD, enzim antioksidan utama yang berfungsi menetralkan radikal superoksida di dalam sel. Penurunan SOD menyebabkan stres oksidatif meningkat,

yang pada gilirannya mengaktivasi faktor transkripsi FOXO di inti sel. Aktivasi FOXO memperkuat ekspresi gen katabolik atrogin-1 dan MuRF-1, sehingga mempercepat degradasi protein otot. Dengan demikian, IL-6 tidak hanya mendorong aktivasi UPS melalui jalur STAT3, tetapi juga secara tidak langsung memperburuk stres oksidatif dengan menekan pertahanan antioksidan SOD, sehingga keseimbangan antara sintesis dan degradasi protein semakin bergeser ke arah katabolisme.⁴⁰ Kombinasi dua mekanisme tersebut menjelaskan bahwa IL-6 adalah mediator sentral dalam *sarcopenia* maupun *muscle wasting* lain yang ditandai dengan aktivasi berlebihan UPS.^{39,40}

Gambar 2.6 menggambarkan mekanisme sinyal IL-6 dalam mengatur degradasi protein otot melalui *Ubiquitin-Proteasome System* (UPS). Ikatan IL-6 dengan reseptor IL-6R/gp130 memicu aktivasi STAT3, yang meningkatkan ekspresi MuRF1 sebagai salah satu ligase ubiquitin utama. Bersama dengan aktivasi NF- κ B oleh sitokin inflamasi lain seperti TNF, IL-6 memperkuat ekspresi gen atrofik dan mempercepat degradasi protein kontraktil melalui proteasome. Hal ini menegaskan bahwa IL-6 bekerja secara sinergis dengan mediator inflamasi lain untuk mempercepat atrofi otot, serta mendukung perannya sebagai mediator sentral *muscle wasting* pada *sarcopenia*.⁴¹



Gambar 2.5 Jalur Pensinyalan yang terlibat dalam atrofi otot rangka yang diinduksi peradangan.⁴¹

2.3.4. Peningkatan IL-6 pada Sarcopenia

Peningkatan kadar *Interleukin-6* (IL-6) merupakan salah satu mekanisme utama dalam patogenesis *sarcopenia*. Pada penuaan terjadi kondisi inflammaging, yaitu inflamasi tingkat rendah kronis yang ditandai dengan sekresi IL-6 berlebih. Kondisi ini menggeser fungsi fisiologis IL-6 dari myokine yang bersifat adaptif menjadi sitokin proinflamasi yang bersifat katabolik. Secara mekanistik, IL-6 mengaktifasi jalur JAK/STAT3 yang menstimulasi ekspresi gen atrofik seperti atrogin-1 dan MuRF-1 melalui sistem ubiquitin-proteasome (UPS), sehingga meningkatkan degradasi protein otot.^{35,37}

Selain mendorong katabolisme, IL-6 juga menekan jalur IGF-1/PI3K/Akt, yang normalnya berfungsi meningkatkan sintesis protein serta menekan aktivitas faktor transkripsi FOXO. Hambatan ini membuat FOXO tetap aktif di inti sel, sehingga transkripsi gen-gen

katabolik semakin dominan. Akibatnya, peningkatan IL-6 tidak hanya merangsang degradasi protein, tetapi juga menghambat proses anabolisme otot. Interaksi ini menciptakan ketidakseimbangan yang menyebabkan atrofi progresif pada *sarcopenia*.^{35,37}

2.4 Superoxide Dismutase (SOD)

2.4.1 Definisi

Superoxide Dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan utama yang berperan penting dalam mempertahankan homeostasis redoks sel. SOD mengkatalisis reaksi dismutasi radikal superoksida (O_2^-), yaitu mengubah dua molekul superoksida menjadi satu molekul oksigen (O_2) dan satu molekul hidrogen peroksida (H_2O_2). Proses ini sangat vital karena akumulasi superoksida dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada protein, lipid, DNA, serta berkontribusi pada penuaan dan berbagai penyakit degeneratif.⁴²

SOD merupakan keluarga metalloenzim yang dibedakan berdasarkan ion logam kofaktornya, yaitu: Cu/Zn-SOD (SOD1) yang terletak di sitoplasma, Mn-SOD (SOD2) yang berada di matriks mitokondria dan menjadi garis pertahanan utama terhadap ROS mitokondria, serta EC-SOD (SOD3) yang ditemukan di ruang ekstraseluler. Masing-masing isoform berperan sesuai lokalisasinya untuk melindungi sel dari stres oksidatif.⁴³

2.4.2 Struktur dan Fungsi

Secara struktur, Mn-SOD (SOD2) berbentuk homotetramer yang terdiri dari empat subunit identik, masing-masing mengandung satu ion mangan (Mn^{2+}/Mn^{3+}) di pusat aktifnya. Ion mangan ini berperan sebagai kofaktor katalitik. Susunan residu asam amino seperti histidin, aspartat, glutamat, dan tirosin membentuk jembatan hidrogen yang menjaga stabilitas struktur serta efisiensi katalisis.^{42,43}

Mekanisme kerjanya berlangsung melalui siklus redoks ion mangan, di mana Mn^{3+} menerima elektron dari $O_2^{\bullet-}$ menghasilkan Mn^{2+} dan O_2 , kemudian Mn^{2+} bereaksi dengan molekul superoksida lain untuk membentuk kembali Mn^{3+} serta H_2O_2 . Dengan demikian, setiap siklus katalitik menetralkan dua radikal superoksida menjadi produk yang kurang reaktif.^{42,43}

2.4.3 Regulasi SOD pada Otot di Ubiquitin-Proteasome System

Superoxide Dismutase (SOD) memiliki peran penting dalam mempertahankan homeostasis redoks otot, namun ekspresi dan fungsinya juga dipengaruhi oleh *ubiquitin-proteasome system* (UPS). UPS merupakan mekanisme utama degradasi protein sitosolik yang berperan dalam kontrol kualitas protein, termasuk protein yang mengalami kerusakan akibat stres oksidatif. Pada kondisi normal, UPS menjaga keseimbangan degradasi dan sintesis protein, tetapi pada kondisi stres oksidatif kronis, ROS dapat merusak komponen UPS sehingga menyebabkan akumulasi protein terubiquitinasi

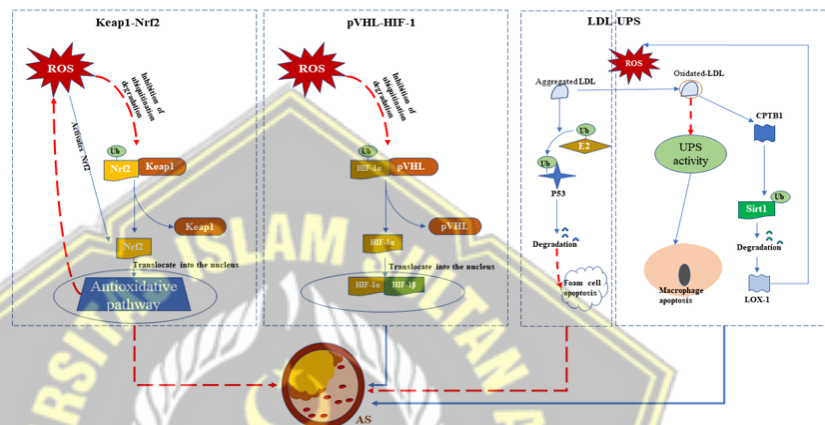
abnormal dan mempercepat disfungsi otot. Selain itu, ROS juga mengaktivasi ligase E3 seperti atrogin-1 dan MuRF-1 yang menandai protein otot untuk dihancurkan melalui proteasom, sehingga mempercepat atrofi.⁴⁴

Aktivitas SOD diatur oleh jalur Nrf2–Keap1 yang terkait erat dengan UPS. Keap1 bertindak sebagai E3 ligase yang menargetkan Nrf2 untuk degradasi proteasomal. Pada kondisi stres oksidatif, ROS memodifikasi Keap1 sehingga ubiquitinasi Nrf2 terhambat, memungkinkan Nrf2 bertranslokasi ke nukleus dan menginduksi ekspresi gen antioksidan, termasuk SOD. Dengan demikian, UPS berperan tidak langsung dalam menentukan kadar SOD melalui regulasi Nrf2.⁴⁵

Lebih lanjut, studi terbaru menunjukkan bahwa SOD2 tidak hanya berfungsi sebagai enzim dismutase, tetapi juga dapat mengatur degradasi protein proteasomal. SOD bekerja sama dengan ligase E3 UBR1 dan UBR2 untuk meningkatkan pemecahan protein sebagai respons adaptif terhadap defisiensi asam amino, sehingga menyediakan sumber energi alternatif bagi sel. Mekanisme ini memperlihatkan keterkaitan erat antara antioksidan, metabolisme energi, dan UPS dalam menjaga fungsi otot.⁴⁵

Peningkatan ROS akibat inflamasi kronis (misalnya dipicu oleh IL-6) mengaktivasi ligase otot (atrogin-1, MuRF-1) melalui jalur NF- κ B yang mempercepat degradasi protein melalui UPS. Di sisi lain,

UPS juga berperan dalam regulasi Nrf2–Keap1, yang mengatur ekspresi enzim antioksidan seperti SOD. Pada kondisi fisiologis, keseimbangan ini menjaga homeostasis otot, tetapi pada *sarcopenia*, peningkatan IL-6 disertai penurunan SOD menyebabkan dominasi jalur katabolik dan percepatan atrofi otot.⁴⁴



Gambar 2.6 Skema Hubungan Antara Ubiquitin–Proteasome System (UPS) dan Stres Oksidatif.⁴⁴

2.4.4 Penurunan SOD pada Sarcopenia

Pada *sarcopenia*, terjadi penurunan kadar dan aktivitas *Superoxide Dismutase* (SOD) yang menyebabkan akumulasi radikal superoksida (O_2^-) di dalam sel otot. Normalnya, SOD berfungsi menetralkan O_2^- menjadi H_2O_2 yang kemudian didetoksifikasi oleh katalase atau glutathion peroksidase. Penurunan SOD mengakibatkan ROS meningkat tajam, memicu kerusakan protein kontraktile, peroksidasi lipid membran, dan mutasi DNA mitokondria.⁴⁶

Akumulasi ROS ini selanjutnya mengaktifkan jalur transkripsi NF- κ B dan FOXO yang meningkatkan ekspresi ligase ubiquitin otot

seperti atrogin-1 (MAFbx) dan MuRF-1. Kedua ligase tersebut mendorong degradasi protein melalui *ubiquitin–proteasome system* (UPS) sehingga terjadi percepatan proteolisis dan hilangnya massa otot.⁴⁷

Selain itu, disfungsi mitokondria akibat kekurangan SOD menyebabkan produksi ROS semakin meningkat (*feed-forward loop*), memperburuk kerusakan sel otot. Pada model hewan defisiensi SOD1 (Sod1KO), mekanisme ini terbukti mempercepat denervasi *neuromuscular junction* (NMJ), mengurangi jumlah serabut otot, serta memperparah kelemahan otot yang khas pada *sarcopenia*.^{46,47}

2.5 Mesenchymal Stem Cells (MSC)

2.5.1 Definisi dan Fungsi

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS) adalah kumpulan molekul bioaktif yang dilepaskan oleh MSC setelah mengalami kondisi preconditioning hipoksia, meliputi sitokin, *growth factors*, protein, serta vesikel ekstraseluler (EVs) seperti eksosom. Berbeda dengan *secretome* MSC normoksia, SH-MSCS menunjukkan profil sekresi yang lebih kaya akan faktor pro-regeneratif, pro-angiogenik, antiapoptotik, serta imunomodulator sehingga efek parakrinnya lebih kuat dalam mendukung regenerasi jaringan.^{48,49}

Kondisi hipoksia memicu MSC meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF, HGF, FGF, dan IGF-1 yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi fibroblas, serta pemulihan jaringan yang rusak. Di sisi lain, SH-MSCs juga menekan sitokin proinflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1 β sekaligus meningkatkan mediator antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β , sehingga lingkungan mikro jaringan menjadi lebih protektif terhadap inflamasi kronis.^{48,49}

Selain itu, SH-MSCs mampu mengurangi stres oksidatif dengan menurunkan akumulasi ROS melalui pelepasan faktor antioksidan, serta memperkuat mekanisme anti-apoptosis dan neuroprotektif melalui aktivasi jalur STAT3. Dengan demikian, peningkatan kadar SOD yang dipicu oleh SH-MSCs memperkuat pertahanan antioksidan seluler dan menjaga integritas otot, sedangkan pengendalian IL-6 mencegah dominasi sinyal katabolik dan inflamasi berlebihan. Kombinasi inilah yang menjadikan SH-MSCs memiliki potensi terapeutik lebih unggul dibandingkan *secretome* MSC normoksia, terutama pada kondisi degeneratif dan inflamasi kronis.^{48,49}

2.5.2 Kandungan Bioaktif SH-MSCS

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS) mengandung berbagai faktor bioaktif yang menjadi kunci efek imunomodulator dan regeneratifnya. Kandungan ini meliputi protein, lipid, RNA non-koding (miRNA, lncRNA), serta growth factors yang

dilepaskan melalui *extracellular vesicles* (EVs) dan eksosom. Kondisi hipoksia meningkatkan produksi faktor-faktor ini melalui aktivasi *hypoxia-inducible factor 1-alpha* (HIF-1 α) yang mengatur ekspresi gen terkait angiogenesis, metabolisme, dan ketahanan sel terhadap stres oksidatif.⁵⁰

Di antara protein utama yang dilepaskan, terdapat *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *hepatocyte growth factor* (HGF), dan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi sel, serta regenerasi jaringan. Selain itu, sitokin imunomodulator seperti IL-6 dan TGF- β berfungsi dalam mengatur respons inflamasi, menekan aktivasi sel T efektor, serta mendorong pergeseran makrofag menuju fenotipe M2 yang antiinflamasi.^{50,51}

Selain faktor protein dan sitokin, miRNA dalam eksosom SH-MSCS berperan penting dalam modulasi ekspresi gen target, misalnya dengan menekan jalur pro-apoptotik sekaligus meningkatkan ekspresi faktor regeneratif. Kandungan lipid bioaktif seperti sphingosine-1-phosphate (S1P) dan phosphatidylserine turut berperan dalam komunikasi antar sel dan modulasi imun.⁵¹

Secara keseluruhan, kombinasi seperti IL-6, miRNA, dan lipid bioaktif dalam SH-MSCS menjadikannya kandidat kuat dalam terapi regeneratif berbasis cell-free, karena mampu menekan inflamasi

kronis, meningkatkan angiogenesis, serta memperkuat homeostasis jaringan.^{50,51}

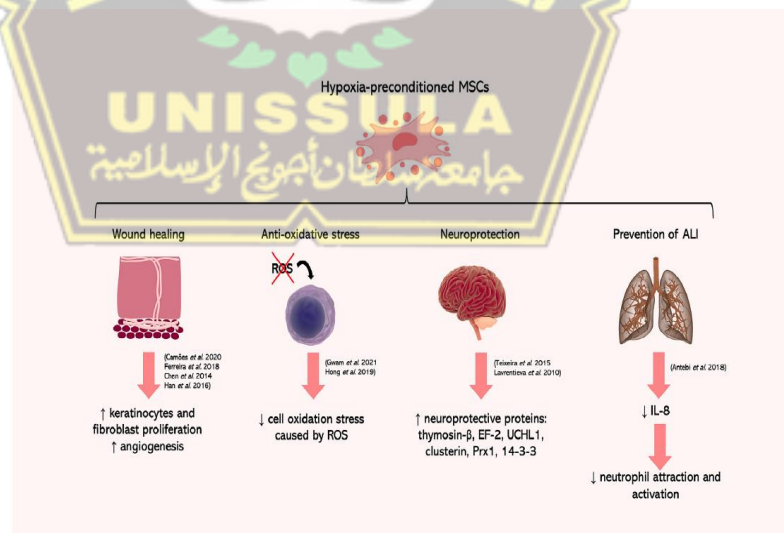
2.5.3 Mekanisme Hipoksia dalam Meningkatkan Potensi Regeneratif MSCs

Kondisi hipoksia merupakan salah satu faktor penting yang dapat meningkatkan potensi regeneratif *mesenchymal stem cells* (MSCs). Dalam mikro lingkungan alami, MSCs biasanya berada pada kadar oksigen rendah (sekitar 6–7%), berbeda dengan kondisi kultur in vitro normoksia (21% O₂). Preconditioning hipoksia mengaktifkan hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) memicu pergeseran metabolisme menuju peningkatan glikolisis dan penurunan fosforilasi oksidatif. Perubahan ini meningkatkan viabilitas, proliferasi, serta ketahanan MSCs terhadap stres oksidatif.⁵²

Aktivasi HIF-1 α juga menstimulasi produksi faktor bioaktif pro-regeneratif seperti vascular endothelial growth factor (VEGF), stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α), serta *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). Faktor-faktor ini meningkatkan angiogenesis, migrasi sel, dan diferensiasi MSCs ke arah osteoblas maupun kondrosit. Selain itu, kondisi hipoksia memodulasi sekretom MSCs, termasuk eksosom, dengan meningkatkan muatan miRNA yang berfungsi menekan apoptosis, merangsang proliferasi, serta memperkuat sifat imunomodulator.^{49,53}

Dari aspek imunologi, hipoksia memperkuat kemampuan MSCs menekan respon inflamasi. Hal ini terjadi melalui peningkatan sekresi sitokin antiinflamasi (misalnya IL-10 dan TGF- β) dan pengendalian sitokin proinflamasi seperti IL-6. Walaupun IL-6 diketahui berperan dalam katabolisme otot, regulasi seimbang oleh SH-MSCS justru berkontribusi pada pemulihan jaringan dengan memodulasi interaksi sel imun.^{52,53}

Gambar 2.7 menjelaskan bahwa hipoksia menstabilkan HIF-1 α mengatur transkripsi untuk menghasilkan faktor pro-regeneratif (VEGF, SDF-1 α , IGF-1) serta eksosom kaya molekul bioaktif. Kombinasi ini meningkatkan angiogenesis, proliferasi, ketahanan sel, serta efek imunomodulator MSCs sehingga potensi regeneratifnya lebih optimal dibandingkan MSCs normoksia.^{52,53}



Gambar 2.7 Keunggulan MSC yang Dikondisikan Sebelumnya dengan Hipoksia Dibandingkan dengan MSC yang Dikondisikan Sebelumnya dengan Normoksia.⁴⁹

2.5.4 Perbandingan Efek SH-MSCs dengan MSC Normoksia

Perbandingan antara *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) dan MSC yang dikultur dalam kondisi normoksia menunjukkan perbedaan signifikan pada aspek proliferasi, survival, migrasi, dan kapasitas parakrin. Pada kondisi hipoksia, MSC mengalami aktivasi faktor transkripsi HIF-1 α dan HIF-2 α yang meningkatkan ekspresi gen terkait proliferasi (misalnya cyclin A2, D1, dan E) sehingga memperpanjang umur proliferasi dan menekan penuaan sel dibanding MSC normoksia. Selain itu, SH-MSCs memiliki resistensi lebih baik terhadap stres oksidatif dan apoptosis, terutama melalui mekanisme autophagy yang dimediasi oleh jalur AMPK/mTOR dan ERK1/2 tidak sekuat pada MSC normoksia.^{54,55}

Dalam hal potensi diferensiasi, SH-MSCs cenderung meningkatkan kondrogenesis, sementara normoksia lebih mudah menurunkan multipotensi akibat stres oksigen tinggi. Hipoksia juga meningkatkan kemampuan homing MSC dengan menstimulasi ekspresi reseptor kemotaktik seperti CXCR4 dan CXCR7 sehingga efektivitas migrasi menuju jaringan cedera lebih baik dibanding normoksia.^{54,55}

Selain itu, perbedaan yang paling menonjol terletak pada kapasitas parakrin. SH-MSCs menghasilkan *secretome* yang lebih kaya akan faktor angiogenik (seperti VEGF, IGF, dan HGF) serta molekul imunomodulator. Hal ini berimplikasi langsung pada

peningkatan angiogenesis, penurunan apoptosis, dan modulasi respon inflamasi. Sebaliknya, MSC normoksia menunjukkan keterbatasan dalam sekresi faktor-faktor tersebut. Pada model hipertensi ginjal, hipoxia *preconditioning* terbukti meningkatkan sekresi EGF dan mengurangi HGF, sekaligus menekan aktivitas penuaan (*senescence*) pada MSC sehat, yang tidak terlihat pada kultur normoksia.^{54,55}

Dengan demikian, SH-MSCs menawarkan keunggulan regeneratif yang lebih besar dibanding MSC normoksia, baik melalui peningkatan survival dan proliferasi sel, migrasi ke area cedera, maupun sekresi faktor bioaktif yang mendukung regenerasi jaringan. Hal ini menegaskan bahwa *preconditioning* hipoksia merupakan strategi penting dalam optimalisasi terapi berbasis MSC.

