

**PENGARUH KOMBINASI *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELL DAN *HYALURONIC*
ACID TERHADAP KADAR MDA DAN EKSPRESI
GEN IL-10**

**(Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Model *Collagen Loss*
Akibat Paparan UVB)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister
(S2)



Magister Ilmu Biomedik

Ayu Ashari Anapitu

MBK. 24.24.010502

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

2026

TESIS
**PENGARUH KOMBINASI *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELL DAN *HYALURONIC*
ACID TERHADAP KADAR MDA DAN EKSPRESI
GEN IL-10**

(Studi eksperimental pada tikus wistar model *collagen loss* akibat paparan UVB)

Disusun oleh:

Ayu Ashari Anapitu

MBK. 24.24.010502

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada Tanggal 02 Februari 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima.

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



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



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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Unissula



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes






NIK. 210198046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis dengan judul "PENGARUH KOMBINASI *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL* DAN *HYALURONIC ACID* TERHADAP KADAR MDA DAN EKSPRESI GEN IL-10 (Studi eksperimental pada tikus wistar model *collagen loss* akibat paparan UV B)" ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada :

Hari : Senin

Tanggal : 02 Februari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Dr. Suparmi, S.Si. Msi (ERT)	Penguji I	
2.	Dr. dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes	Penguji II	
3.	Prof. Dr Siti Thomas Zulaikkah, SKM. Mkes	Penguji III	
4.	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	Pembimbing I	
5.	Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek sumarawati, M.Kes	Pembimbing II	

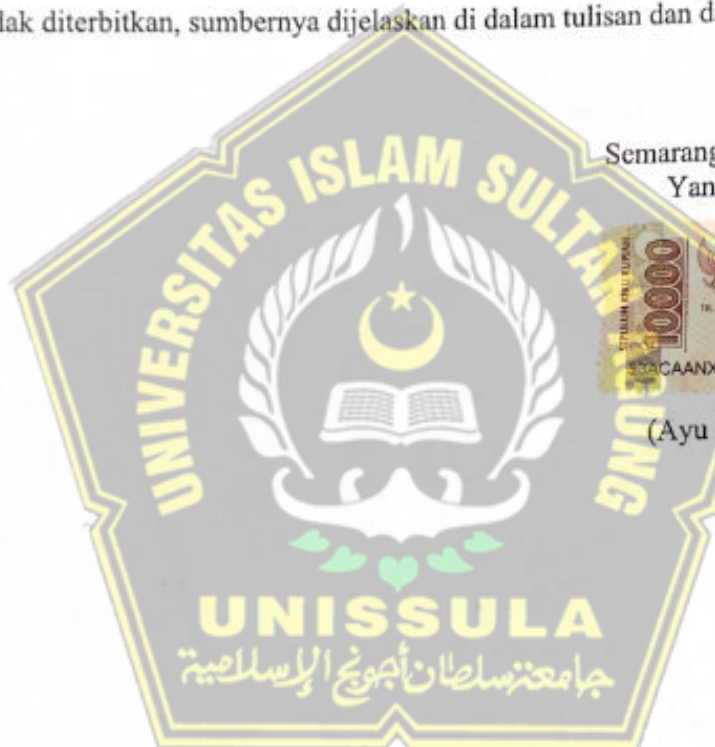
PERNYATAAN

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

Semarang, 02 Februari 2026
Yang menyatakan,



(Ayu Ashari Anapitu)



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Ayu Ashari Anapitu
Tempat, tanggal lahir : Surakarta, 26 Agustus 1988
Agama : Kristen
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Kristen Kalam Kudus : Lulus tahun 1994
2. SD Kristen Kalam Kudus : Lulus tahun 2000
3. SMP Kristen Kalam Kudus : Lulus tahun 2003
4. SMAN 3 Surakarta : Lulus tahun 2005
5. S1 FK Universitas Tarumanagara : Lulus tahun 2010
6. Profesi Dokter FK Universitas Tarumanagara : Lulus tahun 2013
7. Magister S2 Ilmu Biomedik UNISSULA Semarang : 2024 – sekarang

C. Riwayat Keluarga

Nama Ayah : Fuad Anapitu
Nama Ibu : Lanny Setianingsih
Nama Suami : Yohanes Kristian Hindarto
Nama Anak : 1. Dennis Olivier Hindarto
2. Henry Howard Hindarto
3. Matthew Gerard Hindarto

KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan Puji dan Syukur Kehadirat Allah SWT atas segala Rahmat dan Karunianya pada penulis, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis yang berjudul: **PENGARUH KOMBINASI *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELL* DAN *HYALURONIC ACID* TERHADAP KADAR MDA DAN EKSPRESI GEN IL-10 (Studi Eksperimental Pada Tikus Wistar Model *Collagen Loss* Akibat Paparan UVB)**. Tesis ditulis dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister (S.2) Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini. Penulis ingin menyampaikan terima kasih sedalam-dalamnya kepada :

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 Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan Sp.B, FINACS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang dan pembimbing I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.kes selaku Ketua Program Studi Magister

Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang

4. Prof. Dr. Ir. Hj. Titiek Suamarawati, M. Kes selaku dosen pembimbing II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
5. Dr. Suparmi, S.Si. Msi (ERT) selaku dosen penguji I dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
6. Dr. dr. H. Hadi Sarosa, M.Kes selaku dosen penguji II dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
7. Prof. Dr Siti Thomas Zulaikkah, SKM. M.Kes selaku dosen penguji III dalam penelitian yang bersedia meluangkan waktu dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penulisan thesis.
8. Seluruh tenaga pendidik dan staff administrasi di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang secara langsung atau tidak langsung telah memberi bantuan kepada penulis dalam menyelesaikan penulisan tesis.
9. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan dalam penyusunan tesis ini, terimakasih atas dukungannya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penyusunan penelitian ini. Oleh karena itu, saran-saran yang membangun dari manapun akan diterima dengan terbuka. Harapan penulis semoga penelitian ini bermanfaat untuk berbagai pihak. Aamiin yaa rabbal alamin.

Semarang, 02 Februari 2026

(Ayu Ashari Anapitu)



ABSTRAK

Pendahuluan: Paparan ultraviolet B (UVB) dapat menimbulkan stres oksidatif berlebih melalui pembentukan *reactive oxygen species* (ROS), yang menyebabkan peroksidasi lipid, peradangan, dan *collagen loss*. *Hyaluronic acid* (HA) dan *exosome* yang berasal dari *mesenchymal stem cells* hipoksia (EH- MSCs) diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan imunomodulator, namun potensi efek sinergis keduanya pada kondisi *collagen loss* belum banyak diteliti. **Tujuan:** Menganalisis efek pemberian kombinasi EH- MSCs dan HA terhadap kadar malondialdehida (MDA) sebagai biomarker stres oksidatif dan ekspresi gen IL- 10 sebagai penanda respon antiinflamasi pada model tikus *collagen loss* akibat paparan UVB. **Metode:** Penelitian *in vivo* ini menggunakan 34 ekor tikus jantan Wistar (200–250 g, usia 2–3 bulan) yang dibagi secara acak ke dalam lima kelompok: sehat tanpa UVB (K1), UVB + NaCl (K2), UVB + HA (K3), UVB + EH- MSCs (K4), dan UVB + kombinasi HA + EH- MSCs (K5). Paparan UVB (160 mJ/cm², 302 nm, 8 menit/hari) diberikan 5×/minggu selama 2 minggu. Perlakuan injeksi subkutan dilakukan pada hari ke- 15, dan analisis dilakukan pada hari ke- 20. Kadar MDA diukur menggunakan ELISA, sedangkan ekspresi gen IL- 10 diuji dengan qRT- PCR menggunakan gen *housekeeping* GAPDH. Data dianalisis menggunakan ANOVA ($p < 0,05$). **Hasil:** Kadar MDA tertinggi terlihat pada kelompok K2 ($46,20 \pm 8,27$ ng/mL) dan terendah pada K5 ($24,32 \pm 4,55$ ng/mL), mendekati nilai kelompok sehat ($24,45 \pm 5,70$ ng/mL). Ekspresi gen IL- 10 tertinggi juga ditemukan pada kelompok K5 ($0,73 \pm 0,31$) dibandingkan K2 ($0,03 \pm 0,01$) ($p < 0,05$). **Kesimpulan:** Kombinasi EH- MSCs dan HA secara signifikan menurunkan peroksidasi lipid dan meningkatkan respon antiinflamasi, menunjukkan efek sinergis dalam memulihkan status redoks dan homeostasis jaringan kulit setelah paparan UVB.

Kata kunci: *Exosome* MSCs, *Hyaluronic acid*, UVB, *Collagen loss*, IL- 10, MDA, stres oksidatif

ABSTRACT

Background: Ultraviolet B (UVB) exposure promotes excessive oxidative stress through the generation of reactive oxygen species (ROS), resulting in lipid peroxidation, inflammation, and loss of dermal collagen. Hyaluronic acid (HA) and hypoxia-conditioned mesenchymal stem cell exosomes (EH-MSCs) exhibit antioxidant and immunomodulatory activities, yet their synergistic effects on UVB-induced photoaging remain poorly understood. **Objective:** To investigate the combined effects of EH-MSCs and HA on malondialdehyde (MDA) levels as an oxidative stress marker and IL-10 gene expression as an indicator of anti-inflammatory response in a UVB-induced collagen loss rat model. **Methods:** Thirty-four male Wistar rats (200–250 g, 2–3 months old) were randomly divided into five groups: healthy (K1), UVB + NaCl (K2), UVB + HA (K3), UVB + EH-MSCs (K4), and UVB + HA + EH-MSCs (K5). UVB irradiation (160 mJ/cm², 302 nm, 8 min/day) was administered five times per week for two weeks. Subcutaneous treatments were given on day 15, and sampling was performed on day 20. MDA levels were quantified using ELISA, while IL-10 expression was assessed by qRT-PCR relative to GAPDH. Data were analyzed by one-way ANOVA ($p < 0.05$). **Results:** The highest MDA level was observed in group K2 (46.20 ± 8.27 ng/mL) and the lowest in K5 (24.32 ± 4.55 ng/mL), approximating the healthy control (24.45 ± 5.70 ng/mL). IL-10 expression was highest in K5 (0.73 ± 0.31) compared to K2 (0.03 ± 0.01) ($p < 0.05$). **Conclusion:** The combination of EH-MSCs and HA effectively reduces oxidative stress and enhances the anti-inflammatory response, demonstrating a synergistic therapeutic potential for restoring cutaneous redox balance and collagen integrity after UVB-induced damage.

Keywords: MSC exosomes, Hyaluronic acid, UVB, Collagen loss, IL-10, MDA, Oxidative stress

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	ix
<i>ABSTRACT</i>	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR SINGKATAN	xv
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
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	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	9
2.1.1. Definisi	9
2.1.2. Pengaruh Paparan UVB terhadap Kadar MDA dan Penurunan Kolagen.....	10
2.2. <i>Interleukin 10</i> (IL-10).....	12
2.2.1. Definisi	12
2.2.2. Peran IL-10 pada <i>collagen loss</i> akibat UVB	12

2.3. <i>Exosome</i>	15
2.3.1. Definisi <i>Exosome</i>	15
2.3.2. Peran <i>Exosome</i> MSCs.....	15
2.3.3. <i>Mesenchymal Stem Cells</i> (MSCs).....	17
2.3.4. Peran MSCs	18
2.3.5. Konsep <i>Small Molecule Growth Factor</i> MSC.....	18
2.4. <i>Collagen Loss</i>	20
2.4.1. Definisi <i>Collagen Loss</i>	20
2.4.2. Tipe Kolagen	21
2.4.3. Mekanisme kerusakan kolagen.....	24
2.5. <i>Hyaluronic Acid</i>	25
2.5.1. Definisi	25
2.5.2. Struktur Molekul HA.....	25
2.5.3. Mekanisme Molekuler HA dalam Menginduksi Produksi Kolagen.....	26
2.5.4. Aplikasi HA pada Kulit.....	27
2.6. Keterkaitan pemberian kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada <i>collagen loss</i> akibat paparan UVB	29
BAB III KERANGKA TEORI	33
3.1. Kerangka Teori.....	33
3.2. Kerangka Konsep	36
3.3. Hipotesis	36
BAB IV METODE PENELITIAN	37
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	37
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	38
4.2.1. Variabel Penelitian.....	38
4.2.2. Definisi Operasional	38
4.3. Populasi dan Sampel Penelitian.....	40
4.3.1. Populasi Penelitian.....	40
4.3.2. Sampel Penelitian	40

4.3.3.	Cara Pengambilan Sampel Penelitian	41
4.3.4.	Besar Sampel	41
4.4.	Alat dan Bahan	41
4.4.1.	Alat	41
4.4.2.	Bahan	42
4.5.	Cara Penelitian.....	42
4.5.1.	Perolehan <i>Ethical Clearance</i>	42
4.5.2.	Pemberian EH-MSCs.....	42
4.5.3.	Pemberian HA	43
4.5.4.	Paparan UV-B dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan.....	43
4.5.5.	Pengambilan Sampel Jaringan	44
4.5.6.	Pembuatan Blok Parafin untuk pewarnaan <i>Masson Trichome</i>	44
4.5.7.	Validasi Berkurangnya Kolagen Akibat UV-B Menggunakan Pengecatan Kolagen.....	45
4.5.8.	Analisis Kuantitatif Kadar MDA dengan ELISA	46
4.5.9.	Analisis Kuantitatif Ekspresi Gen IL-10 dengan qRT-PCR	47
4.6.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	47
4.7.	Analisa Data	48
4.8	Alur Penelitian.....	49
BAB V	HASIL DAN PEMBAHASAN	50
5.1.	Isolasi, Kultur , dan Validasi MSCs	50
5.2.	Analisis Fenotip MSCs Menggunakan Flow Cytometry.....	52
5.3.	Validasi Exosome MSCs	54
5.4.	Validasi Hewan Model <i>Collagen Loss</i>	56
5.5.	Analisis Kadar MDA Setelah Pemberian Kombinasi EH-MSCs dan HA pada Model <i>Collagen Loss</i>	59
5.6.	Analisis Ekspresi Gen IL-10 Setelah Pemberian Kombinasi EH-MSCs dan HA pada Model <i>Collagen Loss</i>	61
5.7.	Pembahasan	64

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	73
6.1. Kesimpulan.....	73
6.2. Saran	74
DAFTAR PUSTAKA	75
LAMPIRAN.....	85



DAFTAR SINGKATAN

ACTH	: <i>Adrenocorticotropic Hormone</i>
AP-1	: <i>Activator Protein-1</i>
APC	: <i>Antigen-presenting Cell</i>
bFGF	: <i>Basic Fibroblast Growth Factor</i>
bHLH-LZ	: <i>Basic Helix-loop-helix-leucine Zipper</i>
BSC	: <i>Biosafety Cabinet</i>
cAMP	: <i>Cyclic Adenosine Monophosphate</i>
CD	: <i>Cluster of Differentiation</i>
CREB	: <i>cAMP Response Element-binding Protein</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle's Medium</i>
EDP	: <i>Ekstrak Daun Pegagan</i>
EH-MSCs	: <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells</i>
ERK	: <i>Extracellular Signal-regulated Kinase</i>
FGF	: <i>Fibroblast Growth Factor</i>
GPx	: <i>Glutathione peroxidase</i>
HA	: <i>Hyaluronic Acid</i>
HE	: <i>Hematoksin-Eosin</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF	: <i>Hipoxic Induce Factor</i>
HPMC	: <i>Hydroxypropyl Methylcellulose</i>
IFN- γ	: <i>Interferon-gamma</i>
IGF-1	: <i>Insulin-like Growth Factor 1</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IRF1	: <i>Interferon Regulatory Factor 1</i>
JAK2-STAT6	: <i>Janus Kinase 2 – Signal Transduction and Transcription 6</i>
KGF	: <i>Keratinocyte Growth Factor</i>
L-DOPA	: <i>L-3, 4-dihydroxyphenylalanine</i>
MAPK	: <i>Mitogen-actived Protein Kinases</i>
MC1R	: <i>Melanocortin 1 Receptor</i>

MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MED	: <i>Minimal Erythema Dose</i>
MMP	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
MRP	: <i>Melanogenesis-related Protein</i>
NF-κB	: <i>Nuclear Factor Kappa-B</i>
p53	: <i>Tumor Protein p53</i>
PAMP	: <i>Pathogen-associated Molecular Pattern</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
POMC	: <i>Promotor Proopiomelanokortin</i>
PVA	: <i>Polyvinyl Alcohol</i>
RER	: <i>Rough Endoplasmic Reticulum</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcriptase - Polymerase Chain Reaction</i>
Smad2	: <i>Small Mothers Against Decapentaplegic 2</i>
SOCS3	: <i>Supressor Of Cytokine Signaling 3</i>
SOD	: <i>SuperOxideDismutase</i>
STAT1	: <i>Signal Transduction and Transcription 1</i>
STAT3	: <i>Signal Transducer and Acitvator Transcription</i>
TEA	: <i>Triethanolamine</i>
TGF-β	: <i>Transforming Growth Factor beta</i>
TGF-β1	: <i>Transforming Growth Factor beta 1</i>
TLRs	: <i>Toll-like Receptors</i>
TNF-α	: <i>Tumor Necrosis Factor-alpha</i>
TRP-1	: <i>Tyrosinase-related Protein-1</i>
TRP-2	: <i>Tyrosinase-related Protein-2</i>
UVB	: <i>Ultra Violet B</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1. Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Kadar MDA.....	59
Tabel 5.2.Perbedaan Kadar MDA antar kelompok perlakuan	60
Tabel 5.3. Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Ekspresi Gen IL-10	62
Tabel 5.4. Perbedaan Ekspresi Gen IL-10 antara kelompok penelitian	63