2.6 Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs)

2.6.1 Definisi dan Fungsi

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) adalah kumpulan molekul bioaktif yang dilepaskan oleh MSC setelah mengalami kondisi *preconditioning* hipoksia, meliputi sitokin, *growth factors*, protein, serta vesikel ekstraseluler (EVs) seperti eksosom. Berbeda dengan *secretome* MSC normoksia, SH-MSCs menunjukkan profil sekresi yang lebih kaya akan faktor pro-regeneratif, pro-angiogenik, antiapoptotik, serta imunomodulator sehingga efek parakrinnya lebih kuat dalam mendukung regenerasi jaringan.^{48,49}

Kondisi hipoksia memicu MSC meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF, HGF, FGF, dan IGF-1 yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi fibroblas, serta pemulihan jaringan yang rusak. Di sisi lain, SH-MSCs juga menekan sitokin proinflamasi seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1 β sekaligus meningkatkan mediator antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β , sehingga lingkungan mikro jaringan menjadi lebih protektif terhadap inflamasi kronis.^{48,49}

Selain itu, SH-MSCs mampu mengurangi stres oksidatif dengan menurunkan akumulasi ROS melalui pelepasan molekul antioksidan, serta memperkuat mekanisme anti-apoptosis dan neuroprotektif melalui aktivasi jalur STAT3. Dengan demikian, peningkatan kadar SOD yang dipicu oleh SH-MSCs memperkuat sistem pertahanan antioksidan dan menjaga homeostasis redoks sel otot, sedangkan pengendalian IL-6 mencegah dominasi sinyal katabolik dan inflamasi berlebihan. Kombinasi inilah yang menjadikan SH-MSCs memiliki potensi terapeutik lebih unggul dibandingkan *secretome* MSC normoksia, terutama dalam kondisi degeneratif dan inflamasi kronis.^{48,49}

2.6.2 Kandungan Bioaktif SH-MSCs

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) mengandung berbagai faktor bioaktif yang menjadi kunci efek imunomodulator dan regeneratifnya. Kandungan ini meliputi protein, lipid, RNA non-koding (miRNA, lncRNA), serta growth factors yang

dilepaskan melalui *extracellular vesicles* (EVs) dan eksosom. Kondisi hipoksia meningkatkan produksi faktor-faktor ini melalui aktivasi *hypoxia-inducible factor 1-alpha* (HIF-1 α) yang mengatur ekspresi gen terkait angiogenesis, metabolisme, dan ketahanan sel terhadap stres oksidatif.⁵⁰

Di antara protein utama yang dilepaskan, terdapat *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *hepatocyte growth factor* (HGF), dan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi sel, serta regenerasi jaringan. Selain itu, sitokin imunomodulator seperti IL-6 dan TGF- β berfungsi dalam mengatur respons inflamasi, menekan aktivasi sel T efektor, serta mendorong pergeseran makrofag menuju fenotipe M2 yang antiinflamasi.^{50,51}

Selain faktor protein dan sitokin, miRNA dalam eksosom SH-MSCs berperan penting dalam modulasi ekspresi gen target, misalnya dengan menekan jalur pro-apoptotik sekaligus meningkatkan ekspresi faktor regeneratif. Kandungan lipid bioaktif seperti sphingosine-1-phosphate (S1P) dan phosphatidylserine turut berperan dalam komunikasi antar sel dan modulasi imun.⁵¹

Secara keseluruhan, kombinasi faktor pertumbuhan (terutama IGF-1), sitokin (seperti IL-6), miRNA, dan lipid bioaktif dalam SH-MSCs menjadikannya kandidat kuat dalam terapi regeneratif berbasis

cell-free, karena mampu menekan inflamasi kronis, meningkatkan angiogenesis, serta memperkuat homeostasis jaringan.^{50,51}

2.6.3 Mekanisme Hipoksia dalam Meningkatkan Potensi Regeneratif MSCs

Kondisi hipoksia merupakan salah satu faktor penting yang dapat meningkatkan potensi regeneratif *mesenchymal stem cells* (MSCs). Dalam mikro lingkungan alami, MSCs biasanya berada pada kadar oksigen rendah (sekitar 6–7%), berbeda dengan kondisi kultur *in vitro* normoksia (21% O₂). Preconditioning hipoksia mengaktifkan hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) memicu pergeseran metabolisme menuju peningkatan glikolisis dan penurunan fosforilasi oksidatif. Perubahan ini meningkatkan viabilitas, proliferasi, serta ketahanan MSCs terhadap stres oksidatif.⁵²

Aktivasi HIF-1 α juga menstimulasi produksi faktor bioaktif pro-regeneratif seperti vascular endothelial growth factor (VEGF), stromal cell-derived factor-1 α (SDF-1 α), serta *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). Faktor-faktor ini meningkatkan angiogenesis, migrasi sel, dan diferensiasi MSCs ke arah osteoblas maupun kondrosit. Selain itu, kondisi hipoksia memodulasi sekretom MSCs, termasuk eksosom, dengan meningkatkan muatan miRNA yang berfungsi menekan apoptosis, merangsang proliferasi, serta memperkuat sifat imunomodulator.^{49,53}

Dari aspek imunologi, hipoksia memperkuat kemampuan MSCs menekan respon inflamasi. Hal ini terjadi melalui peningkatan sekresi sitokin antiinflamasi (misalnya IL-10 dan TGF- β) dan pengendalian sitokin proinflamasi seperti IL-6. Walaupun IL-6 diketahui berperan dalam katabolisme otot, regulasi seimbang oleh SH-MSCs justru berkontribusi pada pemulihan jaringan dengan memodulasi interaksi sel imun.^{52,53}

Gambar 2.7 di sub bab sebelumnya menjelaskan bahwa hipoksia menstabilkan HIF-1 α mengatur transkripsi untuk menghasilkan faktor pro-regeneratif (VEGF, SDF-1 α , IGF-1) serta eksosom kaya molekul bioaktif. Kombinasi ini meningkatkan angiogenesis, proliferasi, ketahanan sel, serta efek imunomodulator MSCs sehingga potensi regeneratifnya lebih optimal dibandingkan MSCs normoksia.^{52,53}

2.6.4 Perbandingan Efek SH-MSCs dengan MSC Normoksia

Perbandingan antara *Secretome Hypoxia-Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) dan MSC yang dikultur dalam kondisi normoksia menunjukkan perbedaan signifikan pada aspek proliferasi, survival, migrasi, dan kapasitas parakrin. Pada kondisi hipoksia, MSC mengalami aktivasi faktor transkripsi HIF-1 α dan HIF-2 α yang meningkatkan ekspresi gen terkait proliferasi (misalnya cyclin A2, D1, dan E) sehingga memperpanjang umur proliferasi dan menekan penuaan sel dibanding MSC normoksia. Selain itu, SH-MSCs

memiliki resistensi lebih baik terhadap stres oksidatif dan apoptosis, terutama melalui mekanisme autophagy yang dimediasi oleh jalur AMPK/mTOR dan ERK1/2 tidak sekuat pada MSC normoksia.^{54,55}

Dalam hal potensi diferensiasi, SH-MSCs cenderung meningkatkan kondrogenesis, sementara normoksia lebih mudah menurunkan multipotensi akibat stres oksigen tinggi. Hipoksia juga meningkatkan kemampuan homing MSC dengan menstimulasi ekspresi reseptor kemotaktik seperti CXCR4 dan CXCR7 sehingga efektivitas migrasi menuju jaringan cedera lebih baik dibanding normoksia.^{54,55}

Selain itu, perbedaan yang paling menonjol terletak pada kapasitas parakrin. SH-MSCs menghasilkan *secretome* yang lebih kaya akan faktor angiogenik (seperti VEGF, IGF, dan HGF) serta molekul imunomodulator. Hal ini berimplikasi langsung pada peningkatan angiogenesis, penurunan apoptosis, dan modulasi respon inflamasi. Sebaliknya, MSC normoksia menunjukkan keterbatasan dalam sekresi faktor-faktor tersebut. Pada model hipertensi ginjal, hipoxia *preconditioning* terbukti meningkatkan sekresi EGF dan mengurangi HGF, sekaligus menekan aktivitas penuaan (*senescence*) pada MSC sehat, yang tidak terlihat pada kultur normoksia.^{54,55}

Dengan demikian, SH-MSCs menawarkan keunggulan regeneratif yang lebih besar dibanding MSC normoksia, baik

melalui peningkatan survival dan proliferasi sel, migrasi ke area cedera, maupun sekresi faktor bioaktif yang mendukung regenerasi jaringan. Hal ini menegaskan bahwa preconditioning hipoksia merupakan strategi penting dalam optimalisasi terapi berbasis MSC.

2.7 Mencit Betina Galur C57BL/6 pada *Sarcopenia*

Mencit betina galur C57BL/6 merupakan hewan percobaan yang banyak digunakan dalam penelitian *sarcopenia* karena memiliki stabilitas genetik dan fisiologi yang menyerupai proses penuaan manusia. Model ini dapat diperoleh melalui penuaan alami maupun induksi farmakologis dengan glukokortikoid seperti dexamethasone.⁵⁶

Berdasarkan penelitian Wang *et al.* (2023) mencit C57BL/6 betina berusia 21 bulan sebagai model *sarcopenia* primer dan mencit muda (3 bulan) yang diberi injeksi *Dexamethasone* (1,5 mg/kg BB selama 10 hari) sebagai model *sarcopenia* sekunder menunjukkan penurunan massa otot, ukuran serabut otot, kekuatan genggam, dan fungsi kontraksi otot, disertai peningkatan ekspresi gen degradasi protein atrogen-1 dan MuRF-1. Hasil ini menegaskan bahwa model DEX-induksi dapat menjadi alternatif yang valid untuk mempelajari *sarcopenia* pada mencit.⁵⁷

Selain itu, penelitian Lee *et al.* (2024) menggunakan mencit betina C57BL/6 yang diinduksi *Dexamethasone* untuk mengevaluasi efek ekstrak *Ulmus macrocarpa*. Hasilnya menunjukkan perbaikan massa otot, luas penampang serabut otot, serta peningkatan biomarker antioksidan termasuk SOD, disertai penurunan sitokin inflamasi seperti IL-6. Hal ini

menunjukkan bahwa mencit C57BL/6 induksi DEX relevan untuk menilai intervensi yang menarget jalur inflamasi dan stres oksidatif.⁵⁸

Sementara itu, penelitian Baek *et al.* (2020) melaporkan bahwa mencit C57BL/6 yang menua secara alami (24–29 bulan) memperlihatkan fenotipe *sarcopenia* berupa penurunan massa otot quadriceps, perubahan morfologi neuromuscular junction (NMJ), dan kelemahan fungsional. Model ini dianggap valid untuk meniru *sarcopenia* primer akibat penuaan.⁵⁹

Dengan demikian, mencit betina galur C57BL/6 dapat digunakan baik sebagai model alami (*sarcopenia* primer) maupun model induksi glukokortikoid (*sarcopenia* sekunder). Model ini juga terbukti relevan untuk mengevaluasi perubahan biomarker inflamasi (IL-6) dan antioksidan (SOD) sehingga sesuai untuk penelitian yang menarget ketidakseimbangan molekuler dalam *sarcopenia*.

2.8 Dexamethasone (DEX)

2.8.1 Definisi dan Fungsi pada Atrofi Otot

Dexamethasone (DEX) adalah glukokortikoid sintetis yang banyak digunakan dalam praktik klinis untuk terapi inflamasi dan autoimun. Namun, penggunaan jangka panjang atau dengan dosis tinggi dapat menyebabkan efek samping berupa atrofi otot yang ditandai dengan penurunan massa, kekuatan, dan fungsi kontraksi. Oleh karena itu, DEX sering digunakan secara eksperimental untuk memodelkan *sarcopenia* sekunder. Studi Wang *et al.* (2023) menunjukkan bahwa mencit yang diinduksi DEX mengalami

penurunan massa otot, ukuran serat otot, serta kekuatan kontraksi, sebanding dengan perubahan yang ditemukan pada *sarcopenia* primer terkait usia.⁵⁷

2.8.2 Mekanisme Kerja Dexamethasone Sebagai Antiinflamasi

Glukokortikoid adalah obat antiinflamasi yang banyak digunakan untuk pengobatan berbagai penyakit inflamasi (autoimun). Obat ini bekerja dengan cara berikatan dengan reseptor *glukokortikoid (GR)* kemudian kompleks *dexamethasone-GR* akan berpindah ke nukleus, dimana ia dapat bertindak sebagai faktor transkripsi yang mengikat elemen respons *glukokortikoid (GRE)* sehingga mengubah ekspresi gen pro inflamasi dan anti inflamasi.⁶⁰

Di dalam nukleus kompleks tersebut bekerja melalui dua mekanisme utama yaitu mekanisme *Transrepression* dan *Transactivation*.

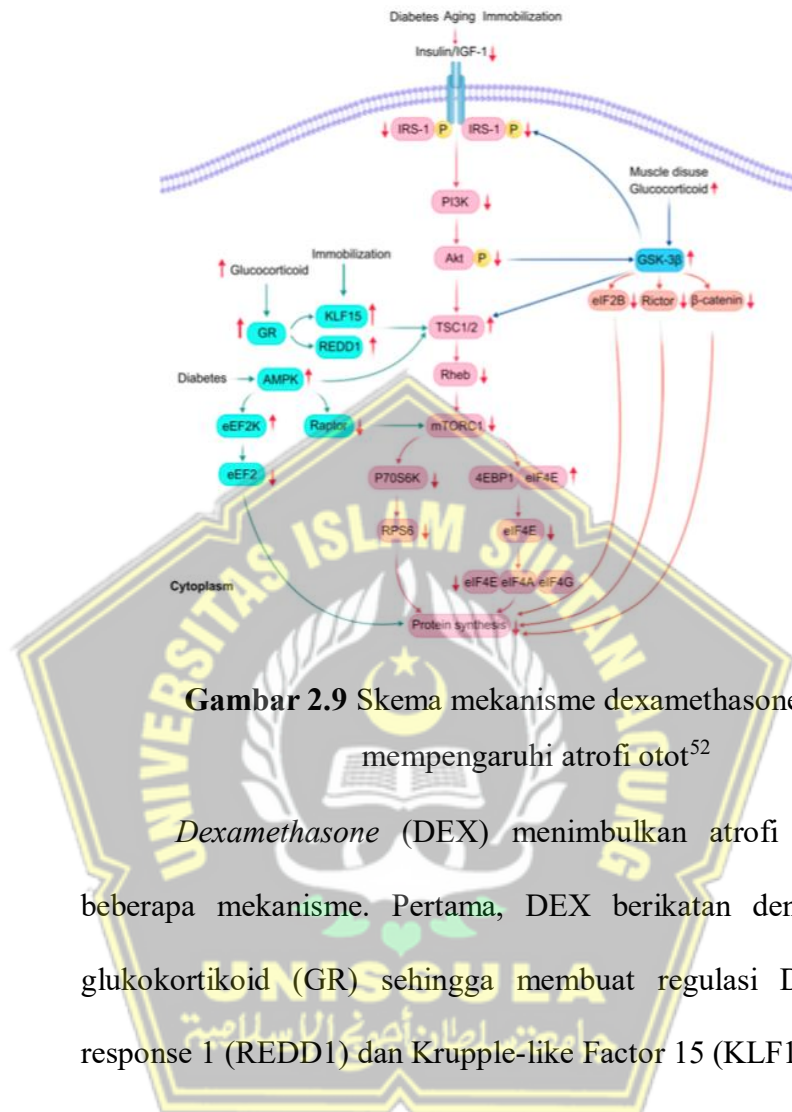
a. *Transrepression* (Menekan Gen Proinflamasi)

Kompleks *dexamethasone-GR* menghambat faktor transkripsi seperti *Nf-kB* dan *AP-1* yang mengakibatkan menurunnya sitokin proinflamasi seperti *TNF-alfa*, *IL-1Beta*, *IL-6*, *COX-2*, *iNOS*.⁶⁰

b. *Transactivation* (Meningkatkan Gen Antiinflamasi)

Dexamethasone juga meningkatkan ekspresi *IkB-alfa* sehingga menghambat *NF-kB*, meningkatkan *Lipocortin-1 (Annexin A1)* sehingga menghambat *fosfolipase A2*, serta meningkatkan *IL-10*. Hal tersebut mengakibatkan menurunnya asam *arachidonic*, *prostaglandin* serta *leukotrien*.⁶⁰