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Proses sekresi MDA akibat peningkatan ROS	11
Gambar 2.2.	Jalur aktivasi inflamasi penyebab <i>collagen loss</i>	13
Gambar 2.3.	Lingkungan Inflamasi Mengaktivasi MSC	17
Gambar 2.4.	Perbedaan Kolagen Pada Kulit Muda dan Kulit Tua. Jumlah Kolagen pada kulit yang lebih muda lebih banyak dibandingkan kulit yang lebih tua	22
Gambar 2.5.	Struktur Kimia HA	26
Gambar 2.6.	Mekanisme HA dalam mempengaruhi <i>cell survival</i> dan <i>repair</i>	29
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	35
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	36
Gambar 4.1.	Alur Rancangan Renelitian.....	37
Gambar 4.2.	Alur penelitian.....	49
Gambar 5.1.	Karakterisasi Morfologi dan Potensi Diferensiasi MSCs yang berasal dari <i>umbilical cord</i> tikus.....	52
Gambar 5.2.	Profil Imunofenotip MSCs Menggunakan Analisis <i>Flow Cytometry</i>	54
Gambar 5.3.	Validasi dan Kuantifikasi <i>Exosome</i> MSCs Menggunakan <i>Flow Cytometry</i>	56
Gambar 5.4.	Validasi Model Hewan <i>Collagen Loss</i> Secara Makroskopis dan Histologis.....	58
Gambar 5.5.	Pengaruh Pemberian Perlakuan <i>Exosome Hypoxia</i> MSCs dan <i>Hyaluronic Acid</i> (HA) Terhadap Kadar MDA pada Hari ke-20.	61
Gambar 5.6.	Pengaruh Pemberian perlakuan <i>Exosome</i> MSCs dan <i>Hyaluronic Acid</i> (HA) Terhadap Ekspresi Gen IL-10 pada Hari ke-20.....	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	85
Lampiran 2. Hasil Penelitian SCCR	86
Lampiran 3. Hasil Uji SPSS.....	89
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	91
Lampiran 5. Surat Keterangan Kesehatan Hewan	93



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Radiasi ultraviolet B (UVB) dapat menyebabkan kerusakan DNA sel kulit melalui akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS)¹ yang berdampak pada penurunan jumlah kolagen di kulit.²⁻⁴ Akumulasi ROS dapat meningkatkan stres oksidatif melalui peroksidasi lipid di dalam sel sehingga dapat meningkatkan *malondialdehyde* (MDA).^{5,6} Kadar MDA yang tinggi dapat memicu upregulasi sitokin proinflamasi *interleukin 1 β* (IL-1 β) dan downregulasi sitokin antiinflamasi *interleukin-10* (IL-10) yang menyebabkan aktivasi berbagai jalur degradasi kolagen.^{7,8} Terapi *collagen loss* akibat paparan UVB menggunakan senyawa kimia seperti *hyaluronic acid* (HA) yang dalam penggunaan jangka panjang dapat menyebabkan iritasi kulit, kekeringan, dan kemerahan hingga kanker kulit.⁹

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *exosome mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) terbukti menekan inflamasi dan stress oksidatif yang dapat mencegah *collagen loss*.^{10,11} Namun, eksplorasi tentang pengaruh penggunaan kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 masih belum banyak diteliti, sehingga perlu di eksplorasi untuk mengetahui efek pemberian kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada tikus model *collagen loss*.

Insidensi kehilangan kolagen akibat UVB mencapai 72% pada populasi di negara tropis seperti Indonesia.¹² Pada tahun 2015, tercatat 4,2%

dari 142 subjek mengalami penurunan kolagen setelah tiga kali paparan UVB dengan 1 minimal erythema dose (MED).¹³ Terapi yang telah dikembangkan untuk menangani *collagen loss* dengan penggunaan senyawa kimia seperti HA dosis 0,1-1% b/v.¹⁴ *Hyaluronic acid* dapat menginduksi kolagen dengan mekanisme membentuk ikatan pada reseptor CD44 di kulit untuk menstimulasi sintesis kolagen. *Hyaluronic acid* juga telah terbukti meningkatkan efek *growth factor* seperti TGF- β dan menginduksi proliferasi fibroblast yang dapat meningkatkan jumlah *collagen-producing cells*.^{14,15} Penggunaan HA dalam jangka panjang diketahui memiliki berbagai efek samping.⁹ Hal ini menunjukkan perlunya alternatif terapi yang lebih efektif, aman, dan mampu menargetkan akar permasalahan, yaitu stres oksidatif dan disregulasi imun.

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa *exosome* MSCs mengandung interleukin-10 (IL-10), *growth factor*, dan miRNA^{16,17} yang dapat menginduksi peningkatan kadar kolagen¹⁸. IL-10 dan TGF- β yang diinduksi oleh *exosome* MSCs terbukti mampu mengendalikan kerusakan kulit akibat paparan UVB dengan menurunkan kadar ROS¹⁹ melalui peningkatan Nrf2 melalui jalur NF- $\kappa\beta$ ^{20,21}, serta dapat menurunkan inflamasi dan menginduksi produksi kolagen.^{22,23} Selain itu, penelitian lain juga menunjukkan bahwa *exosome* MSCs mengandung mikroRNA seperti miR-21 yang dapat mengatur jalur inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α yang diproduksi berlebih pada inflamasi berkepanjangan¹³. HA bekerja dengan menghambat aktivitas enzim *matrix metalloproteinase* (MMP) dan merangsang aktivitas sel

fibroblast untuk memproduksi kolagen tipe I dan III.²⁴ Penelitian lain melaporkan bahwa, HA mengaktifasi jalur TGF- β untuk proses sintesis kolagen.^{14,15}

Kombinasi HA dan EH-MSCs dapat berkerja sinergis karena keduanya memiliki mekanisme aksi yang saling mendukung. EH-MSCs memiliki potensi lebih besar dalam menekan stres oksidatif, menghambat jalur inflamasi, dan menginduksi faktor pertumbuhan yang mempercepat regenerasi jaringan kolagen. Kombinasi ini dapat meningkatkan produksi kolagen, memperkuat efektivitas terapi, serta memperpanjang durasi kerja biomolekul aktif di dermis. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh kombinasi EH- MSCs dan HA secara injeksi subkutan pada tikus model *collagen loss*. Hewan coba yang digunakan adalah tikus karena memiliki struktur kulit yang mirip dengan manusia. Paparan UVB diberikan sebesar 160 mJ/cm² selama lima kali seminggu selama dua minggu. Kadar MDA diamati dari protein yang diisolasi dari sampel kulit, sedangkan ekspresi gen IL-10 diamati dari RNA yang diisolasi dari sampel kulit. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan dalam mitigasi efek penuaan dan *collage loss* pada kulit melalui modulasi biomolekul aktif secara lebih tahan lama dan efektif.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat dirumuskan adalah "Apakah terdapat pengaruh kombinasi *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dan *Hyaluronic Acid* (HA) terhadap kadar MDA dan ekspresi gen

IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar dengan UV-B?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kombinasi *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dan *Hyaluronic Acid* (HA) terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B.

1.3.2. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan khusus antara lain untuk :

- a. Menganalisis perbedaan kadar MDA pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B dan diberi perlakuan kombinasi EH-MSCs dan HA dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Menganalisis perbedaan ekspresi gen IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B dan diberi perlakuan kombinasi EH-MSCs dan HA dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan sumber penelitian lanjutan tentang pengaruh kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mendorong pemanfaatan kombinasi EH-MSCs dan HA untuk *collagen loss* akibat paparan UVB.

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
1	Se-Ra Park, Jae-Wan Kim, Hee-Sook Jun, Yoo Young Roh, Hwa-Yong Lee, In-Sun Hong, 2017 ²⁵	<i>Stem Cell and Its Effect on Cellular Mechanisms Relevant to Wound Healing</i>	<i>In vivo</i>	MSCs meningkatkan kemampuan proliferasi sel kulit seperti fibroblast, keratinosit, dan epitel vascular, meningkatkan perbaikan kulit
2	Sudha Balasubramanian, Chara Thej, Ankita Wavekar, Priyanka Swamynathan, Pawan K Gupta, Raviraja N	<i>Evaluation of the Profile and Functional Characteristics of Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells-Derived</i>	<i>In vitro</i>	MSCS menghambat aktivasi Extra Cellular Matrix (ECM)/MMP sehingga terjadi sintesis kolagen.

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
	Seetharam, Anish S Majumdar, 2017 ²⁶	<i>Conditioned Medium Suggest Potential for Skin Rejuvenation</i>		
3	Shiqi Hu, Zhenhua Li, Jhon Cores, Ke Huang, Teng Su, Phuong-Uyen Dinh, Ke Cheng, 2019 ²⁷	<i>Needle-Free Injection of Exosomes Derived from Human Dermal Fibroblast Spheroids Ameliorates Skin Photoaging</i>	<i>In vivo</i>	MSCs menyebabkan peningkatan ekspresi prokolagen tipe I dan penurunan ekspresi MMP-1 yang signifikan, terutama melalui penurunan regulasi tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) dan peningkatan regulasi transforming growth factor beta (TGF- β).
4	Natalia Basalova, Georgy Sagaradze, Mikhail Abartskiy, Evgeniy Evtushenko, Natalia Kalinina, 2019 ²⁸	<i>Mesenchymal Stromal Cells Prevents Myofibroblasts Differentiation by Transferring Fibrosis-Associated microRNAs within Extracellular Vesicles</i>	<i>In vitro</i>	MSCs mencegah diferensiasi myofibroblas dan pembentukan ECM yang dapat menyebabkan turunnya produksi kolagen.
5	Yi You, Yu Tian, Zhaogang Yang, Junfeng Shi, Kwang Joo Kwak, Yuhao Tong, Jianhong Cao, Wei Hsiang Hsu, 2023 ²⁹	<i>Intradermally delivered mRNA-encapsulating extracellular vesicles for collagen-replacement therapy</i>	<i>In vivo</i>	Pemberian MSCs meningkatkan produksi collagen A1, dan mencegah degradasi ekstra seluler matriks

No	Peneliti, tahun	Judul	Metode	Hasil
6	Jessica Angelina, Agung Putra, Setyo Trisnadi, Dedy Hermansyah, Eko Setiawan, Titiek Sumarawati, Nur Dina Amalina 2025 ³⁰	<i>Hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells (MSC) exosomes attenuate ultraviolet-B (UVB)-mediated malondialdehyde (MDA) and matrix metalloproteinase-1 (MMP)-1 upregulation in collagen loss models.</i>	<i>In vivo</i>	Exosome hipoksia MSCs memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dengan mengurangi ekspresi MDA dan MMP-1 pada tikus model collagen loss yang diinduksi UVB

MSCs dapat meningkatkan kemampuan proliferasi sel kulit seperti fibroblast, keratinosit, dan epitel vascular, meningkatkan perbaikan kulit.²⁵ Penelitian lainnya melaporkan bahwa senyawa *soluble* molekul pada MSCs menyebabkan peningkatan ekspresi prokolagen tipe I dan penurunan ekspresi MMP-1 yang signifikan, terutama melalui penurunan regulasi *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) dan peningkatan regulasi *transforming growth factor beta* (TGF- β).²⁷ Penelitian dengan pemberian *exosome* meningkatkan produksi collagen A1, dan mencegah degradasi ekstra seluler matriks.²⁹ Penelitian terdahulu melaporkan bahwa MSCs yang melepaskan *secretome* dan *exosome* menghambat aktivasi *Extra Cellular Matrix* (ECM)/MMP sehingga terjadi sintesis kolagen.²⁶ Penelitian lainnya juga melaporkan bahwa HMSCS mencegah diferensiasi myofibroblas dan pembentukan ECM yang dapat menyebabkan turunnya produksi kolagen.

Exosome hypoksia MSCs juga dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dengan mengurangi ekspresi MDA dan MMP-1 pada tikus model collagen loss yang diinduksi UVB.³⁰ Penelitian-penelitian tersebut berbeda dengan penelitian ini dimana EH- MSCs akan dikombinasikan dengan HA dan diinjeksikan secara subkutan pada tikus model *collagen loss* yang dipapar UVB dan dianalisis kadar MDA dan ekspresi gen IL-10.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Malondialdehyde* (MDA)

2.1.1. Definisi

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa organik dengan rumus nominal $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Senyawa ini sangat reaktif yang terjadi secara alami dan merupakan penanda stres oksidatif.³¹ MDA sebagian besar ada dalam bentuk enol, dan dalam pelarut organik, isomer cis lebih disukai, sedangkan dalam air, isomer trans lebih dominan. MDA dihasilkan dari peroksidasi lipid asam lemak poliunsaturasi dan merupakan produk utama dalam sintesis tromboksan A_2 .³⁰

MDA digunakan sebagai biomarker stres oksidatif dalam banyak masalah kesehatan seperti *collagen loss*, hiperpigmentasi, alergi, periodontitis dan kanker. MDA bereaksi dengan deoksiasenosin dan deoksiguanosin dalam DNA dan dapat menyebabkan mutasi. Pada orang dewasa yang lebih tua, MDA telah dikaitkan dengan mortalitas akibat semua penyakit. MDA diproduksi oleh lipid membran sebagai respons terhadap ROS dan dapat digunakan sebagai indikator untuk mengevaluasi tingkat kerusakan membran plasma sel. MDA adalah salah satu produk akhir peroksidasi asam lemak poliunsaturasi dalam sel yang dapat

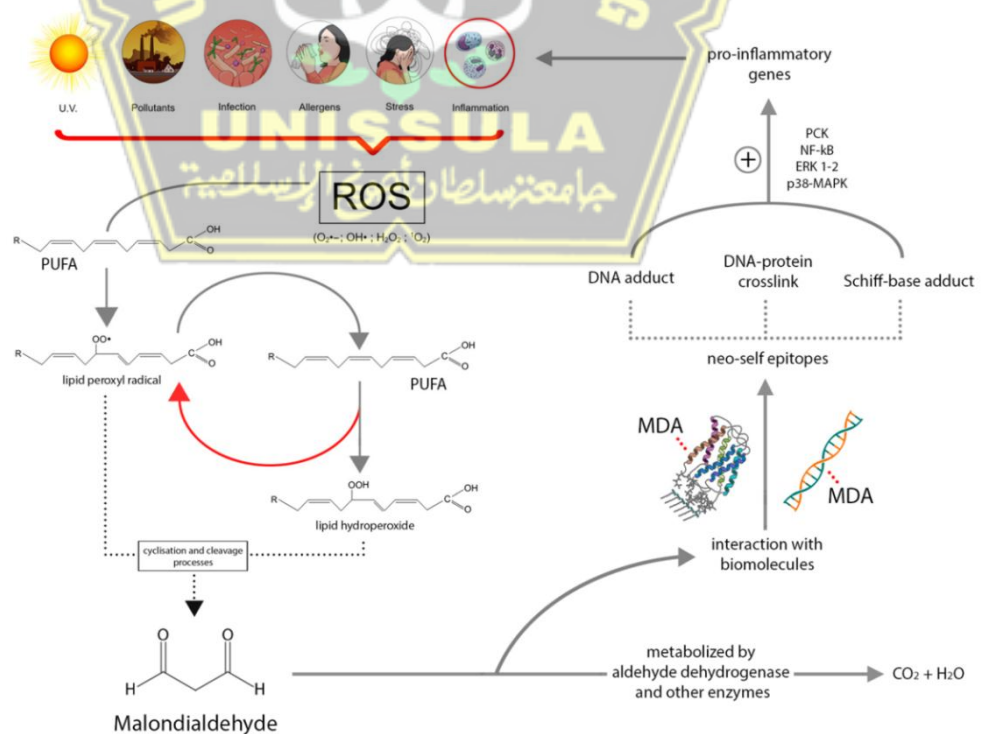
menyebabkan kerusakan dan lisis protein pada sistem membran sel dan menyebabkan kematian sel kulit dalam kasus yang parah.^{32,33}

2.1.2. Pengaruh Paparan UVB terhadap Kadar MDA dan Penurunan Kolagen

Peningkatan kadar MDA telah dilaporkan oleh berbagai penelitian defisiensi kolagen pada kulit.³⁴ MDA adalah dialdehida tiga karbon yang sangat reaktif sebagai penanda stres oksidatif yang dihasilkan sebagai produk samping dari peroksidasi asam lemak poliunsaturasi dan asam arakidonik.^{35,36}

Penelitian terdahulu melaporkan bahwa MDA berperan penting dalam defisiensi kolagen pada kulit yang terpapar sinar matahari dan berkontribusi pada kerusakan kulit. Peran stres oksidatif dalam kelainan *collagen loss* kulit dapat diprediksi oleh temuan klinis kadar kolagen kulit yang abnormal pada beberapa penyakit kulit akibat UVB.^{37,38} Paparan UVB pada kulit dapat menghasilkan peningkatan jumlah ROS, yang menyebabkan ketidakseimbangan antara produksi ROS dan mekanisme pertahanan antioksidan, yang mengakibatkan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan DNA dan produksi sitokin proinflamasi, yang dapat berkontribusi pada perkembangan *collagen loss*. Stres oksidatif tersebut yang memicu aktivasi jalur dan kadar MDA dalam kulit.