2.8.3 Mekanisme Kerja Dexametashone pada Atrofi Otot



Gambar 2.9 Skema mekanisme dexamethasone dalam mempengaruhi atrofi otot⁵²

Dexamethasone (DEX) menimbulkan atrofi otot melalui beberapa mekanisme. Pertama, DEX berikatan dengan reseptor glukokortikoid (GR) sehingga membuat regulasi DNA damage response 1 (REDD1) dan Kruppel-like Factor 15 (KLF15) meningkat kemudian menginduksi transkripsi gen proteolitik melalui proses peningkatan TSC2 dan menghambat mTORC1, seperti MuRF-1 dan Atrogin-1 yang selanjutnya mengaktifkan sistem ubiquitin–proteasome. Kedua, DEX menekan jalur anabolik PI3K/Akt/Mtor sehingga menurunkan sintesis protein otot. Ketiga, DEX meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), mengganggu fungsi mitokondria, dan menurunkan kapasitas antioksidan, termasuk

superoxide dismutase (SOD) sehingga memperparah stres oksidatif. Selain itu, meskipun bersifat antiinflamasi sistemik, di jaringan otot *Dexamethasone* dapat mengaktivasi NF- κ B dan meningkatkan ekspresi IL-6 yang memperkuat sinyal katabolik dan memperparah degradasi serat otot.^{9,57,61}



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori

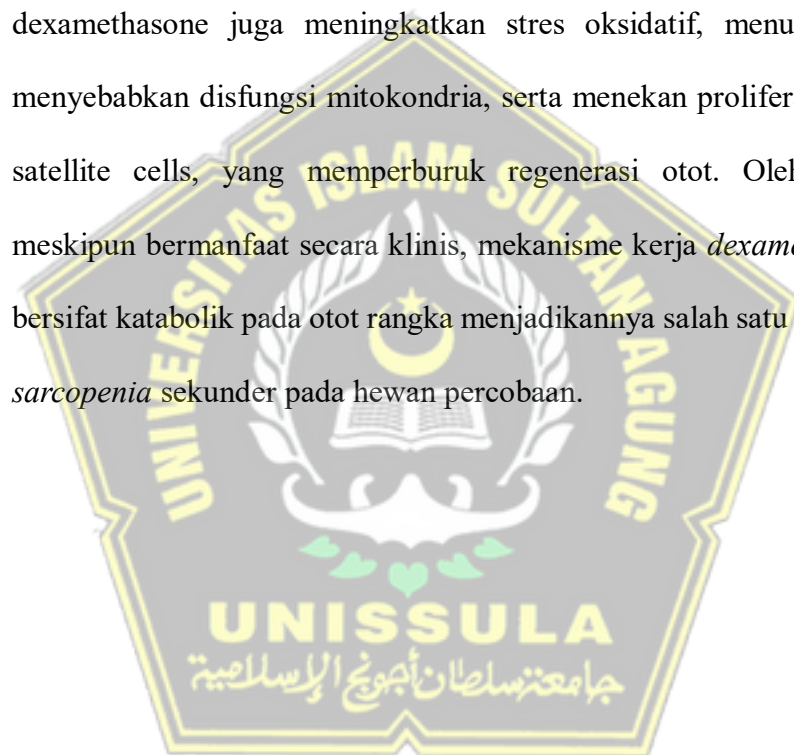
Sarcopenia merupakan sindrom degeneratif yang ditandai dengan penurunan massa, kekuatan, dan fungsi otot.¹⁰ Kondisi ini dapat dimodelkan secara eksperimental pada mencit betina galur C57BL/6 melalui induksi *dexamethasone*, suatu glukokortikoid sintetis yang diketahui menimbulkan atrofi otot. Induksi *dexamethasone* memicu stres oksidatif dan aktivasi NF- κ B yang selanjutnya meningkatkan kadar IL-6 sebagai sitokin proinflamasi serta menurunkan kadar SOD sebagai enzim antioksidan utama. Ketidakseimbangan tersebut menggeser homeostasis otot ke arah katabolisme melalui aktivasi jalur p38 MAPK, peningkatan UPS (MuRF1, MAFbx), dan peningkatan myostatin, disertai penurunan kapasitas antioksidan seluler. Kombinasi mekanisme ini berujung pada penurunan massa dan fungsi otot.^{9,13,15,37,57,62,63}

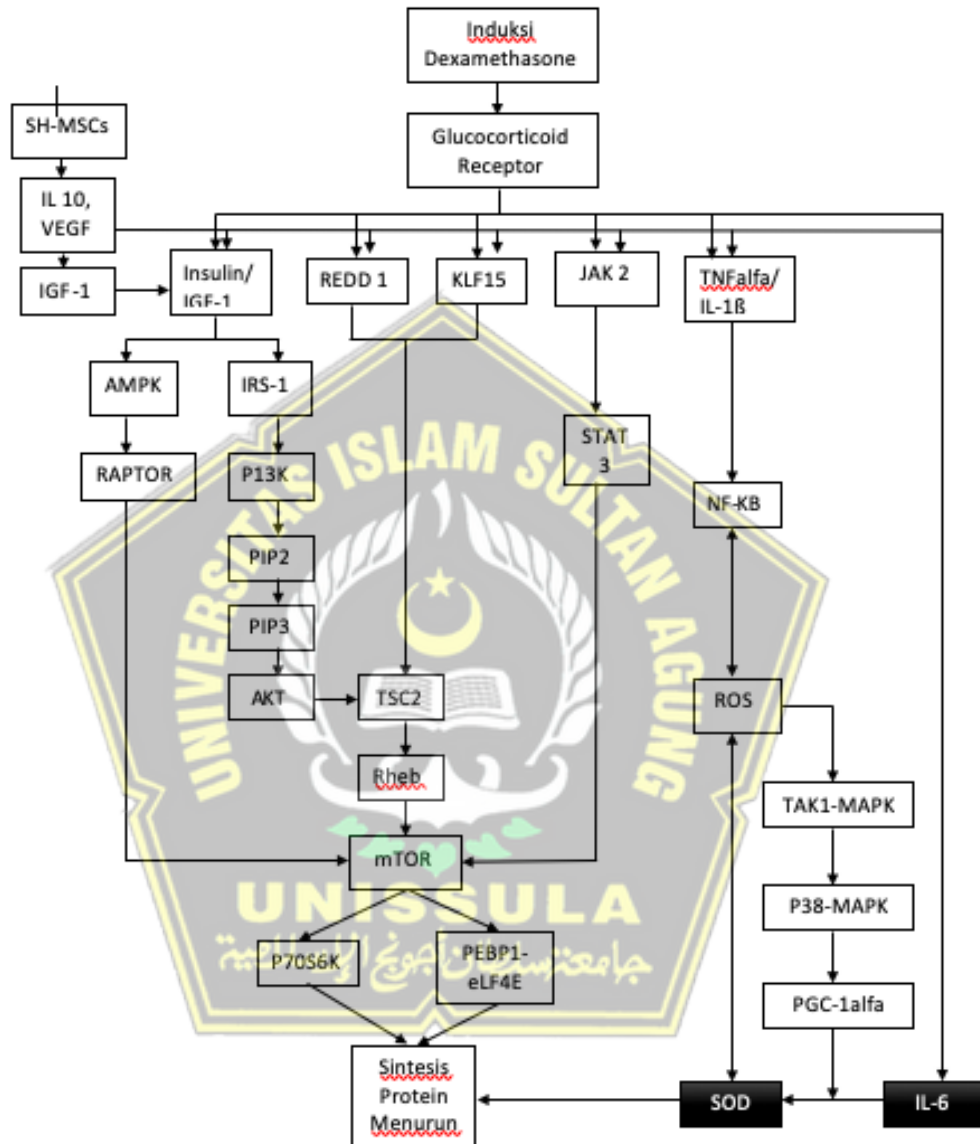
Dalam kerangka penelitian ini, IL-6 dan SOD diposisikan sebagai variabel dependen yang menjadi indikator status inflamasi dan stres oksidatif pada otot. IL-6 yang berlebih menggambarkan dominasi proses katabolik, sedangkan SOD yang rendah mencerminkan lemahnya kapasitas antioksidan otot. Dengan demikian, perubahan kadar kedua biomarker ini mencerminkan kondisi *sarcopenia* akibat induksi *dexamethasone*.^{15,37,45,57}

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) diposisikan sebagai variabel independen yang dihipotesiskan mampu memodulasi kadar IL-6 dan SOD. Prekondisi hipoksia meningkatkan kandungan bioaktif secretome, termasuk faktor pertumbuhan serta molekul imunomodulator yang menekan inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan. Pemberian SH-MSCs diharapkan menurunkan kadar IL-6, sehingga ekspresi myostatin dan MuRF-1 berkurang, serta meningkatkan kadar SOD yang memperkuat pertahanan antioksidan sel otot. Pada akhirnya, intervensi yang dilakukan dapat memiliki potensi untuk SH-MSCs mengembalikan keseimbangan antara jalur katabolik dan protektif sehingga terjadi restorasi massa dan fungsi otot.^{13,15,37,57,62}

Dexamethasone merupakan salah satu glukokortikoid sintetis yang bekerja dengan cara menembus membran sel dan berikatan dengan reseptor glukokortikoid (GR) di sitoplasma. Kompleks *dexamethasone-GR* kemudian berpindah ke dalam inti sel dan mengatur transkripsi gen target. Mekanisme ini memiliki dua arah utama: efek antiinflamasi/imunosupresif dan efek katabolik pada otot rangka. Dalam konteks antiinflamasi, *dexamethasone* menekan aktivasi NF- κ B dan AP-1, sehingga menghambat transkripsi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, serta menekan ekspresi molekul adhesi.^{57,63,64}

Namun, penggunaan jangka panjang atau dosis tinggi menimbulkan efek samping berupa atrofi otot. Mekanismenya terkait dengan gangguan keseimbangan antara sintesis dan degradasi protein otot. *Dexamethasone* menghambat jalur PI3K/Akt/mTOR, sehingga menurunkan sintesis protein. Kondisi ini mempercepat degradasi protein struktural (misalnya myosin), sehingga menyebabkan penurunan massa dan kekuatan otot. Selain itu, *dexamethasone* juga meningkatkan stres oksidatif, menurunkan SOD, menyebabkan disfungsi mitokondria, serta menekan proliferasi dan fungsi satellite cells, yang memperburuk regenerasi otot. Oleh karena itu, meskipun bermanfaat secara klinis, mekanisme kerja *dexamethasone* yang bersifat katabolik pada otot rangka menjadikannya salah satu pemicu model *sarcopenia* sekunder pada hewan percobaan.





Keterangan gambar :

■ : Variabel yang diteliti

□ : Variabel yang tidak diteliti

→ : Arah proses yang mempengaruhi

Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 3.2 Kerangka Konsep.

3.3 Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) terhadap kadar IL-6 dan kadar SOD pada Mencit Betina Galur C57BL/6 model *sarcopenia* yang diinduksi *Dexamethasone* secara *in vivo*.

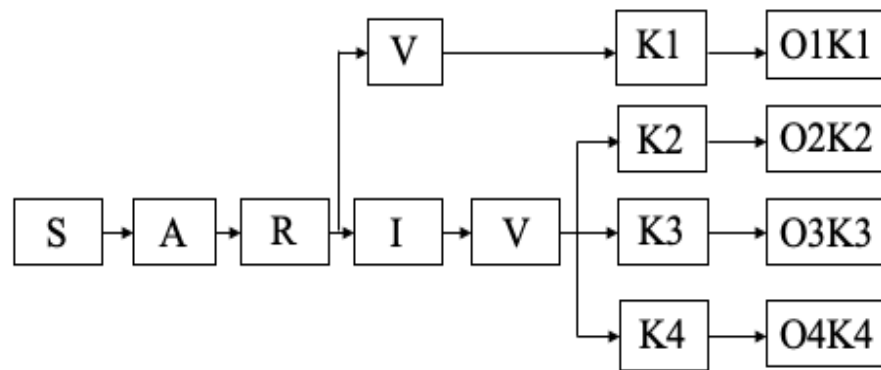


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan studi eksperimental *in vivo* dengan menggunakan rancangan *Post-Test Only Control Group Design*. Subjek penelitian adalah Mencit Betina Galur C57BL/6 yang dibagi menjadi lima kelompok, masing-masing terdiri dari enam ekor mencit. Kelompok perlakuan tersebut meliputi: K1 sebagai kontrol sehat (tanpa induksi maupun pemberian SH-MSCs), K2 sebagai kelompok yang mendapat induksi *dexamethasone* tanpa terapi (model *sarcopenia*), K3 sebagai kelompok dengan induksi *dexamethasone* disertai pemberian SH-MSCs dosis 30 μ L, K4 sebagai kelompok dengan induksi *dexamethasone* dan pemberian SH-MSCs dosis 60 μ L. Pengumpulan data dilakukan setelah semua intervensi diberikan.^{20,65,66}



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian.

Keterangan:

- S : Subjek penelitian (Mencit) sehat
- A : Adaptasi
- I : Induksi
- V : Validasi
- R : Random alokasi
- K1 : Kontrol sehat (tanpa induksi dan tanpa SH-MSCs)
- K2 : Induksi *Dexamethasone* (model *sarcopenia*)
- K3 : Induksi *Dexamethasone* + SH-MSCs dosis rendah (30 μ L)
- K4 : Induksi *Dexamethasone* + SH-MSCs dosis sedang (60 μ L)
- O1K1 : Observasi Kadar IL-6 dan SOD kelompok 1
- O2K2 : Observasi Kadar IL-6 dan SOD kelompok 2
- O3K3 : Observasi Kadar IL-6 dan SOD kelompok 3
- O4K4 : Observasi Kadar IL-6 dan SOD kelompok 4

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi dan Sampel

Populasi sekaligus sampel penelitian adalah mencit betina galur C57BL/6 yang diperoleh dari *Stem Cell and Cancer Research (SCCR)*, Gunung Pati Semarang. Hewan uji tersebut berusia 8-12 minggu dengan kisaran berat badan 30–35 gram.

4.2.2 Besar Sampel

Jumlah hewan coba dalam penelitian ini ditetapkan menggunakan rumus Federer, yaitu $(t - 1)(r - 1) \geq 15$, dengan rincian sebagai berikut:

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

$$r - 1 \geq 5$$

$$r \geq 6$$

Keterangan :

- t= jumlah perlakuan
- r= jumlah minimal hewan uji pada tiap perlakuan.

Penentuan jumlah sampel pada penelitian ini mengacu pada standar WHO, yaitu minimal enam ekor tiap kelompok dengan tambahan cadangan sebesar 20% (dua ekor). Pemilihan sampel dilakukan secara acak menggunakan metode simple random sampling, kemudian dibagi ke dalam empat kelompok : satu kelompok kontrol sehat tanpa perlakuan, satu kelompok model *sarcopenia* dengan induksi *Dexamethasone* tanpa terapi, serta dua kelompok perlakuan yang masing-masing mendapat pemberian SH-MSCs dengan dosis 30 μ L dan 60 μ L. Total hewan uji yang digunakan adalah 32 ekor mencit betina galur C57BL/6 dibagi merata ke dalam empat kelompok dengan delapan ekor per kelompok ditambah dengan empat ekor untuk

keperluan validasi. Jumlah tersebut sesuai dengan kriteria Federer dan dianggap memadai untuk memberikan kekuatan analisis pada uji statistik.⁶⁶

4.2.3 Cara Pengambilan Sampel

Penelitian ini menggunakan metode *simple random sampling* dalam penentuan sampel. Sebanyak 30 ekor mencit betina galur C57BL/6 yang memenuhi kriteria inklusi kemudian dibagi secara acak menjadi empat kelompok, terdiri atas satu kelompok tanpa perlakuan, satu kelompok kontrol, dan dua kelompok perlakuan. Setiap kelompok berisi delapan ekor ditambah dengan empat ekor mencit betina galur C57BL/6 untuk validasi.⁶⁶

4.2.4 Kriteria Inklusi

- a. Hewan uji merupakan mencit betina galur C57BL/6.
- b. Berusia 8–12 minggu.
- c. Memiliki berat badan berkisar 20–25 gram.
- d. Dalam kondisi sehat, aktif, serta tidak mengalami kelainan anatomi sehingga layak dijadikan kontrol normal.
- e. Telah melewati masa aklimatisasi selama 7 hari dengan baik.

4.2.5 Kriteria Eksklusi

- a. Mencit yang tidak menunjukkan respons atrofi otot yang diharapkan setelah induksi.

- b. Mencit yang memperlihatkan kondisi kesehatan tidak normal atau kondisi stres selama periode aklimatisasi.
- c. Mencit yang memiliki lesi, iritasi, atau masalah lain pada lokasi kulit yang akan diaplikasikan perlakuan.

4.2.6 Kriteria *Dropout*

- a. Mencit yang mengalami kematian selama proses penelitian berlangsung.
- b. Mencit yang menderita gangguan kesehatan atau sakit berat selama periode penelitian sehingga tidak dapat melanjutkan sebagai subjek uji.

4.3 Variabel dan Definisi Operasional Penelitian

4.3.1 Variabel Penelitian

4.3.1.1 Variabel Bebas

Pemberian *secretome hypoxia mesenchymal stem cells* (SH-MSCs) dilakukan dengan variasi dosis, yaitu dosis 30 μ L, dosis 60 μ L dan di injeksikan secara Intra Vena Tail

4.3.1.2 Variabel Terikat

- 1) Kadar *Interleukin-6* (IL-6).
- 2) Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD)

4.3.1.3 Variabel Pra Kondisi

Pemberian Dexamethasone sebanyak 20mg/KgBB selama 10 hari berturut-turut dan di injeksikan secara Intra Peritoneal

4.3.2 Definisi Operasional

4.3.2.1 SH-MSCs

SH-MSCs merupakan *secretome* yang dihasilkan dari kultur *mesenchymal stem cells* (MSCs) setelah mengalami pra-kondisioning dalam lingkungan hipoksia. Secretome tersebut mengandung berbagai sitokin, kemokin, dan growth factor, yang kemudian dimurnikan menggunakan metode *Tangential Flow Filtration* (TFF).

Dalam penelitian ini, SH-MSCs diberikan kepada mencit model *sarcopenia* melalui rute injeksi intraperitoneal sesuai dosis pada tiap kelompok perlakuan. Bahan SH-MSCs berasal dari *Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells* (ucMSCs) mencit dan diperoleh dari laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR).

Setiap batch SH-MSCs disertai sertifikat analisis (*Certificate of Analysis/CoA*) yang memuat hasil uji sterilitas (bakteri/jamur), endotoksin (LAL test), pH, kadar protein total, serta profil sitokin dan growth factor seperti IL-6, IGF-1, HGF, dan VEGF, sebagai indikator konsistensi produk. Proses

penyimpanan dilakukan pada suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, sedangkan transportasi menggunakan rantai dingin, dan setiap vial hanya digunakan satu kali (*single-use*) untuk mencegah degradasi biologis.

Unit: Diberikan dan tidak diberikan.

Skala: Nominal.

4.3.2.2 Kadar *Interleukin-6* (IL-6)

IL-6 adalah sitokin pleiotropik yang berperan dalam regulasi inflamasi dan degradasi otot. Pada kondisi *sarcopenia*, kadar IL-6 meningkat sehingga mendorong aktivasi jalur katabolik. Dalam penelitian ini, kadar IL-6 diukur menggunakan ELISA Kit khusus Rat IL-6 dari sampel otot *gastrocnemius*. Pembacaan dilakukan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

4.3.2.3 Kadar *Superoxide Dismutase* (SOD)

Superoxide Dismutase (SOD) adalah enzim antioksidan utama yang berperan dalam menetralkan radikal bebas superoksida (O_2^-) menjadi oksigen (O_2) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Aktivitas SOD sangat penting dalam mempertahankan homeostasis redoks seluler dan melindungi serabut otot dari kerusakan akibat stres oksidatif.

Pada kondisi *sarcopenia*, kadar SOD menurun signifikan sehingga meningkatkan akumulasi ROS, memperburuk kerusakan protein dan mitokondria, serta mempercepat atrofi otot. Dalam penelitian ini, kadar SOD diukur dengan Rat SOD ELISA Kit dari sampel otot *gastrocnemius*. Hasil pengukuran dibaca dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.

Unit: pg/mL

Skala: Rasio

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat Penelitian

- 1) Kandang pemeliharaan hewan uji untuk proses adaptasi dan perawatan.
- 2) Wadah minum khusus mencit percobaan.
- 3) Timbangan digital untuk penimbangan hewan.
- 4) Spuit ukuran 1 cc.
- 5) Alat sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm.
- 6) Inkubator dengan suplai CO₂
- 7) Pembaca enzim immunoassay ELISA reader.
- 8) Ruang hipoksia atau *hypoxic chamber*.
- 9) Perlengkapan bedah kecil (*dissecting kit*)
- 10) Laptop dengan aplikasi analisis statistik (SPSS 29 dan GraphPad Prism).
- 11) Kamera digital untuk dokumentasi penelitian

- 12) Refrigerator/freezer untuk penyimpanan eksosom maupun jaringan sampel.
- 13) Mikrotom.
- 14) *Cover glass*.
- 15) *Mounting medium*.

4.4.2 Bahan Penelitian

- 1) Mencit Betina C57BL/6 8–12 minggu dengan berat badan 30–35 gram.
- 2) *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) dalam tiga variasi yaitu dosis 30 μ L dan dosis 60 μ L
- 3) Injeksi *Dexamethasone* untuk induksi *sarcopenia* ± 20 mg/kgBB/hari secara intraperitoneal selama 10 hari
- 4) Pakan dan air minum standar untuk hewan uji.
- 5) Larutan NaCl 0,9% sebagai kontrol negatif atau pelarut injeksi.
- 6) *Phosphate Buffer Saline* (PBS) yang digunakan sebagai buffer.
- 7) Etanol 70% untuk antiseptis sebelum prosedur injeksi.
- 8) Gas nitrogen sebagai media hipoksia
- 9) Injeksi *Dexamethasone* (untuk kebutuhan prosedural tambahan).
- 10) Kit reagen ELISA untuk analisis IL-6 (spesifik mencit).
- 11) Kit reagen ELISA untuk analisis SOD (spesifik mencit).
- 12) Sarung tangan, masker, serta alat pelindung diri (APD).
- 13) PBS atau NaCl 0,9% steril bila diperlukan untuk penyesuaian volume.

- 14) Formalin 10%.
- 15) Alkohol bertingkat (70%, 95%, hingga 100%).
- 16) Timbangan presisi.
- 17) Xylene.
- 18) Pewarna Hematoksilin-Eosin (HE)

4.5 Cara Penelitian

4.5.1 Ethical Clearance

Penelitian ini menggunakan hewan percobaan sehingga seluruh prosedur dilaksanakan sesuai standar etika yang berlaku. Sebelum pelaksanaan, protokol penelitian telah mendapat persetujuan dari komite etik hewan. Selama proses penelitian, mencit ditangani dengan memperhatikan prinsip kesejahteraan hewan, sementara prosedur analisis jaringan dilakukan setelah pemberian anestesi guna mencegah timbulnya rasa nyeri. Persetujuan etik penelitian diperoleh dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Pengajuan *ethical clearance* mencakup protokol penggunaan mencit betina C57BL/6 sebagai model *sarcopenia* yang diinduksi *dexametashone*. Rancangan penelitian meliputi prosedur pemberian terapi SH-MSCs dengan variasi dosis, mekanisme terminasi hewan uji, serta teknik pengambilan sampel. Komite etik akan menilai kepatuhan terhadap prinsip 3R (*Replacement, Reduction, Refinement*), termasuk justifikasi pemakaian hewan, perhitungan jumlah minimal

sampel (rumus Federer), penetapan humane endpoints, penggunaan anestesi dan analgesia yang memadai, prosedur injeksi yang aseptik, serta pemantauan kesejahteraan hewan berdasarkan kondisi klinis, berat badan, konsumsi pakan/minum, dan perilaku.

Pemantauan dilakukan mulai dari fase aklimatisasi, periode induksi dexametasone (± 20 mg/kgBB/hari selama 10 hari), hingga tahap terapi SH-MSCs (1 x sehari selama 14 hari). Semua intervensi disusun untuk meminimalkan nyeri dan stres, dengan menjamin kualitas kandang, pakan, dan lingkungan, serta dokumentasi yang lengkap melalui lembar observasi harian dan log pemberian obat maupun sampel. Persetujuan etik merupakan prasyarat mutlak sebelum penelitian dijalankan di fasilitas laboratorium hewan.

4.5.2 Aklimatisasi

Selama periode pra-penelitian, mencit percobaan menjalani proses aklimatisasi selama 7 hari. Pada tahap ini, setiap mencit ditempatkan secara individual dalam kandang percobaan dengan kondisi yang terkontrol. Hewan uji diberikan pakan standar dan air minum secara *ad libitum*, sehingga kebutuhan nutrisi dan hidrasi tetap terpenuhi. Proses aklimatisasi ini bertujuan untuk memberikan kesempatan bagi mencit beradaptasi dengan lingkungan baru, mengurangi stres akibat perpindahan, serta memastikan kondisi fisiologis yang stabil sebelum dimulainya perlakuan penelitian.

4.5.3 Induksi Sarcopenia

Pada hari ke-1 hingga ke-10, kelompok K2 sampai K4 mendapat injeksi *Dexamethasone* secara intraperitoneal dengan dosis sekitar ± 20 mg/kgBB/hari intraperitoneal selama 10 hari, sedangkan kelompok K1 tidak diberikan perlakuan. Pemeriksaan histologi kondisi *sarcopenia* dilakukan melalui pengamatan perilaku, pemeriksaan otot dengan palpasi, pengukuran berat badan, serta identifikasi tanda klinis seperti kelemahan dan penurunan aktivitas.^{57,67}

4.5.4 Pemeriksaan *Sarcopenia*

1. Pengambilan Sampel Otot

Mencit terlebih dahulu dianestesi sesuai pedoman etika hewan. Diseksi otot dilakukan secara hati-hati menggunakan peralatan bedah steril untuk mencegah kerusakan jaringan. Sampel kemudian difiksasi dalam formalin 10% selama 24–48 jam guna mengawetkan jaringan dan menghentikan proses biologis. Setelah itu dilakukan proses dehidrasi melalui larutan alkohol bertingkat (70%, 95%, hingga 100%). Sampel selanjutnya diinfiltrasi dengan parafin cair untuk memudahkan pemotongan, lalu dipotong menggunakan mikrotom menjadi irisan setebal 5–7 μm .

2. Pemeriksaan Histologis dengan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE)

Sampel jaringan yang telah diparafinkan terlebih dahulu dideparafinasi dengan xylene, kemudian direhidrasi menggunakan alkohol bertingkat (100%, 95%, 70%). Pewarnaan dilakukan dengan hematoksilin selama 5–10 menit, dilanjutkan pembilasan air, lalu pewarnaan eosin selama 2–5 menit. Setelah itu, sampel kembali didehidrasi secara bertahap dan direndam dalam xylene untuk proses *clearance*. Preparat dipasang *cover glass* menggunakan *mounting medium*, kemudian diperiksa secara mikroskopis untuk evaluasi histologis.

4.5.5 Prosedur Perlakuan dengan Kondisi Hipoksia

SH-MSCs disiapkan oleh penyedia melalui tahapan berikut:

- 1) Sel MSC dikultur dalam medium standar hingga mencapai konfluensi sekitar 80%.
- 2) Dilakukan prekondisi hipoksia pada kadar oksigen $\pm 2\%$ selama 24 jam dalam *hypoxic chamber* terkontrol.
- 3) Medium hasil kultur dikumpulkan, kemudian *secretome* dimurnikan dengan metode *Tangential Flow Filtration* (TFF) menggunakan *cut-off* 10–50 kDa dan dilanjutkan dengan filtrasi steril berukuran 0,22 μm .
- 4) Hasil *secretome* kemudian dialiquot, diuji mutu (sterilitas, endotoksin, fenotip, kadar protein total, dan panel sitokin), lalu disimpan pada suhu $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hingga waktu pemakaian.^{20,21}

4.5.6 Tahapan Persiapan Sediaan SH-MSCs untuk Perlakuan

- 1) Proses pencairan dilakukan pada suhu 4 °C atau dalam *ice bath*, kemudian disesuaikan ke suhu ruang; sediaan tidak boleh dibekukan ulang.
- 2) Jika diperlukan, dilakukan pengenceran menggunakan PBS atau NaCl 0,9% steril hingga mencapai volume injeksi intraperitoneal yang aman (maksimal sekitar 10 mL/kgBB, dengan praktik umum 5–8 mL/kgBB).
- 3) Seluruh prosedur dilaksanakan secara aseptik, termasuk penggunaan sarung tangan dan desinfeksi area perut dengan etanol 70%.
- 4) Setiap kali pemberian, berat badan aktual mencit dicatat untuk penyesuaian dosis serta volume injeksi.^{20,21}

4.5.7 Klasifikasi Kelompok Uji

Subjek penelitian dibagi ke dalam empat kelompok, masing-masing berisi delapan ekor mencit betina galur C57BL/6 sehingga total sampel yang digunakan adalah 32 ekor ditambah 4 ekor mencit validasi. Rincian kelompok sebagai berikut:

- 1) K1 (Kontrol sehat): Tidak diberikan induksi maupun perlakuan SH-MSCs.
- 2) K2 (Model *sarcopenia*): Mendapat injeksi *Dexamethasone* intraperitoneal ± 20 mg/kgBB/hari selama 10 hari tanpa terapi tambahan.

- 3) K3: Mencit model *sarcopenia* dengan induksi *Dexamethasone* intraperitoneal ± 20 mg/kgBB/hari selama 10 hari disertai pemberian SH-MSCs dosis (30 μ L).
- 4) K4: Mencit model *sarcopenia* dengan induksi *Dexamethasone* intraperitoneal ± 20 mg/kgBB/hari selama 10 hari disertai pemberian SH-MSCs dosis (60 μ L).

4.5.8 Rute dan Cara Pemberian SH-MSCs

Pemberian terapi dilakukan 1 kali sehari selama 2 minggu, mulai hari ke-11 hingga hari ke-24 setelah fase induksi *sarcopenia* dengan *Dexamethasone* intraperitoneal pada hari ke-1 hingga ke-10. SH-MSCs diberikan dalam variasi dosis 30 μ L dan 60 μ L melalui injeksi intravena tail. Sebelum injeksi, dilakukan aspirasi ringan untuk memastikan jarum tidak berada dalam pembuluh darah, kemudian larutan disuntikkan secara perlahan setiap hari. Pada kelompok kontrol, PBS atau NaCl 0,9% steril digunakan sebagai pengencer untuk penyesuaian volume bila diperlukan.

4.5.9 Proses Terminasi dan *Sampling*

Pengambilan sampel dilakukan pada hari ke-25 setelah seluruh perlakuan selesai. Mencit terlebih dahulu dianestesi, kemudian diterminasi sesuai prosedur etik penggunaan hewan coba. Sampel yang dikumpulkan meliputi otot *gastrocnemius* untuk analisis kadar IL-6 dan kadar SOD. Sampel diperoleh melalui proses sentrifugasi, lalu disimpan pada suhu -80 °C hingga dianalisis menggunakan

metode ELISA. Sementara itu, jaringan otot diambil secara aseptik, dibersihkan dengan PBS dingin untuk menghilangkan sisa darah, kemudian disimpan pada suhu -80°C sampai dilakukan homogenisasi dan analisis menggunakan kit ELISA sesuai instruksi pabrikan.^{68,69}

4.5.10 Pemeriksaan Biomarker

Analisis Kadar IL-6 dan SOD Menggunakan ELISA

1) Preparasi sampel

Otot *gastrocnemius* digunakan untuk pemeriksaan kadar IL-6 dan kadar SOD. Sampel diperoleh kemudian diproses sesuai protokol kit. Sampel jaringan otot dihancurkan menggunakan homogenizer atau mortar dengan penambahan buffer lisis yang mengandung protease inhibitor untuk mencegah degradasi protein. Setelah proses homogenisasi, sampel disentrifugasi pada suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit guna memisahkan bagian cair dari residu jaringan. Supernatan yang dihasilkan digunakan untuk analisis kadar *Interleukin-6* (IL-6) dan *Superoxide Dismutase* (SOD) menggunakan metode *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

2) Persiapan Reagen ELISA

Prosedur ELISA dilakukan menggunakan kit ELISA komersial khusus untuk pengukuran IL-6 dan SOD, dengan memastikan rentang deteksi kit sesuai dengan kadar yang diperkirakan dalam

sampel. Larutan standar dengan konsentrasi yang telah diketahui untuk IL-6 dan SOD disiapkan sesuai petunjuk pada kit, dan kontrol negatif berupa buffer lisis tanpa sampel digunakan untuk memastikan tidak terjadi kontaminasi selama proses pengujian.

3) Prosedur ELISA

Pemeriksaan dilakukan menggunakan kit ELISA komersial spesifik untuk mencit (misalnya Rat IL-6 ELISA kit dan Rat SOD ELISA kit) sesuai instruksi pabrikan.

a. Pencucian Mikrotiter Plate: Bersihkan mikrotiter plate menggunakan buffer PBS yang mengandung 0,05% Tween-20 untuk menghilangkan sisa reagen dan mencegah kontaminasi, kemudian cuci sebanyak tiga kali.

b. Penambahan Sampel dan Standar: Masukkan 100 μ L supernatan sampel atau larutan standar IL-6 dan SOD ke dalam setiap sumur sesuai prosedur pada kit ELISA.

Setiap sampel dilakukan duplo atau triplo guna memperoleh hasil yang lebih akurat.

c. Inkubasi: Inkubasi *plate* pada suhu ruang ($\pm 1-2$ jam) agar terjadi reaksi antigen-antibodi spesifik untuk IL-6 dan SOD.

- d. Pencucian: Setelah inkubasi, cuci kembali mikrotiter plate 3–5 kali menggunakan PBS-Tween untuk menghilangkan sisa reagen yang tidak terikat.
 - e. Penambahan Enzim Konjugat: Tambahkan 100 μL larutan enzim konjugat (antibodi terkonjugasi enzim seperti HRP atau AP) ke setiap sumur, kemudian inkubasi selama 1 jam pada suhu ruang.
 - f. Pencucian: Lakukan pencucian ulang dengan buffer PBS-Tween setelah proses inkubasi enzim konjugat selesai.
 - g. Penambahan Substrat: Tambahkan 100 μL substrat TMB ke setiap sumur dan inkubasi selama 10–15 menit hingga terbentuk perubahan warna sebagai hasil reaksi enzimatik.
 - h. Penghentian Reaksi: Akhiri reaksi dengan menambahkan 50 μL larutan penghenti (asam sulfat atau asam fosfat) untuk menghentikan proses pembentukan warna.
- 4) Pembacaan hasil
- Hasil absorbansi dibaca menggunakan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm.
- 5) Analisis konsentrasi
- Kadar biomarker dinyatakan dalam pg/mL dan dihitung berdasarkan kurva standar yang disediakan pada kit.^{5,68}

4.6 Langkah Penelitian

- 1) Sebanyak 32 ekor mencit betina galur C57BL/6 (usia 8–12 minggu; berat 30–35 gram) digunakan sebagai hewan coba. Semua mencit menjalani aklimatisasi selama 7 hari dengan pakan dan *minum ad libitum*.
- 2) Setelah itu, mencit dibagi secara acak menjadi 4 kelompok (masing-masing 8 ekor), yaitu:
 - a. K1 (kontrol sehat, tanpa induksi dan tanpa SH-MSCS)
 - b. K2 (induksi *Dexamethasone* saja sebagai model *sarcopenia*)
 - c. K3 (induksi *Dexamethasone* + terapi SH-MSCS dosis 30 μ L)
 - d. K4 (induksi *Dexamethasone* + terapi SH-MSCS dosis 60 μ L)
- 3) Induksi *sarcopenia* dilakukan pada kelompok K2–K4 melalui pemberian *Dexamethasone* intraperitoneal dosis ± 20 mg/kgBB/hari i.p selama 10 hari (hari 1–10). Pemeriksaan histologi *sarcopenia* dilakukan dengan observasi perilaku, palpasi otot, pengukuran berat badan, dan pemeriksaan gejala klinis.
- 4) Selanjutnya, kelompok K3–K4 mendapat terapi intraperitoneal SH-MSCs sesuai dosis masing-masing 1 kali sehari selama 2 minggu, mulai hari ke-11 hingga hari ke-24, sedangkan kelompok K1 dan K2 tidak menerima terapi.
- 5) Pada hari ke-25 seluruh mencit diterminasi sesuai prosedur etik, kemudian dilakukan pengambilan sampel darah. Sampel otot *gastrocnemius* digunakan untuk pemeriksaan kadar IL-6 dan SOD

dengan metode ELISA menggunakan kit komersial spesifik untuk mencit (Rat IL-6 ELISA kit dan Rat SOD ELISA kit).

- 6) Hasil pembacaan dilakukan dengan ELISA reader pada panjang gelombang 450 nm, dan konsentrasi biomarker dinyatakan dalam pg/mL berdasarkan kurva standar yang disediakan pada kit.
- 7) Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan uji statistik untuk membandingkan kadar IL-6 dan SOD antar kelompok perlakuan.

4.7 Waktu dan Tempat Penelitian

4.7.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada November 2025 - Februari 2026. Tahapan penelitian dimulai dengan proses aklimatisasi mencit selama 7 hari, kemudian dilanjutkan dengan induksi *sarcopenia* menggunakan *Dexamethasone* selama 10 hari.

Setelah itu, kelompok perlakuan mendapatkan terapi SH-MSCS selama 14 hari. Pada hari ke-25 dilakukan terminasi mencit untuk pengambilan sampel otot *gastrocnemius*. Sampel dianalisis untuk mengukur kadar IL-6 dan SOD. Proses pemeriksaan ELISA berlangsung selama 3–5 hari, diikuti dengan analisis data dan penyusunan laporan yang memakan waktu sekitar 7–10 hari.