Berbagai stresor termasuk radiasi UV dapat meningkatkan produksi MDA yang berdampak pada kerusakan DNA dan penghentian siklus sel melalui jalur p53/p21 sehingga melibatkan kaskade P38/MAPK dan jalur NF- κ B⁵¹. Telah ditunjukkan bahwa kulit manusia yang terpapar sinar UV memiliki akumulasi sel tua yang sangat tinggi. Akumulasi fibroblas tua dapat mempercepat penuaan kulit dengan mensekresi faktor-faktor fenoti sekretori terkait penuaan (SASP), termasuk IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, dan MMPs. Faktor SASP yang disekresikan dari fibroblas tua bertanggung jawab atas peradangan kronis serta degradasi ECM. Gambar 2.2 menjelaskan jalur pensinyalan utama yang terlibat dalam penurunan kolagen hingga *photoaging* yang diperantarai UV.³⁹



Gambar 2.1. Proses sekresi MDA akibat peningkatan ROS⁴⁰

2.2. Interleukin 10 (IL-10)

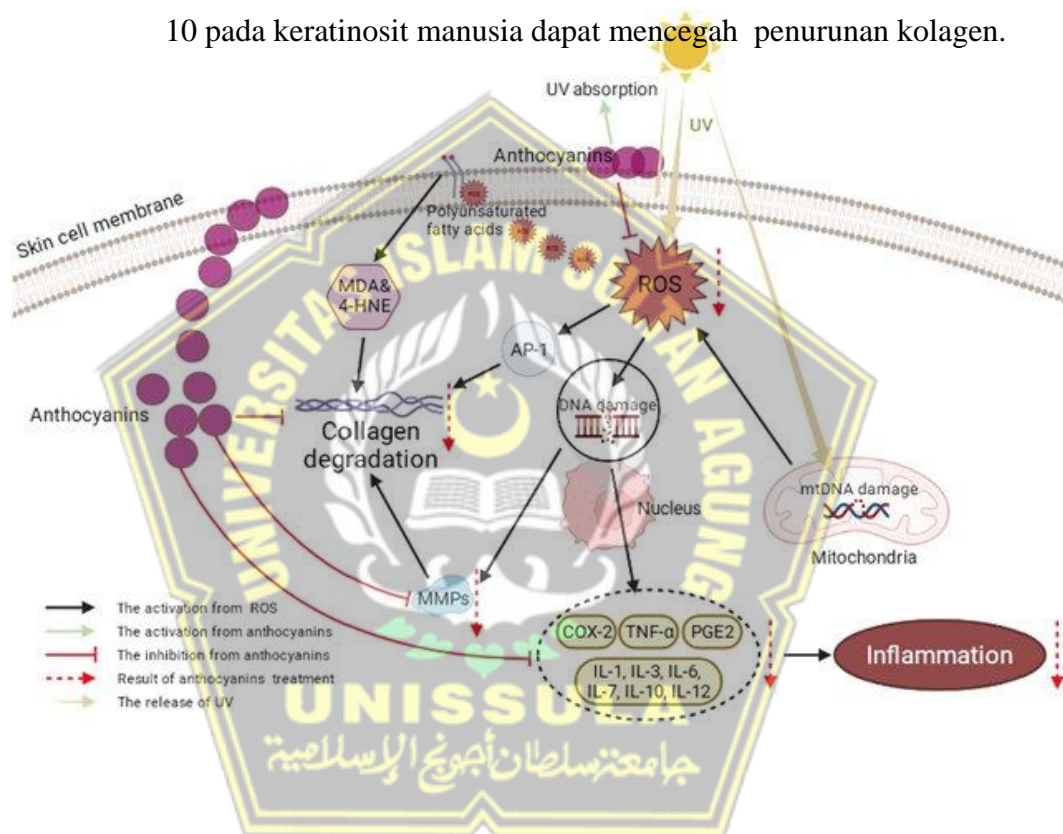
2.2.1. Definisi

Interleukin-10 (IL-10) adalah pleomorfik yang terlibat sebagai antiinflamasi selama terjadinya infeksi.⁴¹ IL-10 diproduksi hampir semua sel imun seperti sel B, sel mast, granulosit (neutrophil, basophil, eosinophil), makrofag, sel dendritik, dan beberapa sub populasi sel set T. IL-10 berperan sebagai agen pengatur *post transcriptional* di tingkat seluler untuk menekan messenger RNA (mRNA) untuk menstabilkan protein HuR (Human antigen R). IL-10 dapat menghambat jalur persinyalan apoptosis melalui jalur p38 *Mitogen Activated of transcription* (MAPK), melalui Signal Transducer and Activator of Transcription 3 (STAT3), sehingga menghambat kematian jaringan dan disfungsi organ setelah cedera.⁴²

2.2.2. Peran IL-10 pada collagen loss akibat UVB

IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi yang diproduksi oleh sel T-reg. IL-10 berperan dalam mengatur sistem kekebalan yang meminimalkan kerusakan sel selama peradangan. Peradangan dan immunosupresi kulit akibat radiasi UVB dapat ditekan dengan peningkatan ekspresi dan sekresi IL-10 pada kulit.⁴³ Molekul inflamasi yang terkait dengan photoaging yang dimediasi oleh radiasi UVB menunjukkan bahwa keratinosit yang rusak akibat sinar UVB mengeluarkan RNA nonkode yang dapat mengaktifkan TLR3

dan menginduksi respons inflamasi seperti TNF- α dan IL-6, serta menekan IL-10 yang dapat menyebabkan penurunan kolagen.⁴⁴ IL-10 juga berperan dalam pencegahan photoaging akibat penyinaran UVB dengan menekan ekspresi IL-6 yang diinduksi radiasi UVB pada kulit tikus. Penelitian lain melaporkan peningkatan ekspresi IL-10 pada keratinosit manusia dapat mencegah penurunan kolagen.



Gambar 2.2. Jalur aktivasi inflamasi penyebab *collagen loss*⁴⁵

Paparan sinar UV pada kulit menyebabkan pembentukan ROS di dalam sitoplasma sel fibroblas. ROS ini berperan sebagai sinyal molekuler yang mengaktifasi jalur pensinyalan *mitogen-activated protein kinase* (MAPKs) yang terdiri dari ERK1/2, JNK, dan p38. Ketiga kinase ini mengalami fosforilasi yang memediasi aktivasi faktor transkripsi *activator protein-1* (AP-1), yang tersusun dari

subunit c-Fos dan c-Jun. Aktivasi AP-1 meningkatkan ekspresi gen-gen yang mengandung elemen respon cAMP (CRE), termasuk MMP-1, -3, -9 yang berperan dalam degradasi kolagen, serta COX-2 dan iNOS yang memicu peradangan. ROS juga mengaktivasi faktor transkripsi NF- κ B melalui degradasi protein inhibitor I κ B, sehingga NF- κ B dapat berpindah ke nukleus dan menstimulasi ekspresi gen inflamasi lainnya. Aktivasi AP-1 dan NF- κ B secara bersamaan menyebabkan peningkatan enzim proinflamasi dan enzim degradasi matriks, yang mengarah pada penurunan sintesis prokolagen dan peningkatan degradasi kolagen. Kombinasi dari proses-proses ini menghasilkan kerusakan jaringan ikat dermal dan peradangan kulit, yang merupakan ciri utama dari penurunan kolagen yang diinduksi oleh sinar UV.⁴⁵

Sitokin antiinflamasi IL-10 berperan penting dalam menghambat proses peradangan, termasuk yang diinduksi oleh stres oksidatif akibat paparan sinar UVB. IL-10 berfungsi sebagai penghambat aktivasi NF- κ B dan AP-1. IL-10 dapat menghambat transkripsi gen proinflamasi dengan menginterferensi aktivasi NF- κ B melalui stabilisasi I κ B serta menghambat ekspresi c-Fos dan c-Jun yang membentuk AP-1. IL-10 juga menurunkan ekspresi MMPs, COX-2, dan iNOS, yang berarti mengurangi kerusakan kolagen, menekan sintesis mediator inflamasi, dan mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut. IL-10 dapat meningkatkan aktivitas antioksidan

dan menekan produksi ROS, sehingga memiliki efek protektif dengan mengurangi stres oksidatif dan menghambat respons inflamasi yang ditimbulkannya.^{46,47}

2.3. *Exosome*

2.3.1. Definisi *Exosome*

Exosome adalah vesikel ekstraseluler berukuran nano yang dihasilkan dan dilepaskan secara alami oleh hampir semua jenis sel, termasuk sel punca. *Exosome* membawa berbagai biomolekul seperti protein, lipid, serta materi genetik (RNA, mRNA, microRNA), dan berfungsi sebagai pembawa pesan antar sel untuk mengatur komunikasi dan mempengaruhi perilaku sel target.⁴⁸

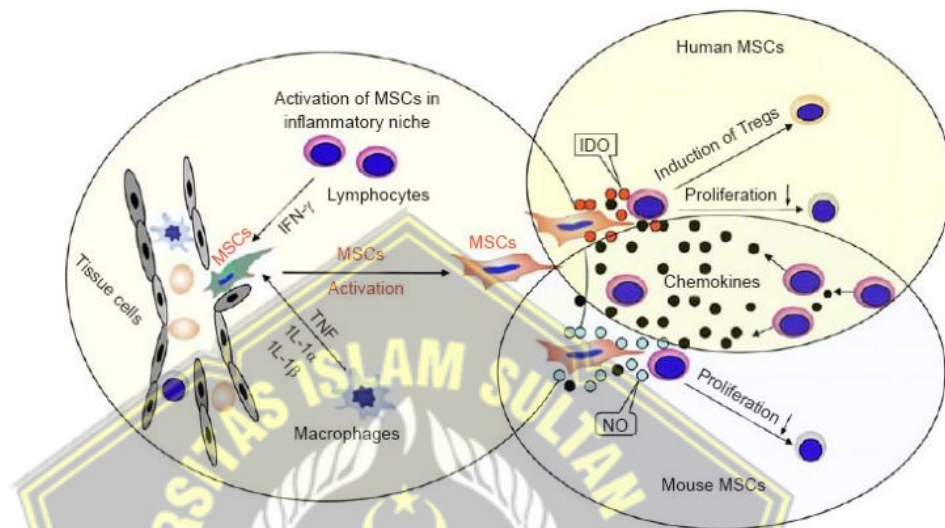
2.3.2. Peran *Exosome* MSCs

Exosome yang dihasilkan oleh *mesenchymal stem cell* mengandung *small molecule growth factor* dapat diproduksi melalui berbagai metode. MSCs yang diinkubasi dalam metode hipoksia diketahui meningkatkan pelepasan molekul pro-regenerasi.⁴⁹ Disisi lain, paparan kondisi hipoksia pada MSCs dapat meningkatkan sekresi sitokin anti-inflamasi seperti interleukin-10 (IL-10), serta menginduksi sejumlah enzim antioksidan, di antaranya *glutathione peroxidase* (GPX), *superoxide dismutase* (SOD1, SOD2), *catalase* (CAT), dan *sirtuin* (SIRT1, SIRT3), yang mayoritas terakumulasi di dalam eksosom sel.⁴⁹