4.7.2 Tempat Penelitian

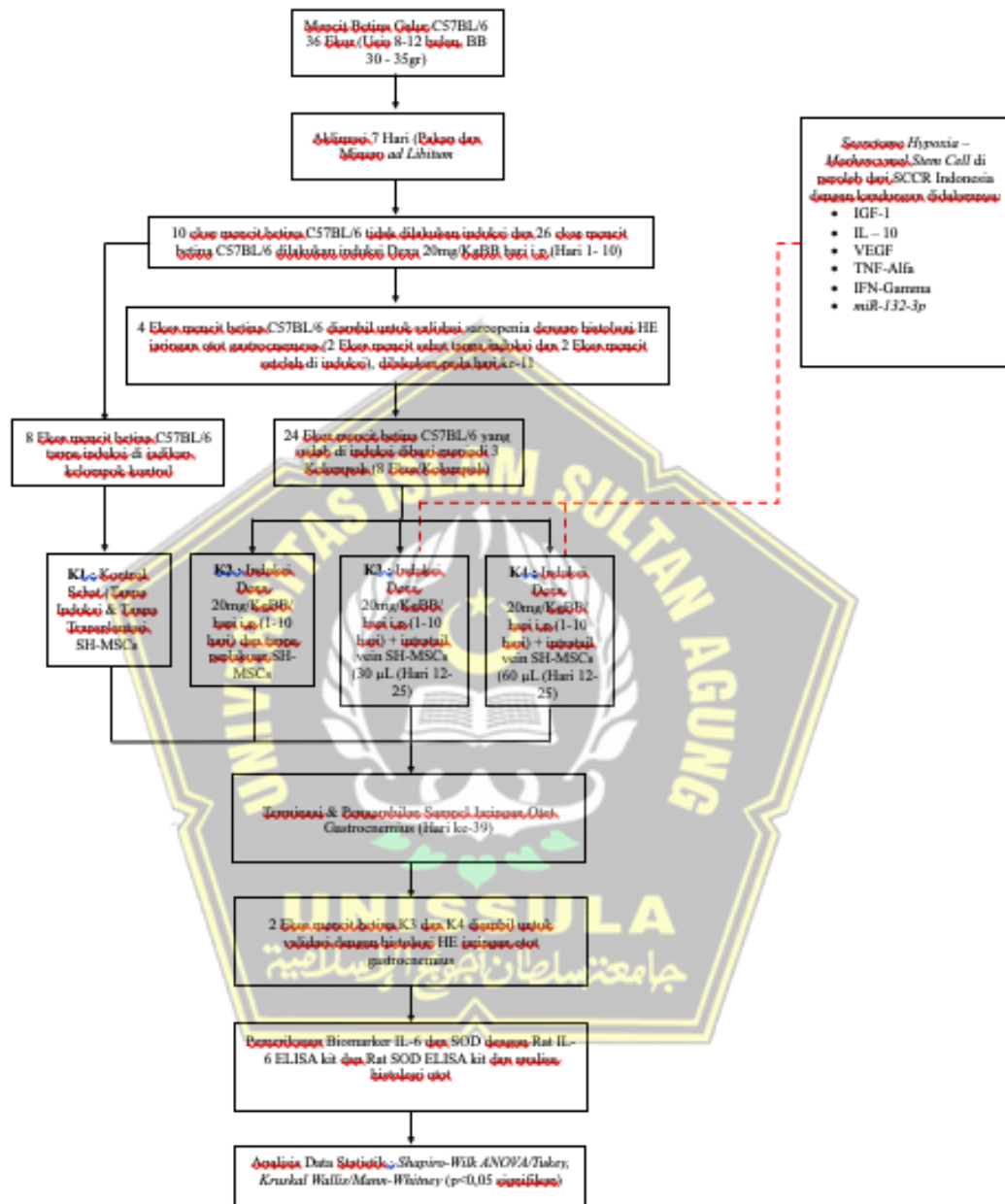
Penelitian ini dilaksanakan di *Stem Cell and Cancer Research (SCCR)* Semarang dan *CITO Medical Research Centre Laboratory*

4.8 Metode Analisis Data

Seluruh hasil analisis dilakukan di laboratorium CITO dan disajikan dalam bentuk tabel berisi nilai rata-rata \pm standar deviasi, grafik perbandingan antar kelompok, serta narasi ilmiah yang menjelaskan makna biologis dari perbedaan kadar IL-6 dan SOD pada masing-masing kelompok perlakuan. Data hasil pemeriksaan kadar IL-6 dan SOD dalam kadar pada otot *gastrocnemius* terlebih dahulu dianalisis uji normalitas menggunakan metode *Shapiro–Wilk* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$. Data IL-6 tidak berdistribusi normal dan memiliki varians yang tidak homogen dengan *Levene's Test*. Analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal–Wallis*. Hasil uji tidak terdapat perbedaan signifikan seluruh kelompok ($p > 0,05$).

Data SOD memenuhi asumsi normalitas dan homogenitas, sehingga analisis dilanjutkan menggunakan uji *One-Way ANOVA* untuk membandingkan nilai rata-rata antar lima kelompok perlakuan. Hasil *One-Way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$), sehingga diteruskan dengan uji *post hoc Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.⁶⁶ Analisis dilakukan menggunakan software SPSS.

4.9 Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh *Secretome Hypoxia – Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) terhadap kadar IL-6 dan aktivitas enzim SOD pada mencit betina galur C57BL/6 yang dikondisikan mengalami sarcopenia melalui pemberian dexamethasone. Penelitian dilaksanakan pada periode Oktober 2025 hingga Januari 2026 di *Stemcell and Cancer Center Research Indonesia*, Semarang.

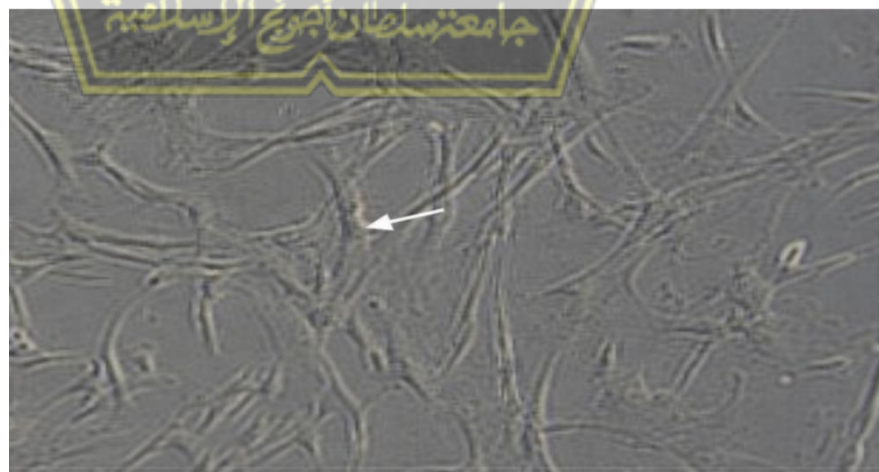
Penelitian ini menggunakan desain eksperimental *in vivo* dengan pendekatan *Post Test Only Control Group Design*, serta model hewan yang menggambarkan kondisi penurunan massa dan fungsi otot. Sampel penelitian dibagi menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) menjadi dua kelompok utama, yaitu kelompok yang menerima perlakuan SH-MSCs dan kelompok kontrol.

Setelah pemberian perlakuan, masing-masing kelompok dianalisis untuk menilai kadar IL-6, sebagai indikator respons inflamasi, serta kadar SOD, sebagai penanda kemampuan antioksidan jaringan otot. Evaluasi ini bertujuan untuk memahami pengaruh SH-MSCs dalam modulasi stres oksidatif dan inflamasi, sehingga memberikan efek protektif pada otot yang mengalami degenerasi akibat sarcopenia.

5.1.1 Hasil Validasi SH-MSCs

Mesenchymal Stem Cells (MSCs) diperoleh dari Laboratorium SCCR Indonesia, Semarang dengan metode isolasi menggunakan tali pusat mencit berusia gestasi 15 hari sebagai sumber sel. Setelah proses isolasi, sel dikultivasi dalam flask berisi media *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) sesuai dengan prosedur standar laboratorium.

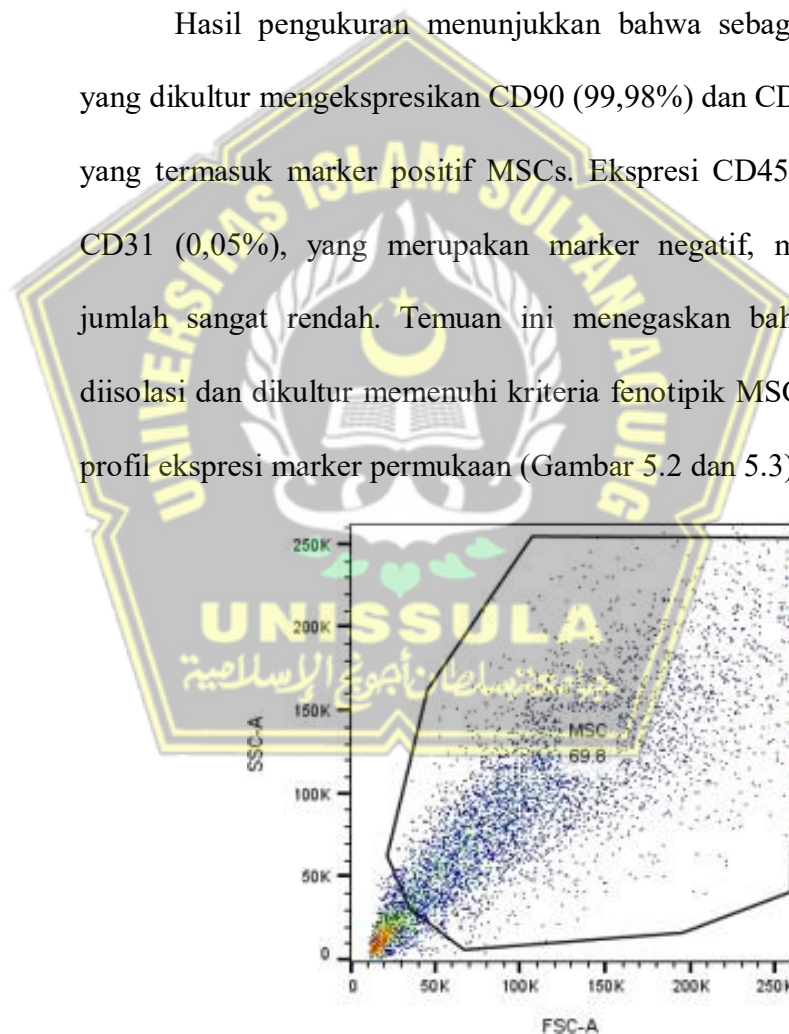
Pada passage kelima, dilakukan pemeriksaan morfologi sel menggunakan mikroskop cahaya inversi. Hasil observasi menunjukkan bahwa sel-sel memiliki bentuk fusiform (*spindle-shaped*) yang khas dari MSC dan menempel dengan baik pada permukaan flask yang menunjukkan daya adhesi yang tinggi. Sel-sel juga memperlihatkan pola pertumbuhan yang seragam, dengan ukuran dan orientasi yang konsisten, mengindikasikan fenotip stabil serta viabilitas sel yang terjaga dalam kondisi kultur *in vitro* (Gambar 5.1).



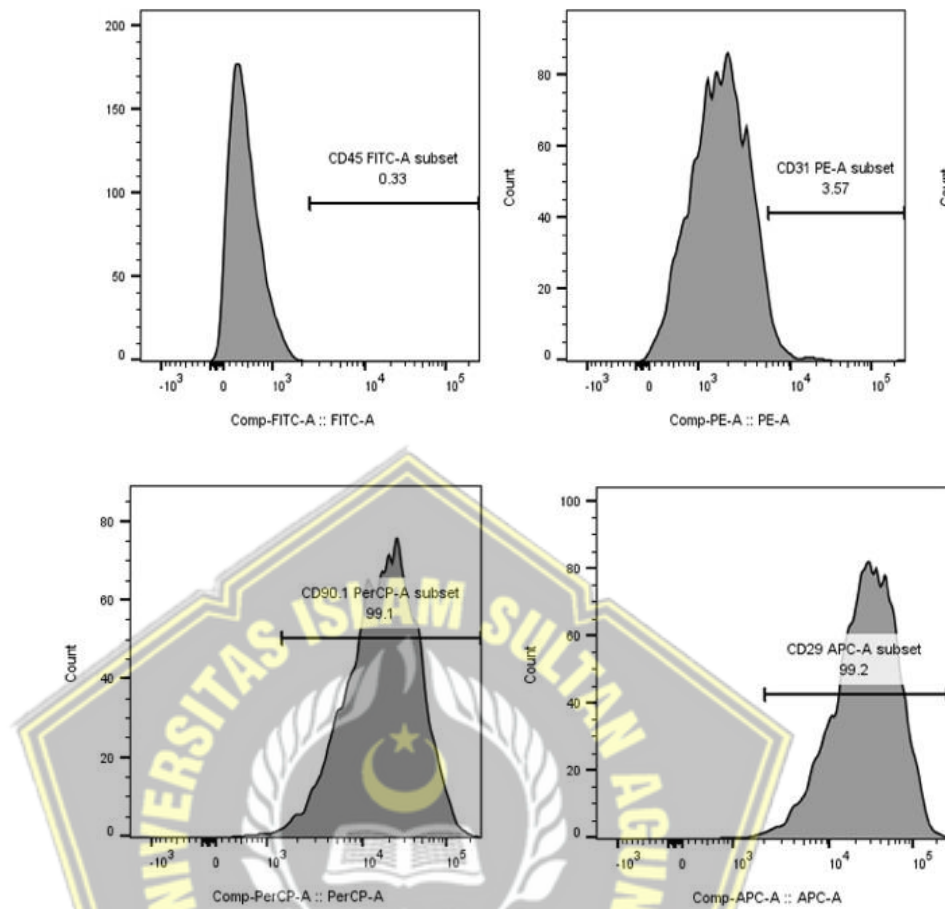
Gambar 5.1 Morfologi Khas MSC. Morfologi berbentuk fibroblast-like pada pembesaran 100x

Sel-sel MSCs divalidasi identitasnya melalui analisis *flow cytometry*. *Flow cytometry* digunakan untuk mengevaluasi ekspresi marker permukaan sel spesifik yang menjadi indikator utama dalam identifikasi MSCs. Analisis ini difokuskan pada deteksi marker positif MSCs, yaitu CD90 dan CD29, serta marker negatif MSCs, yaitu CD45 dan CD31.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa sebagian besar sel yang dikultur mengekspresikan CD90 (99,98%) dan CD29 (99,25%), yang termasuk marker positif MSCs. Ekspresi CD45 (0,14%) dan CD31 (0,05%), yang merupakan marker negatif, muncul dalam jumlah sangat rendah. Temuan ini menegaskan bahwa sel yang diisolasi dan dikultur memenuhi kriteria fenotipik MSC berdasarkan profil ekspresi marker permukaan (Gambar 5.2 dan 5.3).



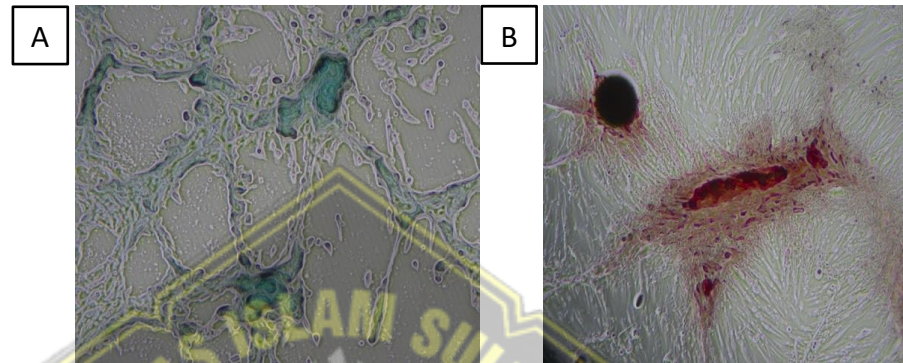
Gambar 5.2 Gating populasi sel MSC yang *viable*



Gambar 5.3 Analisis *flow cytometry* terhadap ekspresi CD45, CD31, CD90 dan CD29

Setelah identitas MSCs dikonfirmasi menggunakan *flow cytometry* sesuai standar ISCT, kemampuan diferensiasi sel MSC diuji dengan menggunakan medium khusus untuk osteogenik dan adipogenik. Pengamatan hasil diferensiasi menunjukkan bahwa sel yang diisolasi mampu berkembang menjadi osteosit, ditandai dengan pewarnaan Alizarin Red positif pada matriks kalsium, serta menjadi adiposit, ditunjukkan oleh pewarnaan Oil Red O positif pada lipid intraseluler (Gambar 5.4A dan B). Temuan ini menegaskan bahwa sel

tersebut memiliki potensi multipotent, sehingga memenuhi kriteria *mesenchymal stem cells* yang mampu berdiferensiasi menjadi sel fungsional tertentu ketika ditempatkan dalam kondisi induksi yang sesuai.