Produk IL-10 oleh MSCs diketahui berperan dalam menghambat aktivasi *transcription factor nuclear factor kappa B* (NF- κ B), yang merupakan pemicu terjadinya overekspresi *reactive oxygen species* (ROS). Di sisi lain, *exosome* MSCs dapat mengaktivasi factor transkripsi NRF2, sehingga meningkatkan ekspresi gen-gen antioksidan yang dapat menurunkan kadar ROS. Selain molekul protein dan enzim, *exosome* MSCs yang dihasilkan dalam kondisi hipoksia juga mengandung berbagai microRNA, seperti miR-21, miR-22-3p, dan miR-215-5p, yang turut berperan dalam inhibisi stres oksidatif.⁴⁹

Pada lingkungan inflamasi, berbagai sinyal pro-inflamasi seperti IFN- γ , TNF, IL-1 α , dan IL-1 β yang diproduksi oleh limfosit dan makrofag berperan dalam mengaktifkan MSCs. Setelah aktivasi, MSCs melepaskan berbagai kemokin yang berfungsi menarik sel imun lain dan memodulasi respon imun. Pada MSCs manusia, produksi IDO (*indoleamine 2,3-dioxygenase*) menyebabkan induksi sel T regulator (Tregs) dan penurunan proliferasi sel T, yang berperan pada efek imunomodulator MSCs. Sementara itu, pada MSCs tikus, produksi NO (*nitric oxide*) juga menghambat proliferasi sel T. MSCs yang teraktivasi dalam lingkungan inflamasi tidak hanya berperan penting dalam perbaikan jaringan, tetapi juga secara aktif mengatur respon imun melalui pelepasan molekul-molekul yang menekan aktivitas sel T dan

meningkatkan populasi Tregs. Mekanisme ini menunjukkan potensi terapeutik MSCs regenerasi jaringan yang melibatkan modulasi mikroenvironment inflamasi.⁶⁰



Gambar 2.3. Lingkungan Inflamasi Mengaktivasi MSC⁶⁰

2.3.3. *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs)

Mesenchymal stem cells (MSCs) adalah sel yang bersifat multipotensi sehingga dapat berdiferensiasi menjadi sel dewasa lain seperti osteosit, adipositi, dan neurosit. *Mesenchymal stem cell* dapat diisolasi dari beberapa jaringan antara lain jaringan adipose, folikel rambut, hingga *Wharton Jelly* dari tali pusat.⁵⁰ Secara umum, MSCs diidentifikasi sebagai sel yang dapat menempel pada permukaan plastik dan bentuk menyerupai sel fibroblast atau jarum. Secara fenotipe, MSCs yang diisolasi dari tikus, dimana MSCs tikus tidak mengekspresikan beberapa marker spesifik antara lain CD44

dan CD29, namun mengekspresikan marker spesifik CD45 dan CD31 dan bersifat osteogenik.⁴⁸

2.3.4. Peran MSCs

Secara *in-vivo*, MSCs berfungsi dalam proses regenerasi suatu jaringan. Peran MSCs dalam regenerasi jaringan berkaitan dengan kemampuan MSCs dalam berdiferensiasi dan meregulasi kondisi imun dalam tubuh. Kemampuan diferensiasi MSCs memungkinkan untuk dapat mengganti jaringan yang rusak. Sedangkan kemampuan MSCs sebagai imunoregulator berkaitan dengan kemampuan MSCs untuk bersifat pro-inflamasi atau bersifat anti-inflamasi. MSCs berperan dalam memicu proses inflamasi yang menyebabkan beberapa komponen inflamasi segera menuju ke lokasi inflamasi. Hal ini menyebabkan proses inflamasi akan berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan kondisi normal. Ketika proses inflamasi selesai, MSCs akan berubah peran bersifat anti-inflamasi dan memiliki kemampuan dalam mengekspresikan sitokin-sitokin yang berperan dalam menghentikan proses inflamasi.^{51,52}

2.3.5. Konsep *Small Molecule Growth Factor* MSC

Terminologi fungsional MSC didasarkan pada kemampuannya dalam menskresi berbagai *soluble molecule* yang memiliki efek parakrin. Konsep parakrin adalah komunikasi MSC dengan sel dan matriks sekitarnya melalui molekul sinyal tertentu yang dilepaskan

oleh MSC. Secara spesifik, konsep *small molecule growth factor* MSC didasarkan pada⁵³:

1. Kompleksitas teknik isolasi MSC

Sebagaimana diketahui teknik dan metode dalam mengisolasi MSC membutuhkan teknik yang kompleks disamping kerja aseptis serta waktu kultur (selama beberapa minggu) untuk mendapatkan turunan MSC yang homogen dengan potensi *stemness* tinggi, terutama kemampuan multi-diferensiasi menjadi berbagai sel jaringan spesifik. Berbagai faktor harus dikendalikan untuk mencapai hasil optimum, karena banyak faktor yang ikut menentukan hasil akhir isolasi.

2. Waktu paruh kehidupan MSC yang singkat

Berbagai hasil penelitian melaporkan bahwa waktu paruh kehidupan MSC ketika berintegrasi dalam jaringan cedera pasca transplantasi hanya bertahan pada waktu singkat, sehingga kemungkinan MSC melakukan fungsi regenerasi tidak optimal. Berbagai faktor internal yang terjadi dalam jaringan cedera ikut mempengaruhi waktu paruh kehidupan MSC.

3. Konsep parakrin MSC dalam regenerasi

Laporan penelitian terkini mengungkapkan bahwa sebagian besar MSC yang diberikan lewat intravena akan terjebak dalam paru sebagai *small emboli* (tidak menimbulkan oklusi vaskuler). Sekalipun demikian, MSC yang terjebak

tersebut tetap akan melepaskan berbagai molekul antiinflamasi, disamping pro-regenerasi. Hal ini memunculkan spekulasi bahwa secretome yang mengandung *exosome* yang dilepas oleh MSC secara parakrin merupakan faktor utama dalam regenerasi jaringan.

2.4. *Collagen Loss*

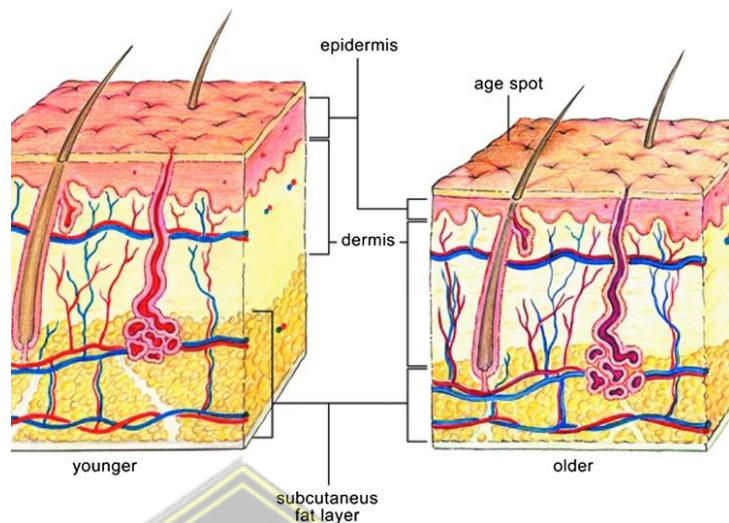
2.4.1. *Definisi Collagen Loss*

Kolagen loss akibat paparan UVB adalah kondisi berkurangnya jumlah dan kualitas kolagen dalam kulit yang dipicu oleh radiasi ultraviolet tipe B dari sinar matahari. Paparan UVB menyebabkan kerusakan pada serat kolagen dan elastin yang terletak di lapisan dermis, sehingga proses regenerasi kulit terganggu, elastisitas menurun, dan tanda-tanda penuaan seperti kerutan dan kulit kering semakin nyata. Paparan UVB secara berkepanjangan memicu terjadinya stress oksidatif pada sel kulit, mempercepat pemecahan kolagen, dan menghambat produksi kolagen baru, sehingga kulit menjadi tidak lagi halus, kenyal, dan tidak tampak awet muda. Kerusakan kolagen ini juga memperberat efek lain seperti kulit terbakar, perubahan pigmentasi, serta peningkatan risiko penuaan dini dan kanker kulit.^{54,55}

2.4.2. Tipe Kolagen

Kolagen merupakan protein (polipeptida) ekstraseluler utama dalam tubuh manusia yang ditemukan pada hampir semua organ tubuh. Sampai saat ini sudah ditemukan sebanyak 21 tipe kolagen, jumlah dan jenisnya berbeda-beda pada berbagai organ tubuh manusia.⁵⁶

Kolagen-1 merupakan jenis serabut kolagen terbanyak yang dijumpai dalam tubuh manusia seperti pada tendon, tulang, kulit. Serabut kolagen-1 berperan penting dalam pembentukan jaringan parut. Kolagen-2, kolagen-9, kolagen-10, kolagen-11 ditemukan pada kartilago. Kolagen-3 banyak dijumpai pada kulit, dinding pembuluh darah, pada jaringan yang ada serabut retikuler, seperti pada jaringan yang mengalami pertumbuhan cepat terutama pada tahap awal penyembuhan luka. Kolagen-3 penyebarannya hampir sama dengan kolagen-1. Sedangkan kolagen-7 kebanyakan lokasinya terletak pada *anchoring fibril* di *dermal epidermal junction* pada kulit, mukosa dan servik. Kolagen-7 juga banyak terdapat pada dinding pembuluh darah.⁵⁷



Gambar 2.4. Perbedaan Kolagen Pada Kulit Muda dan Kulit Tua.