Gambar 5.4 Kemampuan MSCs berdiferensiasi. (A) Berdiferensiasi menjadi *Chondrocyte Alcian Blue Staining* perbesaran 100x. (B) Berdiferensiasi menjadi *Osteogenic Alizarin-red staining* perbesaran 200x

MSCs selanjutnya diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan *hypoxic chamber*. Setelah periode inkubasi, medium kultur yang mengandung *secretome* MSC dikumpulkan dan selanjutnya diproses dengan metode *Tangential Flow Filtration* (TFF). Pada proses ini, membran filtrasi dengan berat molekul 10–100 kDa digunakan untuk memisahkan komponen *secretome* berdasarkan berat molekulnya. Filtrat yang diperoleh memuat protein serta faktor bioaktif dalam rentang berat molekul 10–100 kDa selanjutnya dikonsentrasikan dan dimurnikan untuk menghasilkan *Secretome Hypoxia – Mesenchymal Stem Cells*

(SH-MSCs). Profil protein SH-MSCs yang dihasilkan ditampilkan pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Profil Komponen SH-MSCs

Parameter	Hasil	Standar	Metode Analisis
VEGF	1981 pg/mL	>100 pg/mL	ELISA
INF- γ	41,54 pg/mL	\leq 50 pg/mL	ELISA
TNF- α	<i>Undetected</i>	< 100 pg/mL	ELISA
IGF	6292 pg/mL	> 100 pg/mL	ELISA
IL-10	157 pg/mL	> 100 pg/mL	ELISA
miRNA 132-3p	Positive (3.35)		qPCR

5.1.2 Hasil Validasi Sarcopenia

Validasi model sarcopenia pada mencit betina galur C57BL/6 dilakukan dengan mengukur berat badan serta menganalisis histologi otot gastrocnemius. Analisis histologis menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 \times dan 400 \times dilakukan pada hari ke-11, yaitu satu hari setelah selesai pemberian dexamethasone dengan dosis 20 mg/kgBB selama 10 hari. Berat badan digunakan sebagai indikator makroskopis untuk menilai kondisi fisiologis umum mencit sepanjang penelitian. Data lengkap mengenai perubahan berat badan pada mencit betina C57BL/6 selama penelitian dapat dilihat pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Berat Badan Mencit Betina C57BL/6

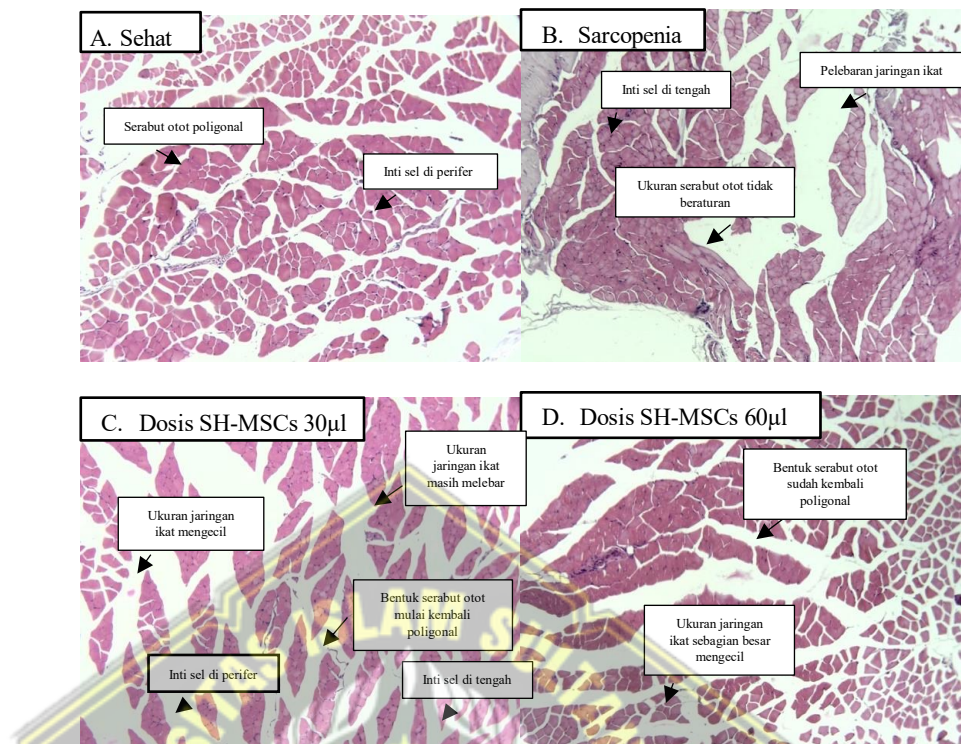
Kelompok	n	BB Awal	BB Akhir	Δ BB (g)	Interpretasi
		(g) Mean \pm SD	(g) Mean \pm SD	Mean \pm SD	
K1 (tikus sehat)	8	30,00 \pm 0,76	31,50 \pm 1,07	+1,50 \pm 1,41	Berat badan meningkat (normal)
K2 (kontrol negatif)	8	36,50 \pm 1,60	28,63 \pm 2,00	- 7,88 \pm 3,18	Penurunan berat badan signifikan akibat induksi dexamethasone
K3 (SH-MSC 30 μ L)	8	36,38 \pm 0,92	28,00 \pm 3,25	- 8,38 \pm 3,58	SH-MSC tidak mencegah penurunan BB
K4 (SH-MSC 60 μ L)	8	35,88 \pm 1,25	30 75 \pm 4,74	- 5,13 \pm 5,00	Penurunan BB lebih ringan dibandingkan kelompok SH-MSK 30 μ L

Tabel 5.2 menunjukkan rata-rata berat badan awal antar kelompok relatif seimbang, meskipun kelompok tikus sehat menunjukkan berat awal yang sedikit lebih rendah secara fisiologis. Setelah perlakuan selesai, kelompok yang menerima dexamethasone mengalami penurunan berat badan, sementara kelompok sehat yang tidak mendapat induksi dexamethasone menunjukkan kenaikan berat.

Berdasarkan analisis statistik, induksi dexamethasone terbukti signifikan memicu penurunan berat badan (Δ BB) pada subjek ($F = 13,223$; $p < 0,001$) dengan pengaruh yang kuat ($\eta^2 = 0,586$). Kelompok K2 ($-7,88 \pm 3,18$ g) dan K3 ($-8,38 \pm 3,58$ g) menunjukkan penyusutan berat badan yang serupa, menandakan pemberian SH-MSCs dosis 30 μ L belum efektif menghambat efek katabolik akibat induksi dexamethasone. Namun, pada kelompok K4, penurunan berat badan relatif lebih rendah ($-5,13 \pm 5,00$ g), yang mengindikasikan adanya

efek protektif parsial dari dosis SH-MSCs yang lebih tinggi. Sebaliknya, kelompok kontrol tikus sehat (K1) tetap mengalami kenaikan berat badan ($+1,50 \pm 1,41$ g), mempertegas perbedaan bermakna antara kondisi fisiologis normal dengan kelompok yang diinduksi sarcopenia ($p < 0,05$). Hasil penelitian ini membuktikan bahwa induksi dexamethasone memicu penurunan berat badan secara nyata, sedangkan penggunaan SH-MSCs dalam dosis yang lebih besar berpotensi meminimalkan penyusutan bobot tersebut, walaupun belum mampu mengembalikan kondisi tubuh ke keadaan normal sepenuhnya.

Secara histopatologis, otot gastrocnemius pada kelompok sarcopenia menunjukkan tanda-tanda atrofi yang jelas, meliputi pengecilan diameter serat otot, kehadiran serat *piceau*, serta pelebaran endomisium akibat akumulasi jaringan ikat (fibrosis). Meskipun inti sel tetap berada di perifer, minimnya inti sentral menunjukkan proses regenerasi yang tidak berjalan optimal. Gambaran ini berbanding terbalik dengan kelompok sehat yang menampilkan serabut otot poligonal padat dengan ukuran yang bervariasi serta tersusun rapat, dan memiliki morfologi otot rangka matur yang normal tanpa tanda-tanda atrofi serta inti sentral yang tidak terlihat (Gambar 5.5).



Gambar 5.5 Gambaran Histologi Otot Gastrocnemeus Mencit Betina C57BL/6

Gambaran histologi pada kondisi sarkopenia memperlihatkan mikroskopis otot yang menunjukkan variasi ukuran serabut yang didominasi oleh serat kecil tidak beraturan serta pelebaran jaringan ikat (endomysium). Kehadiran inti sel di bagian tengah (sentral) menjadi indikator kuat adanya atrofi dan perubahan struktur otot.

Pemberian terapi SH-MSCs dosis 30 μ L mulai menunjukkan perbaikan, ditandai dengan peningkatan ukuran serabut otot yang bentuknya mulai kembali poligonal. Meski sebagian inti sel telah kembali ke posisi normal di tepi (perifer), keberadaan inti sentral yang masih ditemukan mengisyaratkan bahwa proses pemulihan otot masih berjalan. Sebaliknya, SH-MSCs dosis 60 μ L memberikan hasil yang lebih optimal. Serabut otot tampak lebih padat, besar, dan seragam

dengan mayoritas inti sel sudah menetap di perifer, menunjukkan regenerasi yang hampir tuntas.

Setelah validasi model sarcopenia pada mencit betina galur C57BL/6 berhasil dilakukan, mencit dibagi kedalam beberapa kelompok. Mencit tanpa induksi dexamethasone sebagai kelompok kontrol sehat (K1), sedangkan mencit yang diinduksi sarcopenia dibagi secara acak kedalam tiga kelompok. Kelompok K2 berperan sebagai kontrol negatif tanpa intervensi terapi. Kelompok K3 merupakan kelompok sarcopenia yang menerima injeksi SH-MSCs sebanyak 30 μ l melalui vena ekor selama 14 hari, sementara Kelompok K4 mendapatkan perlakuan serupa dengan dosis yang lebih tinggi, yakni 60 μ l selama periode waktu yang sama.

Perlakuan induksi *dexamethasone* selama 10 hari terhadap mencit betina galur C57BL/6 menunjukkan bahwa terdapat perubahan aktivitas motorik yang terlihat jelas dibandingkan dengan kelompok sehat atau kelompok kontrol. Pada tahap fase awal induksi, aktivitas spontan pada mencit menunjukkan tanda tanda penurunan yang ditandai dengan berkurangnya frekuensi eksplorasi, jarak tempuh, serta meningkatnya waktu istirahat dari mencit itu sendiri. Adanya proses paparan dexamethasone dosis tinggi yang dilakukan dalam kurun waktu lama menunjukkan adanya penurunan aktivitas mencit semakin terlihat jelas dan menunjukkan konsistensi. Mencit yang dilakukan induksi *dexamethasone* tampak lebih pasif dengan respons yang sangat

lambat terhadap rangsangan faktor extrinsic. Adanya aktivitas locomotor berkurang, ditandai dengan langkah kaki yang lebih pendek dan lambat serta adanya penurunan kemampuan dalam mempertahankan postur tubuh. Selain itu kemampuan mencit dalam melakukan aktivitas yang membutuhkan kekuatan otot mengalami penurunan dari hari ke hari. Perubahan tersebut mencerminkan adanya gangguan fungsi otot rangka yang merupakan karakteristik utama dari sarcopenia itu sendiri.

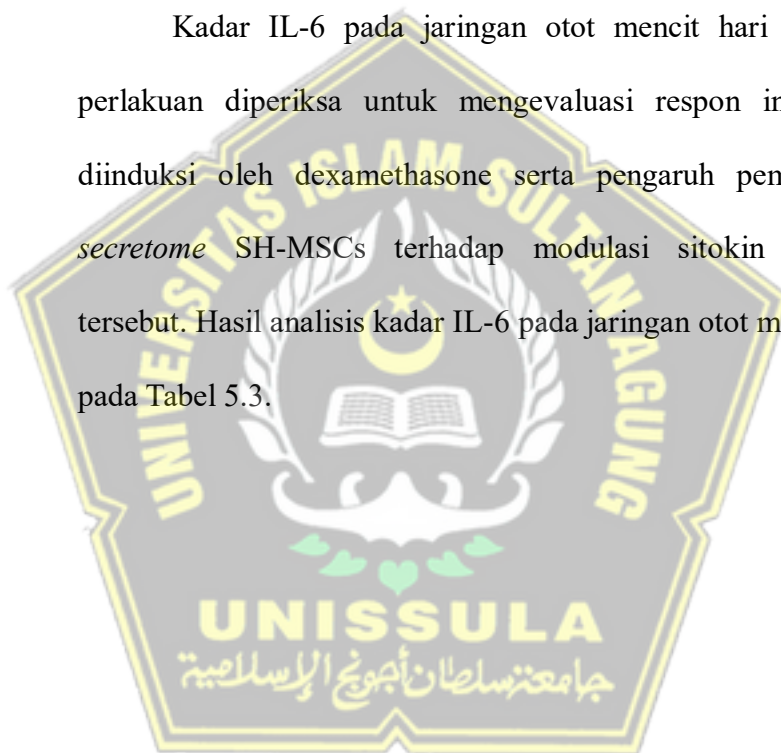
Proses pengambilan sampel jaringan dilaksanakan pada hari ke-39, atau tepat satu minggu setelah pemberian terapi SH-MSCs berakhir, guna menjamin ketepatan waktu dalam mengamati perubahan kadar IL-6 dan SOD. Jaringan otot yang telah diisolasi segera diproses dengan cepat untuk mencegah terjadinya kerusakan pada komponen di dalam sel. Tahap homogenisasi jaringan dilakukan menggunakan larutan *buffer* lisis yang dilengkapi dengan inhibitor protease guna mencegah degradasi protein oleh enzim proteolitik. Pasca homogenisasi, supernatan dipisahkan melalui proses sentrifugasi untuk memperoleh isolat protein, yang kemudian diukur konsentrasi protein totalnya dan dievaluasi kualitasnya.

Isolat protein tersebut selanjutnya digunakan sebagai sampel dalam uji ELISA untuk menganalisis biomarker. Fokus utama analisis ini tertuju pada pengukuran kadar IL-6 dan SOD, yang merupakan parameter krusial dalam memahami mekanisme patofisiologi atrofi otot

yang dipicu oleh ketidakseimbangan antara sitokin pro-inflamasi dan keseimbangan oksidatif di dalam jaringan. Hasil pemeriksaan ELISA memberikan gambaran kuantitatif mengenai konsentrasi biomarker tersebut secara spesifik, yang selanjutnya dikorelasikan dengan efektivitas pemberian terapi SH-MSCs terhadap proses pemulihan otot.

5.1.3 Hasil Pemeriksaan Kadar IL-6 pada Jaringan Otot

Kadar IL-6 pada jaringan otot mencit hari ke-39 setelah perlakuan diperiksa untuk mengevaluasi respon inflamasi yang diinduksi oleh dexamethasone serta pengaruh pemberian terapi *secretome* SH-MSCs terhadap modulasi sitokin pro-inflamasi tersebut. Hasil analisis kadar IL-6 pada jaringan otot mencit disajikan pada Tabel 5.3.



Tabel 5.3 Deskriptif Rata-rata Kadar IL-6 dan Uji *Kruskal-Wallis*

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	SH- MSCs 30 μ L (K3)	SH- MSCs 60 μ L (K4)	<i>P</i> value
Kadar IL-6 (ng/L) (n=6)					
<i>Mean</i>	4,52	4,81	6,66	10,94	
<i>SD</i>	3,35	2,49	0,79	6,60	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,028	0,111	0,201	0,119	
<i>Levene Test</i>					0,003
<i>Kruskal-Wallis</i>					0,121

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Distribusi tidak normal ($p < 0,05$)

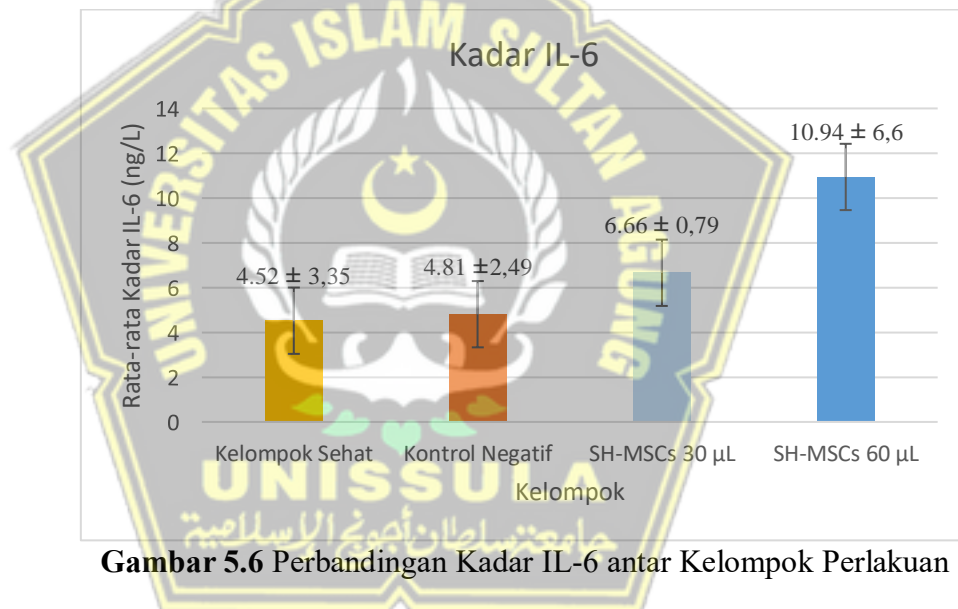
Levene Test = Data tidak homogen ($p < 0,05$)

Kruskal-Wallis = Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis deskriptif pada Tabel 5.3, kelompok SH-MSCs 60 μ L (K4) menunjukkan rata-rata kadar IL-6 tertinggi, yaitu sebesar $10,94 \pm 6,60$ ng/L, diikuti oleh kelompok SH-MSCs 30 μ L (K3) dengan rata-rata $6,66 \pm 0,79$ ng/L. Kelompok kontrol negatif (K2) memiliki rata-rata kadar IL-6 $4,81 \pm 2,49$ ng/L, sedangkan kelompok tikus sehat (K1) menunjukkan kadar IL-6 terendah, yaitu $4,52 \pm 3,35$ ng/L.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data kadar IL-6 pada kelompok tikus sehat (K1) tidak berdistribusi normal ($p=0,028$), sedangkan kelompok lainnya berdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test* menunjukkan nilai $p=0,003$, menandakan bahwa varians antar kelompok tidak homogen.

Analisis perbedaan kadar IL-6 antar kelompok dilakukan menggunakan uji nonparametrik *Kruskal–Wallis* karena sebagian data tidak normal dan varians tidak homogen. Hasil uji *Kruskal–Wallis* menunjukkan nilai $p=0,121$ ($p>0,05$), yang mengindikasikan bahwa perbedaan kadar IL-6 antar kelompok perlakuan tidak signifikan secara statistik pada taraf signifikansi 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kadar IL-6 tertinggi terdapat pada K4 dan terendah pada K1, perbedaan tersebut tidak cukup kuat secara statistik.



Gambar 5.6 Perbandingan Kadar IL-6 antar Kelompok Perlakuan

5.1.4 Hasil Pemeriksaan Kadar SOD pada Jaringan Otot

Kadar SOD pada jaringan otot mencit pada hari ke-39 setelah perlakuan diukur untuk menilai kapasitas sistem pertahanan antioksidan otot serta efek pemberian terapi secretome SH-MSCs dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan tersebut. Hasil pengukuran kadar SOD pada jaringan otot mencit disajikan pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Deskriptif Rata-rata Kadar SOD dan Uji *One Way-ANOVA*

Kelompok	Tikus Sehat (K1)	Kontrol Negatif (K2)	SH- MSCs 30 μ L (K3)	SH- MSCs 60 μ L (K4)	<i>P</i> value
Kadar SOD (ng/L) (n=6)					
<i>Mean</i>	4,52	4,68	5,01	5,14	
<i>SD</i>	0,62	0,49	0,85	0,27	
<i>Shapiro-Wilk</i>	0,252	0,154	0,268	0,113	
<i>Levene Test</i>					0,107
<i>One Way-ANOVA</i>					0,278

Keterangan:

Shapiro-Wilk = Distribusi normal ($p > 0,05$)

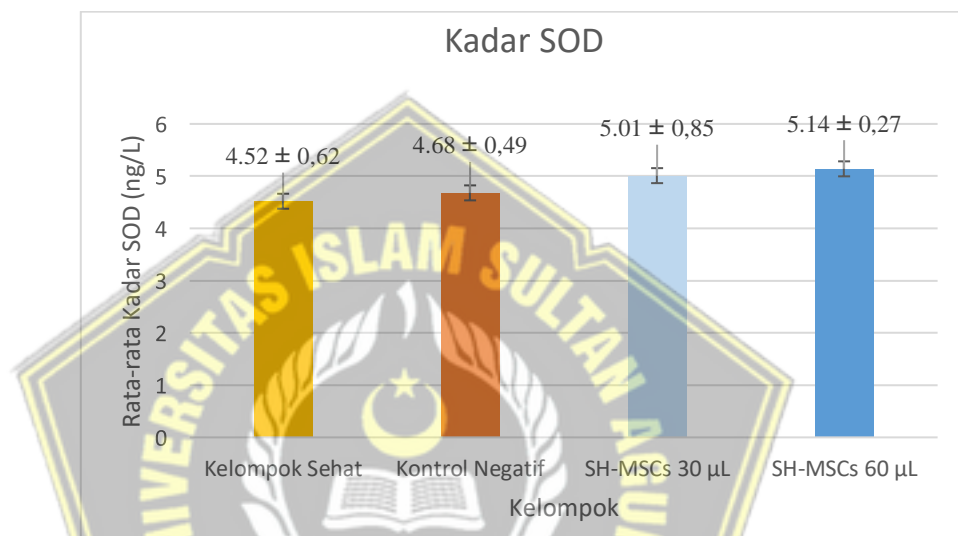
Levene Test = Data homogen ($p > 0,05$)

One Way-ANOVA = Tidak terdapat perbedaan signifikan antar kelompok ($p > 0,05$)

Berdasarkan hasil analisis deskriptif pada Tabel 5.4, kadar SOD tertinggi terdapat pada kelompok SH-MSCs 60 μ L (K4), yaitu $5,14 \pm 0,27$ ng/L, diikuti oleh kelompok SH-MSCs 30 μ L (K3) dengan $5,01 \pm 0,85$ ng/L. Kelompok kontrol negatif (K2) memiliki kadar SOD $4,68 \pm 0,49$ ng/L, sedangkan kelompok tikus sehat (K1) menunjukkan kadar terendah, yaitu $4,52 \pm 0,62$ ng/L.

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa seluruh kelompok memiliki distribusi data normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene Test* menghasilkan nilai $p = 0,107$, menandakan bahwa varians antar kelompok homogen. Analisis perbedaan kadar SOD antar kelompok dilakukan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA*. Hasil uji menunjukkan nilai $p = 0,278$ ($p > 0,05$), yang mengindikasikan bahwa perbedaan kadar SOD antar kelompok tidak signifikan secara statistik

pada taraf signifikansi 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun kelompok SH-MSCs menunjukkan kadar SOD yang lebih tinggi secara deskriptif dibandingkan kontrol, perbedaan tersebut tidak cukup kuat secara statistik untuk menyimpulkan adanya efek perlakuan yang nyata.



Gambar 5.7 Perbandingan Kadar SOD antar Kelompok Perlakuan

5.2 Pembahasan

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek *Secretome Hypoxia–Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs) terhadap modulasi respons inflamasi dan kapasitas antioksidan pada jaringan otot mencit yang terpapar stres oksidatif dan inflamasi. Parameter yang digunakan sebagai indikator adalah kadar IL-6 sebagai sitokin pro-inflamasi utama dan kadar superoksida dismutase (SOD) sebagai enzim antioksidan endogen. Induksi sarkopenia dinyatakan berhasil berdasarkan validasi parameter klinis dan struktural, yang meliputi reduksi bobot tubuh secara signifikan serta anomali histopatologis seperti atrofi serat otot dan penebalan jaringan ikat

endomysium. Selain itu, peningkatan ekspresi marka molekuler terkait degradasi protein mempertegas terjadinya patofisiologi otot yang selaras dengan profil sarkopenia akibat induksi glukokortikoid.

Hasil pengukuran kadar IL-6 pada jaringan otot mencit menunjukkan variasi yang berbeda antar kelompok perlakuan, yang dapat dijelaskan dari kondisi fisiologis dan perlakuan yang diterima masing-masing kelompok. Pada kelompok tikus sehat (K1), kadar IL-6 terendah dicatat, yaitu $4,52 \pm 3,35$ ng/L. Hasil ini konsisten dengan kondisi fisiologis normal, di mana tikus yang tidak mengalami stres atau peradangan menunjukkan kadar sitokin pro-inflamasi yang rendah. IL-6 merupakan sitokin pro-inflamasi utama yang berperan dalam regulasi respons imun dan inflamasi, sehingga kadar yang rendah pada K1 mencerminkan status otot yang sehat tanpa stimulasi inflamasi tambahan.⁷⁰

Kelompok kontrol negatif (K2), yang hanya dipaparkan deksametason tanpa terapi SH-MSCs, menunjukkan peningkatan kadar IL-6 menjadi $4,81 \pm 2,49$ ng/L dibandingkan tikus sehat. Peningkatan ini mencerminkan respons inflamasi awal yang terjadi pada otot meskipun deksametason dikenal sebagai agen anti-inflamasi yang bekerja dengan cara menghambat NF- κ B dan AP-1, menekan produksi sitokin inflamasi dan menghambat jalur arakidonat. Hal ini dapat dijelaskan bahwa paparan glukokortikoid pada otot yang mengalami stres atau kerusakan minor tidak sepenuhnya menekan ekspresi IL-6, jalur NF- κ B tetap dapat diaktifkan akibat stres seluler, memicu produksi sitokin pro-inflamasi. Kondisi ini konsisten dengan

literatur yang menunjukkan bahwa pada sarcopenia yang diinduksi glukokortikoid, IL-6 meningkat sebagai bagian dari respons inflamasi lokal meski terdapat efek supresif parsial dari glukokortikoid.⁷¹ Tingginya kadar IL-6 juga dikaitkan dengan gangguan redoks yang merupakan kondisi terjadinya ketidakseimbangan antara produksi oksidan (ROS) dan kapasitas sistem antioksidan tubuh sehingga sel mengalami stress oksidatif.⁷²

Kelompok SH-MSCs 30 μ L (K3) menunjukkan peningkatan kadar IL-6 menjadi $6,66 \pm 0,79$ ng/L, lebih tinggi dibandingkan K2. Peningkatan ini bisa diinterpretasikan sebagai respons awal terhadap pemberian SH-MSCs, di mana faktor-faktor bioaktif yang dilepaskan oleh MSCs, seperti sitokin, chemokin, dan eksosom, dapat memodulasi sistem imun lokal. IL-6 tidak selalu menandakan inflamasi merugikan, dalam konteks regenerative medicine, IL-6 bisa berperan *pro-regeneratif* (myokine) dan mendukung rekrutmen sel imun untuk perbaikan jaringan.⁷³ Beberapa studi menunjukkan bahwa MSCs mampu menghasilkan efek imunomodulator yang kompleks, termasuk stimulasi sementara sitokin pro-inflamasi untuk memicu proses penyembuhan jaringan, rekrutmen sel imun, dan perbaikan matriks ekstraseluler.⁷⁴

Kelompok SH-MSCs 30 μ L (K4) mencatat kadar IL-6 tertinggi, yaitu $10,94 \pm 6,60$ ng/L. Kenaikan ini kemungkinan mencerminkan stimulasi imunomodulator yang lebih kuat akibat pemberian dosis secretome yang sama. SH-MSCs diketahui mengandung molekul-molekul seperti IL-6 sendiri, VEGF, dan faktor pertumbuhan lainnya yang dapat memicu respons

inflamasi awal sebagai bagian dari mekanisme reparatif jaringan.⁷⁵ Mekanisme ini sesuai dengan teori “*inflammatory preconditioning*”, di mana stimulasi pro-inflamasi sementara diperlukan untuk memulai proses regenerasi dan remodeling jaringan, meskipun akhirnya secretome juga memiliki efek anti-inflamasi jangka panjang.^{75,76}

Secara keseluruhan, meskipun terdapat perbedaan rata-rata kadar IL-6 antar kelompok, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaan ini tidak signifikan secara statistik. Interpretasi biologis dari hasil ini menunjukkan bahwa SH-MSCs dapat memicu modulasi sitokin pro-inflamasi seperti IL-6, yang bersifat pleiotropik, sebagai bagian dari mekanisme imunomodulasi dan perbaikan jaringan, namun efeknya bersifat kompleks dan dipengaruhi oleh variasi individual serta interaksi dengan faktor anti-inflamasi endogen, termasuk efek dexamethasone pada kelompok kontrol.

Berbeda dengan profil sitokin pro-inflamasi yang cenderung bervariasi secara individual, parameter keseimbangan oksidatif justru menunjukkan pola respons yang lebih terukur terhadap kondisi patofisiologis dan intervensi yang diberikan. Hasil pengukuran kadar SOD pada jaringan otot mencit menunjukkan adanya peningkatan aktivitas enzim antioksidan yang berbeda antar kelompok perlakuan, yang dapat dijelaskan berdasarkan kondisi fisiologis dan intervensi yang diterima masing-masing kelompok. Pada kelompok tikus sehat (K1), kadar SOD tercatat terendah, yaitu $4,52 \pm 0,62$ ng/L. Hal ini sesuai dengan kondisi normal jaringan otot yang tidak

mengalami stres oksidatif atau paparan inflamasi yang signifikan, sehingga kebutuhan untuk aktivasi sistem antioksidan endogen relatif rendah. SOD adalah enzim antioksidan endogen utama yang berperan sebagai garis pertahanan pertama tubuh terhadap radikal bebas superoksida, membantu menjaga keseimbangan redoks seluler dan mengendalikan ROS dalam kondisi fisiologis normal. Dalam jaringan yang tidak mengalami stres oksidatif atau paparan inflamasi signifikan, aktivitas SOD relatif stabil dan tidak meningkat drastis karena kebutuhan untuk detoksifikasi ROS masih rendah.⁷⁷

Kelompok kontrol negatif (K2) menunjukkan peningkatan kadar SOD menjadi $4,68 \pm 0,49$ ng/L dibandingkan K1. Peningkatan ini kemungkinan merupakan respons kompensatori otot terhadap stres oksidatif minor yang mungkin timbul selama prosedur eksperimental atau paparan dexamethasone. Secara fisiologis, SOD berperan dalam detoksifikasi radikal bebas superoksida menjadi hidrogen peroksida, sehingga peningkatan kadar enzim ini pada K2 dapat mencerminkan aktivasi mekanisme pertahanan antioksidan endogen terhadap stres oksidatif ringan.⁷⁸

Pada kelompok SH-MSCs 30 μ L (K3), kadar SOD meningkat lebih lanjut menjadi $5,01 \pm 0,85$ ng/L. Peningkatan ini menunjukkan bahwa pemberian SH-MSCs dapat merangsang aktivitas enzim antioksidan di jaringan otot. Mekanisme yang mungkin terjadi adalah melalui kandungan faktor pertumbuhan dan molekul bioaktif dalam SH-MSCs, seperti VEGF,

HGF, dan eksosom yang kaya antioksidan, yang dapat meningkatkan ekspresi gen SOD melalui aktivasi jalur Nrf2 (*nuclear factor erythroid 2-related factor 2*). Aktivasi Nrf2 memicu transkripsi enzim antioksidan endogen termasuk SOD, katalase, dan glutathione peroksidase, sehingga jaringan otot mampu mengatasi radikal bebas yang terbentuk akibat stres oksidatif.^{45,79}

Kelompok SH-MSCs 30 μ L (K4) menunjukkan kadar SOD tertinggi, yaitu $5,14 \pm 0,27$ ng/L, namun perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik. SH-MSCs diketahui mengandung molekul antioksidan dan mediator anti-inflamasi yang tidak hanya meningkatkan kadar SOD tetapi juga menurunkan pembentukan ROS, sehingga menciptakan lingkungan yang kondusif untuk regenerasi dan perbaikan jaringan.⁸⁰ Temuan ini didukung oleh studi terbaru yang mengamati bahwa *secretome* MSC dari berbagai sumber dapat membantu menurunkan kadar ROS dan mendukung regenerasi jaringan melalui peningkatan aktivitas enzim antioksidan, termasuk SOD, serta menghambat apoptosis dan kerusakan oksidatif.⁸¹

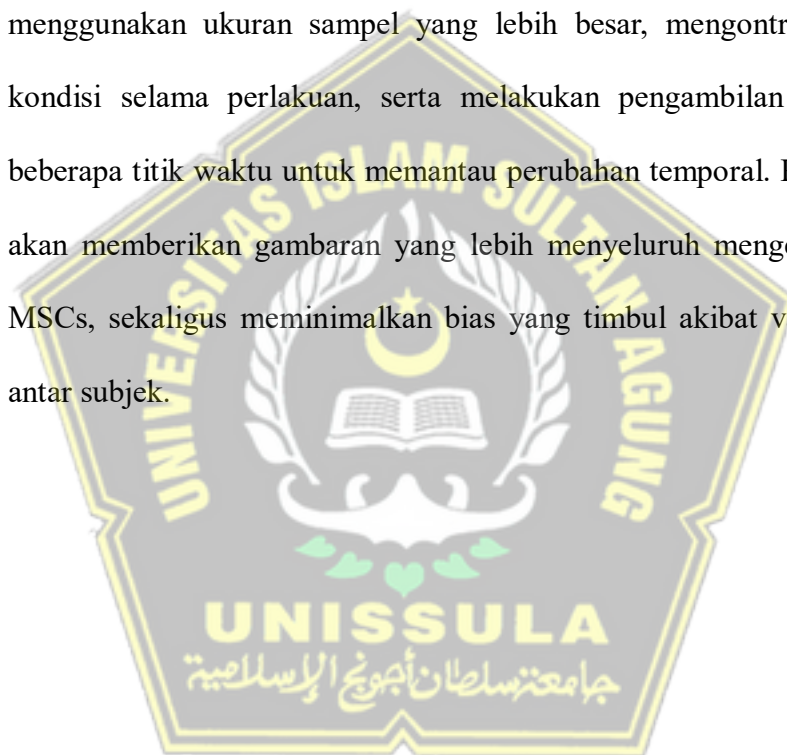
Secara keseluruhan, hasil ini menunjukkan bahwa pemberian *secretome* SH-MSCs tidak menghasilkan perbedaan yang signifikan secara statistik pada kadar IL-6 maupun SOD antar kelompok, meskipun secara deskriptif kadar IL-6 cenderung lebih tinggi pada kelompok yang menerima SH-MSCs dan kadar SOD sedikit meningkat pada kelompok K4. Temuan ini sejalan dengan teori bahwa IL-6 bersifat pleiotropik, memiliki fungsi ganda sebagai sitokin pro-inflamasi maupun sebagai myokine yang mendukung

regenerasi jaringan, sehingga variasi ekspresinya dapat muncul sebagai respons imunomodulator sementara terhadap faktor bioaktif dalam sekretome.^{75,76} Sedangkan SOD, sebagai enzim antioksidan endogen utama, dapat ditingkatkan oleh faktor pertumbuhan dan molekul antioksidan dalam SH-MSC, namun efeknya pada peningkatan aktivitas enzim antioksidan mungkin masih terbatas pada dosis dan durasi perlakuan yang digunakan. Meskipun perbedaan tidak signifikan, temuan ini tetap konsisten dengan laporan primer bahwa MSCs dan sekretomenya memiliki potensi untuk modulasi imun dan perlindungan antioksidan, dengan kemampuan meningkatkan kapasitas pertahanan sel terhadap stres oksidatif dan mendukung proses regenerasi jaringan otot.⁸²

Terdapat beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam interpretasi hasil. Tingginya variasi individu, khususnya pada kelompok K1 dan K4 diduga menjadi faktor utama yang menyebabkan perbedaan antar kelompok tidak mencapai signifikansi statistik pada uji *Kruskal-Wallis* maupun *One Way-ANOVA*, meskipun secara deskriptif terlihat adanya tren peningkatan atau penurunan. Selain itu, jumlah sampel yang relatif terbatas pada tiap kelompok juga membatasi kekuatan statistik untuk mendeteksi perbedaan yang lebih halus pada parameter inflamasi dan kapasitas antioksidan.

Keterbatasan lain adalah fokus penelitian pada satu titik waktu pengambilan sampel, yaitu hari ke-39 pasca-perlakuan, mungkin belum mampu menginterpretasikan perubahan IL-6 dan aktivitas SOD secara

komprehensif. Kondisi individu mencit sebagai objek penelitian, termasuk respons imun dan metabolisme jaringan otot, dapat turut memengaruhi hasil pengukuran dan menambah variasi data. Keterbatasan ini menunjukkan bahwa meskipun SH-MSCs berpotensi memodulasi inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan, interpretasi terhadap efek terapi harus dilakukan dengan hati-hati. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menggunakan ukuran sampel yang lebih besar, mengontrol lebih ketat kondisi selama perlakuan, serta melakukan pengambilan sampel pada beberapa titik waktu untuk memantau perubahan temporal. Pendekatan ini akan memberikan gambaran yang lebih menyeluruh mengenai efek SH-MSCs, sekaligus meminimalkan bias yang timbul akibat variasi biologis antar subjek.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Pemberian SH-MSCs tidak berpengaruh terhadap kadar IL-6 maupun SOD pada mencit betina galur C57BL/6 model sarcopenia yang diinduksi Dexamethasone.
2. Model sarcopenia terbukti valid secara deskriptif, ditunjukkan oleh perbedaan kadar IL-6 antara kelompok tikus sehat (K1, $4,52 \pm 3,35$ ng/L) dan kelompok kontrol negatif yang diinduksi dexamethasone (K2, $4,81 \pm 2,49$ ng/L), serta perbedaan kadar SOD antara kelompok sehat (K1, $4,52 \pm 0,62$ ng/L) dan kontrol negatif (K2, $4,68 \pm 0,49$ ng/L). Meskipun perbedaan tidak signifikan secara statistik, profil kadar IL-6 dan SOD mencerminkan respons inflamasi dan antioksidan yang sesuai dengan patofisiologi sarcopenia akibat dexamethasone.
3. Terapi SH-MSCs tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kadar IL-6 maupun SOD, berdasarkan perbandingan antara kelompok model sarcopenia yang diinduksi dexamethasone dengan kelompok perlakuan SH-MSCs pada variasi dosis 30 μ L dan 60 μ L ($p>0,05$).
4. Dosis SH-MSCs 60 μ L memberikan pengaruh yang lebih signifikan, ditunjukkan oleh kadar IL-6 dan SOD yang lebih tinggi dibandingkan dosis 30 μ L maupun kelompok kontrol. Namun, perbedaan ini tidak signifikan secara statistik ($p>0,05$), sehingga pengaruh peningkatan

dosis terhadap efektivitas SH-MSCs dalam menurunkan IL-6 maupun meningkatkan SOD belum dapat dipastikan.

5. Analisis kadar IL-6 dan SOD pada seluruh kelompok perlakuan menunjukkan variasi antar kelompok, dengan nilai tertinggi pada kelompok SH-MSCs 60 μ L. Meskipun perbedaan tidak signifikan secara statistik, temuan ini tetap menunjukkan bahwa SH-MSCs berpotensi memodulasi respons inflamasi dan meningkatkan kapasitas antioksidan, sehingga memiliki potensi sebagai agen terapeutik pada model sarcopenia *in vivo*.