Jumlah Kolagen pada kulit yang lebih muda lebih banyak dibandingkan kulit yang lebih tua⁵⁸

Telah banyak dibuktikan bahwa tipe kolagen yang mendominasi organ kulit adalah kolagen-1 dan kolagen-3 yang berfungsi pada pertahanan mekanik. Akan tetapi tipe kolagen lain yang juga ada pada kulit, seperti kolagen-5, kolagen-6, kolagen-7, kolagen-12 ditemukan dalam jumlah minimal yang diperkirakan ikut menunjang, akan tetapi peran yang pasti belum jelas.⁵⁶ Karena kolagen-1 yang mendominasi organ kulit, maka kolagen-1 yang akan diukur pada penelitian kali ini.

Pada umumnya jumlah kolagen akan berkurang dengan bertambah umur. Akan tetapi beberapa tipe kolagen mengalami hal yang tidak sama. Pada kulit anak mempunyai banyak kolagen-3 (biasanya pada jaringan dengan pertumbuhan cepat). Pada proses penuaan intrinsik akibat peningkatan usia akan terjadi penurunan kolagen-3 dan peningkatan kolagen-1. Kolagen-1 terus meningkat sampai umur 35 tahun, saat kulit mencapai puncak kekuatan

mekanik, setelah itu kolagen-1 akan menurun. Hubungan umur dengan jumlah kolagen sampai saat ini belum jelas, akan tetapi jumlah kolagen manusia setelah umur 60 tahun secara keseluruhan secara signifikan mengalami penurunan dibandingkan dengan kulit umur lebih muda.⁵⁷

Kolagen merupakan serat utama pada lapisan dermis kulit dan merupakan protein yang berfungsi untuk kekuatan mekanik dan penyangga kulit. Semakin bertambah umur maka struktur protein kulit dan komponen kulit lain akan berubah dan hal ini menyebabkan penuaan kulit. Perubahan jumlah kolagen merupakan bagian integral dari proses penuaan kulit. Diperkirakan bahwa akan terjadi penurunan kolagen sekitar 1% pertahun perunit area kulit akan tetapi pada kulit yang terpapar sinar UVB dijumpai penurunan sampai 59% seperti yang ditemukan pada kulit yang mengalami *photodamage*.⁵⁶

Walaupun kolagen-1 merupakan kolagen utama pada lapisan dermis kulit akan tetapi kolagen tipe lain juga tidak kalah peranan pentingnya. Kolagen-7 yang terbanyak pada *anchoring fibril* terletak pada membrana basalis yang melekatkan membrana basalis ke papila dermis. Pada pasien dengan paparan sinar UVB kronis akan menurunkan jumlah kolagen-7 dan akan mengakibatkan perlekatan antara membrana basalis dengan papilla dermis menurun sehingga ikatan epidermis dan dermis menjadi lemah. Pada satu penelitian didapatkan bahwa kerutan kulit terbentuk akibat lemahnya ikatan

antara dermis dan epidermis oleh karena degenerasi *anchoring fibril*. Hal ini ditambah adanya bukti adanya penurunan kolagen-7 pada pada dasar kerutan kulit di samping juga ditemukan penurunan kolagen-4 pada tempat yang sama.⁵⁹

2.4.3. Mekanisme kerusakan kolagen

Beberapa penelitian melaporkan bahwa paparan ultraviolet (UV) pada kultur fibroblas kulit dapat menyebabkan kerusakan matriks ekstraseluler. Proses degradasi kolagen tipe I dapat dibuktikan melalui percobaan *in vitro*, yaitu dengan mencampurkan kolagen dengan enzim MMP yang diinduksi oleh paparan UV. Proses degradasi kolagen tersebut terjadi melalui dua mekanisme: secara langsung melalui pemecahan rantai kolagen oleh MMP, dan secara tidak langsung melalui penghambatan sintesis kolagen akibat adanya fragmen kolagen hasil degradasi. Kolagen Tipe I yang terfragmentasi memberikan umpan balik negatif terhadap sintesisnya.⁶⁰ Model yang menggambarkan kerusakan akibat paparan sinar UVB pada jaringan kulit. Paparan ultraviolet (panah bergerigi) mengaktifkan faktor pertumbuhan dan reseptor sitokin pada permukaan keratinosit dan fibroblast. Reseptor yang aktif akan menstimulasi jalur sinyal transduksi dan merangsang faktor transkripsi AP-1, yang dapat mempengaruhi transkripsi gen MMP. Dalam fibroblas, AP-1 juga menghambat ekspresi gen prokolagen. MMP disekresikan oleh keratinosit dan fibroblas dan memecah

kolagen dan protein lain yang terdapat pada matriks ekstraselular dermis. Perbaikan kerusakan kulit yang tidak sempurna akan mengganggu integritas fungsional dan struktural dari matriks ekstraseluler. Paparan sinar matahari berulang menyebabkan akumulasi kerusakan kolagen yang akhirnya menghasilkan kerutan yang spesifik (*photodamage skin*).^{54,55}

2.5. Hyaluronic Acid

2.5.1. Definisi

Asam hialuronat (HA) adalah polisakarida alami yang termasuk dalam keluarga besar glikosaminoglikan (GAG). HA berperan sebagai komponen utama matriks ekstraseluler di jaringan ikat, termasuk kulit, di mana fungsi utamanya adalah menstabilkan struktur interseluler, menjaga kelembapan, dan membentuk matriks fluida sebagai tempat pengikatan kolagen serta serat elastik. Secara alami, HA juga terdapat dalam cairan sendi, mata, dan jaringan lain pada tubuh manusia. Sinergi ini sangat penting karena seiring pertambahan usia, jumlah HA di kulit menurun, sehingga terjadi peningkatan kerutan maupun penurunan elastisitas kulit.⁶¹

2.5.2. Struktur Molekul HA

Secara kimiawi, HA tersusun dari rantai panjang berulang dari dua monosakarida : asam D-glukuronat dan N-asetil-D-glukosamin, yang terhubung melalui ikatan β -glikosidik. Struktur polimer linier

ini memberikan kemampuan pada HA untuk mengikat air dalam jumlah besar dan menahan kelembapan kulit. HA tersedia dalam bentuk berat molekul tinggi (HMW-HA) dan rendah (LMW-HA), masing-masing memberikan efek biologis berbeda. Struktur HA yang unik di antara GAG lain karena tidak berikatan dengan protein inti dan tidak mengalami modifikasi pasca-sintesis.¹⁴



Gambar 2.5. Struktur Kimia HA

2.5.3. Mekanisme Molekuler HA dalam Menginduksi Produksi Kolagen

Asam hialuronat meningkatkan kolagen kulit melalui beberapa mekanisme molekuler yang saling terkait. HA berperan dalam hidrasi dan viscoelastisitas dengan kemampuannya mengikat dan mempertahankan kelembapan tinggi pada matriks ekstraseluler, sehingga mendukung proses penyembuhan luka serta memperbaiki jaringan kulit yang rusak. Selain itu, HA berinteraksi dengan sel fibroblas dengan merangsang migrasi dan proliferasi fibroblas, yang

merupakan sel utama dalam produksi kolagen tipe I dan III yang penting untuk kesehatan kulit. HA juga membantu menstabilkan matriks ekstraseluler dengan menata ulang matriks granulasi sehingga serat kolagen baru dapat tersusun dengan lebih baik dan terorganisir. Selanjutnya, HA mengurangi degradasi kolagen dengan menurunkan aktivitas enzim matrix metalloproteinase (MMP), yang biasanya meningkat akibat stres oksidatif, seperti paparan UVB, sehingga dapat membatasi kerusakan kolagen. Terakhir, HA memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang efektif dalam meredam pembentukan radikal bebas serta merangsang produksi sitokin antiinflamasi seperti IL-10, yang secara keseluruhan mempercepat proses pemulihan jaringan dan mencegah kerusakan kolagen lebih lanjut.^{14,62,63}