6.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mempertimbangkan strategi pengendalian variasi individu yang bertujuan untuk mengurangi bias akibat perbedaan karakteristik subjek penelitian, sehingga hasil lebih valid dan reliabel.
2. Ukuran sampel pada tiap kelompok sebaiknya ditingkatkan sehingga perbedaan pada parameter inflamasi dan kapasitas antioksidan dapat terdeteksi secara signifikan.
3. Pengambilan sampel sebaiknya dilakukan pada beberapa titik waktu secara berkala, sehingga dinamika temporal perubahan IL-6 dan SOD dapat dipantau secara komprehensif dan memberikan gambaran yang lebih akurat mengenai efek terapi SH-MSCs.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing* 2019; 48: 16–31.
2. Ding J, Yang G, Sun W, et al. Association of interleukin-6 with sarcopenia and its components in older adults: a systematic review and meta-analysis of cross-sectional studies. *Ann Med* 2024; 56.
3. Blajovan MD, Abu-Awwad SA, Tomescu MC, et al. The Role of Inflammatory Sarcopenia in Increasing Fall Risk in Older Adults: Exploring the Impact on Mobility-Impaired and Immunocompromised Patients. *Geriatrics (Switzerland)* 2025; 10: 1–16.
4. Xu H, Brown JL, Bhaskaran S, et al. Reactive oxygen species in the pathogenesis of sarcopenia. *Free Radical Biology and Medicine* 2025; 227: 446–458.
5. Bernabeu-Wittel M, Gómez-Díaz R, González-Molina Á, et al. Oxidative stress, telomere shortening, and apoptosis associated to sarcopenia and frailty in patients with multimorbidity. *J Clin Med* 2020; 9: 1–12.
6. Bian A, Ma Y, Zhou X, et al. Association between sarcopenia and levels of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the elderly. *BMC Musculoskelet Disord* 2020; 21: 1–9.
7. Wang BYH, Hsiao AWT, Wong N, et al. Is dexamethasone-induced muscle atrophy an alternative model for naturally aged sarcopenia model? *J Orthop Translat* 2023; 39: 12–20.
8. Sari MI, Jusuf NK, Munir D, et al. The Role of Mesenchymal Stem Cell Secretome in the Inflammatory Mediators and the Survival Rate of Rat Model of Sepsis. *Biomedicines*; 11. Epub ahead of print 1 August 2023. DOI: 10.3390/biomedicines11082325.
9. Wang BYH, Hsiao AWT, Shiu HT, et al. Mesenchymal stem cells alleviate dexamethasone-induced muscle atrophy in mice and the involvement of ERK1/2 signalling pathway. *Stem Cell Res Ther*; 14. Epub ahead of print 1 December 2023. DOI: 10.1186/s13287-023-03418-0.
10. Yuan S, Larsson SC. Epidemiology of sarcopenia: Prevalence, risk factors, and consequences. *Metabolism: Clinical and Experimental*; 144. Epub ahead of print 1 July 2023. DOI: 10.1016/j.metabol.2023.155533.
11. Sumandar S, Ekaputri M, Ramadia A. Sarcopenia: The Prevalence and Associated Factors in Community-Dwelling Elderly. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia* 2023; 19: 50–60.
12. Xie W qing, He M, Yu D jie, et al. Mouse models of sarcopenia: classification and evaluation. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 2021; 12: 538–554.
13. Zukhiroh Z, Putra A, Chodidjah C, 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; 10: 1–7.
14. Fan XL, Zhang Y, Li X, et al. Mechanisms underlying the protective effects of mesenchymal stem cell-based therapy. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2020; 77: 2771–2794.
 15. Kerkis I, Silva ÁP da, Araldi RP. The impact of interleukin-6 (IL-6) and mesenchymal stem cell-derived IL-6 on neurological conditions. *Frontiers in Immunology*; 15. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1400533.
 16. Wong C, Stoilova I, Gazeau F, et al. Mesenchymal stromal cell derived extracellular vesicles as a therapeutic tool: immune regulation, MSC priming, and applications to SLE. *Front Immunol* 2024; 15: 1–17.
 17. Huang Z, Piao L, Meng X, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate aging-associated skeletal muscle atrophy and dysfunction in SAMP10 mice. *Stem Cell Research and Therapy* 2025; 16: 1–19.
 18. Ma H, Siu WS, Leung PC. The Potential of MSC-Based Cell-Free Therapy in Wound Healing—A Thorough Literature Review. *International Journal of Molecular Sciences*; 24. Epub ahead of print 1 June 2023. DOI: 10.3390/ijms24119356.
 19. Yoshida T, Delafontaine P. Mechanisms of IGF-1-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. *Cells* 2020; 9: 1–25.
 20. Silvana S, Japardi I, Rusda M, et al. Secretome from hypoxic mesenchymal stem cells as a potential therapy for ischemic stroke: Investigations on VEGF and GFAP expression. *Narra J*; 4. Epub ahead of print 1 December 2024. DOI: 10.52225/narra.v4i3.1181.
 21. Lumban Gaol LM, Purba A, Diposarosa R, et al. 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. *Journal of Inflammation Research* 2024; 17: 7463–7484.
 22. Qin M, Zhu J, Xing L, et al. Adipose-derived exosomes ameliorate skeletal muscle atrophy via miR-146a-5p/IGF-1R signaling. *Journal of Nanobiotechnology* ; 22. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.1186/s12951-024-02983-7.
 23. Mankhong S, Kim S, Moon S, et al. Experimental Models of Sarcopenia: Bridging Molecular Mechanism and Therapeutic Strategy. *Cells*; 9. Epub ahead of print 2 June 2020. DOI: 10.3390/cells9061385.
 24. Kerkis I, Silva ÁP da, Araldi RP. The impact of interleukin-6 (IL-6) and mesenchymal stem cell-derived IL-6 on neurological conditions. *Front Immunol* 2024; 15: 1–11.
 25. Gupta D, Zickler AM, El Andaloussi S. Dosing extracellular vesicles. *Advanced Drug Delivery Reviews*; 178. Epub ahead of print 1 November 2021. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113961.
 26. Okutsu M, Call JA, Lira VA, et al. Extracellular superoxide dismutase ameliorates skeletal muscle abnormalities, cachexia, and exercise

- intolerance in mice with congestive heart failure. *Circ Heart Fail* 2014; 7: 519–530.
27. Canfora I, Tarantino N, Pierno S. Metabolic Pathways and Ion Channels Involved in Skeletal Muscle Atrophy: A Starting Point for Potential Therapeutic Strategies. *Cells*; 11. Epub ahead of print 1 August 2022. DOI: 10.3390/cells11162566.
 28. Sartori R, Romanello V, Sandri M. Mechanisms of muscle atrophy and hypertrophy: implications in health and disease. *Nature Communications*; 12. Epub ahead of print 1 December 2021. DOI: 10.1038/s41467-020-20123-1.
 29. Mukund K, Subramaniam S. Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*; 12. Epub ahead of print 1 January 2020. DOI: 10.1002/wsbm.1462.
 30. Ryan PJ, Uranga S, Stanelle ST, et al. The autophagy inhibitor NSC185058 suppresses mTORC1-mediated protein anabolism in cultured skeletal muscle. *Sci Rep*; 14. Epub ahead of print 1 December 2024. DOI: 10.1038/s41598-024-58716-1.
 31. Huang Z, Piao L, Meng X, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stromal cell exosomes ameliorate aging-associated skeletal muscle atrophy and dysfunction in SAMP10 mice. *Stem Cell Research and Therapy* ; 16. Epub ahead of print 1 December 2025. DOI: 10.1186/s13287-025-04477-1.
 32. Meng S, He X, Fu X, et al. The prevalence of sarcopenia and risk factors in the older adult in China: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Public Health*; 12. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.3389/fpubh.2024.1415398.
 33. Nishikawa H, Fukunishi S, Asai A, et al. Pathophysiology and mechanisms of primary sarcopenia (Review). *International Journal of Molecular Medicine*; 48. Epub ahead of print 1 August 2021. DOI: 10.3892/ijmm.2021.4989.
 34. Cho MR, Lee S, Song SK. A Review of Sarcopenia Pathophysiology, Diagnosis, Treatment and Future Direction. *J Korean Med Sci*; 37. Epub ahead of print 2022. DOI: 10.3346/jkms.2022.37.e146.
 35. Wiedmer P, Jung T, Castro JP, et al. Sarcopenia – Molecular mechanisms and open questions. *Ageing Research Reviews*; 65. Epub ahead of print 1 January 2021. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101200.
 36. Aslam MA, Ma EB, Huh JY. Pathophysiology of sarcopenia: Genetic factors and their interplay with environmental factors. *Metabolism* 2023; 149: 155711.
 37. Assyov Y, Ganeva I, Ikonov S, et al. Interleukin-6: Unravelling its role in sarcopenia pathogenesis and exploring therapeutic avenues. *Pharmacia* 2023; 70: 1493–1498.
 38. Johnson BZ, Stevenson AW, Prêle CM, et al. The role of IL-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. *Biomedicines*; 8. Epub ahead of print 1 May 2020. DOI: 10.3390/BIOMEDICINES8050101.

39. Çetin G, Klafack S, Studencka-Turski M, et al. The ubiquitin–proteasome system in immune cells. *Biomolecules* 2021; 11: 1–23.
40. Pang XS, Zhang P, Chen XP, et al. Ubiquitin-proteasome pathway in skeletal muscle atrophy. *Frontiers in Physiology*; 14. Epub ahead of print 2023. DOI: 10.3389/fphys.2023.1289537.
41. Haberecht-Müller S, Krüger E, Fielitz J. Out of control: The role of the ubiquitin proteasome system in skeletal muscle during inflammation. *Biomolecules*; 11. Epub ahead of print 1 September 2021. DOI: 10.3390/biom11091327.
42. Grujicic J, Allen AR. Manganese Superoxide Dismutase: Structure, Function, and Implications in Human Disease. *Antioxidants*; 14. Epub ahead of print 1 July 2025. DOI: 10.3390/antiox14070848.
43. Rosa AC, Corsi D, Cavi N, et al. Superoxide dismutase administration: A review of proposed human uses. *Molecules*; 26. Epub ahead of print 1 April 2021. DOI: 10.3390/molecules26071844.
44. Qiu M, Chen J, Li X, et al. Intersection of the Ubiquitin–Proteasome System with Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. *International Journal of Molecular Sciences*; 23. Epub ahead of print 1 October 2022. DOI: 10.3390/ijms232012197.
45. Ibrahim NK, Schreek S, Cinar B, et al. SOD2 is a regulator of proteasomal degradation promoting an adaptive cellular starvation response. *Cell Rep*; 44. Epub ahead of print 22 April 2025. DOI: 10.1016/j.celrep.2025.115434.
46. Xu H, Brown JL, Bhaskaran S, et al. Reactive oxygen species in the pathogenesis of sarcopenia. *Free Radic Biol Med* 2025; 227: 446–458.
47. Foreman NA, Hesse AS, Ji LL. Redox Signaling and Sarcopenia: Searching for the Primary Suspect. *Int J Mol Sci* 2021; 22: 9045.
48. Kavaldzhieva K, Mladenov N, Markova M, et al. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Potential Applications in Human Infertility Caused by Hormonal Imbalance, External Damage, or Immune Factors. *Biomedicines*; 13. Epub ahead of print 1 March 2025. DOI: 10.3390/biomedicines13030586.
49. Trigo CM, Rodrigues JS, Camões SP, et al. Mesenchymal stem cell secretome for regenerative medicine: Where do we stand? *Journal of Advanced Research* 2025; 70: 103–124.
50. Wu J, Ge Y, Huang W, et al. Natural bioactive compounds modified with mesenchymal stem cells: new hope for regenerative medicine. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*; 13. Epub ahead of print 2025. DOI: 10.3389/fbioe.2025.1446537.
51. Larey AM, Spoerer TM, Daga KR, et al. High throughput screening of mesenchymal stromal cell morphological response to inflammatory signals for bioreactor-based manufacturing of extracellular vesicles that modulate microglia. *Bioact Mater* 2024; 37: 153–171.
52. Jaraba-Álvarez W V., Uscanga-Palomeque AC, Sanchez-Giraldo V, et al. Hypoxia-induced metabolic reprogramming in mesenchymal stem cells: unlocking the regenerative potential of secreted factors. *Front Cell Dev Biol*; 13. Epub ahead of print 2025. DOI: 10.3389/fcell.2025.1609082.

53. Yang Y, Wu Y, Yang D, et al. Secretive derived from hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration and mitigate joint inflammation via extracellular vesicles. *Bioact Mater* 2023; 27: 98–112.
54. Sohi GK, Farooqui N, Mohan A, et al. The impact of hypoxia preconditioning on mesenchymal stem cells performance in hypertensive kidney disease. *Stem Cell Res Ther*; 15. Epub ahead of print 1 December 2024. DOI: 10.1186/s13287-024-03778-1.
55. Yang Y, Lee EH, Yang Z. Hypoxia-Conditioned Mesenchymal Stem Cells in Tissue Regeneration Application. *Tissue Engineering - Part B: Reviews* 2022; 28: 966–977.
56. Dwivedi G, Flaman L, Alaybeyoglu B, et al. Effects of dexamethasone and IGF-1 on post-traumatic osteoarthritis-like catabolic changes in a human cartilage-bone-synovium microphysiological system in space and ground control tissues on earth. *Frontiers in Space Technologies*; 5. Epub ahead of print 14 March 2024. DOI: 10.3389/frspt.2024.1358412.
57. Wang BYH, Hsiao AWT, Wong N, et al. Is dexamethasone-induced muscle atrophy an alternative model for naturally aged sarcopenia model? *J Orthop Translat* 2023; 39: 12–20.
58. Lee CH, Kwon Y, Park S, et al. The Impact of *Ulmus macrocarpa* Extracts on a Model of Sarcopenia-Induced C57BL/6 Mice. *Int J Mol Sci*; 25. Epub ahead of print 1 June 2024. DOI: 10.3390/ijms25116197.
59. Baek KW, Jung YK, Kim JS, et al. Rodent model of muscular atrophy for sarcopenia study. *Journal of Bone Metabolism* 2020; 27: 97–110.
60. Syed AP, Greulich F, Ansari SA, et al. Anti-inflammatory glucocorticoid action: genomic insights and emerging concepts. *Curr Opin Pharmacol* 2020; 53: 35–44.
61. Chang W-T, Hong M-Y, Chen C-L, et al. Mutant glucocorticoid receptor binding elements on the interleukin-6 promoter regulate dexamethasone effects. *BMC Immunol* 2021; 22: 24.
62. LeRoith D, Holly JMP, Forbes BE. Insulin-like growth factors: Ligands, binding proteins, and receptors. *Molecular Metabolism*; 52. Epub ahead of print 1 October 2021. DOI: 10.1016/j.molmet.2021.101245.
63. Lee HJ, Kim D, Jung Y, et al. Horse Meat Hydrolysate Ameliorates Dexamethasone-Induced Muscle Atrophy in C57BL/6 Mice via the AKT/FoxO3a/mTOR Pathway. *Cells*; 14. Epub ahead of print 1 July 2025. DOI: 10.3390/cells14141050.
64. Dubashynskaya N V., Bokaty AN, Skorik YA. Dexamethasone conjugates: Synthetic approaches and medical prospects. *Biomedicines*; 9. Epub ahead of print 1 April 2021. DOI: 10.3390/biomedicines9040341.
65. Lusiana. *Pengaruh Pemberian Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem cells Terhadap Ekspresi IL-10 dan STAT3 (Studi Eksperimental In Vivo pada Tikus Betina Galur Wistar Model Polycystic Ovary Syndrome)*. Universitas Islam Agung Semarang, 2023.
66. Swarjana IK. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Yogyakarta: ANDI, 2023.

67. Lim S-J, Kim H-J, Kim H, et al. Skeletal Muscle Atrophy Induced by Dexamethasone Is Attenuated by Amino Acid Complex Supplementation in Rats. *Nutrients*; 15: 517.
68. Kretschmer T, Schulze-edinghausen M, Turnwald EM, et al. Effect of maternal obesity in mice on IL-6 levels and placental endothelial cell homeostasis. *Nutrients*; 12. Epub ahead of print 1 February 2020. DOI: 10.3390/nu12020296.
69. Ascenzi F, Barberi L, Dobrowolny G, et al. Effects of IGF-1 isoforms on muscle growth and sarcopenia. *Aging Cell*; 18. Epub ahead of print 1 June 2019. DOI: 10.1111/accel.12954.
70. Aliyu M, Zohora FT, Anka AU, et al. Interleukin-6 cytokine: An overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach. *Int Immunopharmacol* 2022; 111: 109130.
71. Chen B, Li S, Lin S, et al. Causal relationship of interleukin-6 and its receptor on sarcopenia traits using mendelian randomization. *Nutr J* 2024; 23: 51.
72. Forcina L, Miano C, Scicchitano BM, et al. Increased Circulating Levels of Interleukin-6 Affect the Redox Balance in Skeletal Muscle. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 1–13.
73. Belizário JE, Fontes-Oliveira CC, Borges JP, et al. Skeletal muscle wasting and renewal: a pivotal role of myokine IL-6. *Springerplus* 2016; 5: 619.
74. Liu C, Lu Y, Du P, et al. Mesenchymal stem cells pretreated with proinflammatory cytokines accelerate skin wound healing by promoting macrophages migration and M2 polarization. *Regen Ther* 2022; 21: 192–200.
75. Ragni E, Perucca Orfei C, De Luca P, et al. Inflammatory priming enhances mesenchymal stromal cell secretome potential as a clinical product for regenerative medicine approaches through secreted factors and EV-miRNAs: the example of joint disease. *Stem Cell Res Ther* 2020; 11: 165.
76. Trigo CM, Rodrigues JS, Camões SP, et al. Mesenchymal stem cell secretome for regenerative medicine: Where do we stand? *Journal of Advanced Research*. Epub ahead of print 2024. DOI: 10.1016/j.jare.2024.05.004.
77. Wang Y, Branicky R, Noë A, et al. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology* 2018; 217: 1915–1928.
78. Anwar S, Sarwar T, Khan AA, et al. Therapeutic Applications and Mechanisms of Superoxide Dismutase (SOD) in Different Pathogenesis. *Biomolecules* 2025; 15: 1130.
79. González-González A, García-Sánchez D, Dotta M, et al. Mesenchymal stem cells secretome: The cornerstone of cell-free regenerative medicine. *World J Stem Cells*; 12. Epub ahead of print 2020. DOI: 10.4252/wjsc.v12.i12.1529.
80. Stavely R, Nurgali K. The emerging antioxidant paradigm of mesenchymal stem cell therapy. *Stem Cells Transl Med* 2020; 9: 985–1006.
81. Yao Y, Cao J, Ding C. Mesenchymal stem cells improve osteoarthritis by secreting superoxide dismutase to regulate oxidative stress response. *BMC Musculoskelet Disord* 2025; 26: 409.

82. Utami A, Putra A, Wibowo JW, et al. Hypoxic secretome mesenchymal stem cells inhibiting interleukin-6 expression prevent oxidative stress in type 1 diabetes mellitus. *Med Glas* 2023; 20: 148–155.