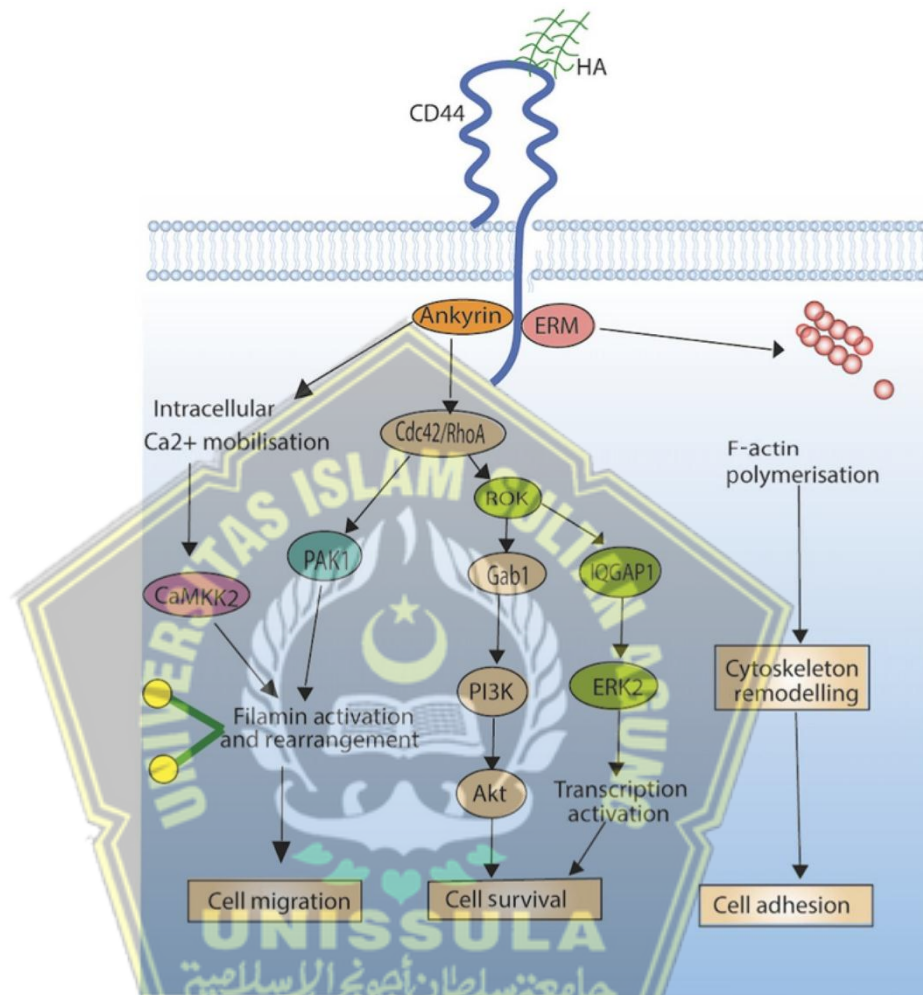
2.5.4. Aplikasi HA pada Kulit

Aplikasi HA dalam bidang dermatologi sangat beragam, secara topikal, HA banyak digunakan dalam bentuk krim, serum, atau gel yang berfungsi untuk meningkatkan kelembapan permukaan kulit dan mendukung proses penyembuhan regeneratif. Selain itu, HA juga diaplikasikan dalam bentuk injeksi sebagai filler dengan berat molekul tinggi yang digunakan untuk mengisi kerutan serta langsung meningkatkan struktur kolagen kulit. Pada kasus luka, HA dimanfaatkan dalam produk dressing atau inovasi lain untuk mempercepat penyembuhan dan merangsang regenerasi kolagen di

area yang terluka. Mengenai dosis, produk topikal biasanya mengandung HA dengan konsentrasi antara 0,2% hingga 2%.¹⁴ Sedangkan untuk penggunaan injeksi filler, dosis dan interval pemberian disesuaikan dengan indikasi klinis dan pertimbangan dokter yang menangani pasien. Produk HA dengan molekul lebih kecil digunakan untuk penetrasi yang lebih dalam ke lapisan kulit, sementara HA dengan berat molekul tinggi lebih efektif untuk menjaga hidrasi pada permukaan kulit.¹⁵

Hyaluronic acid dapat meningkatkan produksi kolagen melalui mekanisme molekuler yang dimediasi oleh sinyal reseptor CD44. *Hyaluronic acid* yang berikatan dengan CD44 di permukaan sel memicu aktivasi protein adaptor seperti ankyrin dan ERM, serta menginisiasi transduksi sinyal melalui jalur Cdc42/RhoA yang berlanjut ke aktivasi ROK, PI3K, dan ERK2. Aktivasi PI3K menghasilkan aktivasi protein kinase Akt, yang berfungsi pada mekanisme *cell survival* dengan menekan apoptosis dan meningkatkan kapasitas sintesis protein, termasuk kolagen. Selanjutnya, jalur ERK2 dan IQGAP1 mengaktifasi transkripsi gen dan remodeling sitoskeleton, sehingga memperkuat adhesi serta migrasi sel fibroblast sebagai produsen utama kolagen. Efek bersamaan antara jalur survival cells dan remodeling sitoskeleton ini secara sinergis meningkatkan produksi kolagen, karena fibroblast

yang tetap hidup dan aktif mampu mensintesis dan mensekresi kolagen lebih efektif.⁶⁴



Gambar 2.6. Mekanisme HA dalam mempengaruhi *cell survival* dan *repair*⁶⁴

2.6. Keterkaitan pemberian kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada *collagen loss* akibat paparan UVB

Paparan kronis ultraviolet B (UVB) merupakan salah satu pemicu utama penurunan kolagen dermal, elastisitas kulit, serta peningkatan inflamasi lokal.³⁰ Paparan UVB menstimulasi akumulasi ROS di dalam sel fibroblas kulit, yang memicu aktivasi jalur pensinyalan MAPKs dan faktor

transkripsi NF- κ B. Aktivasi NF- κ B selanjutnya meningkatkan transkripsi gen proinflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , dan MMP-1, yaitu enzim yang memecah serat kolagen tipe I dan III di dermis, yang berkontribusi langsung terhadap degradasi kolagen.⁶⁵ Akumulasi ROS di dalam sel ini juga menyebabkan peroksidasi lipid membran, menghasilkan produk sampingan *malondialdehyde* (MDA) yang bersifat toksik dan mutagenik.^{66,67} *Malondialdehyde* (MDA) dapat menyebabkan terbentuknya kegagalan ikatan protein dan DNA dan dapat menjadi tanda adanya stres oksidatif yang akan memicu respon imun serta meningkatkan aktivasi NF- κ B. Aktivasi NF- κ B ini akan mendorong pelepasan sitokin pro-inflamasi dan MMP-1, yang selanjutnya meningkatkan degradasi kolagen.^{68,69}

Exosome yang diekstraksi dari *mesenchymal stem cells* (MSCs) yang diprekondisi dengan hipoksia memiliki berbagai efektivitas terapi. *Exosome* mengandung senyawa biomolekul aktif, termasuk microRNA, sitokin antiinflamasi IL-10, serta antioksidan seperti *glutathione peroxidase* (GPX), *superoxide dismutase* (SOD1, SOD2), *catalase* (CAT), dan SIRT1.^{70,71} MicroRNA pada *exosome* berfungsi untuk mempengaruhi sel target melalui jalur sinyal MAPK, sedangkan IL-10 pada *exosome* dapat berperan sebagai regulator antiinflamasi dengan aktivasi reseptor IL-10R yang memicu fosforilasi JAK1/STAT3.⁷² Aktivasi STAT3 kemudian menginduksi ekspresi *suppressor of cytokine signaling* (SOCS3), yang menghambat transduksi sinyal inflamasi termasuk jalur NF- κ B. Dengan terhambatnya translokasi subunit p65 NF- κ B ke dalam inti, maka transkripsi

gen MMP-1 ditekan, sehingga proses degradasi kolagen dapat diminimalisir. Selain itu, IL-10 juga menekan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6, yang secara tidak langsung mengurangi feedback loop aktivasi NF- κ B oleh ROS.^{73,74}

Exosome dapat menginduksi dan mengaktifkan faktor transkripsi NRF2 melalui pelepasan dari kompleks KEAP1.⁷⁵⁻⁷⁷ NRF2 yang bertranslokasi ke nukleus akan meningkatkan ekspresi gen antioksidan fase II, termasuk SOD, CAT, dan GPX, yang bertanggung jawab dalam menetralkan ROS. Penurunan ROS secara langsung akan menurunkan laju peroksidasi lipid, sehingga produksi MDA akan ditekan. Hal ini juga akan mengurangi stimulus inflamasi sekunder yang biasanya diperantarai oleh MDA sebagai *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) yang dapat mencegah degradasi kolagen.⁷⁷

Hyaluronic acid (HA) dapat menurunkan kadar ROS dan juga dapat meningkatkan sintesis kolagen di dermis melalui beberapa mekanisme molekuler yang saling berkaitan dengan mekanisme aksi *exosome*. HA yang diaplikasikan ke dalam jaringan kulit melalui injeksi atau dalam bentuk gel dapat mengisi serta memperluas matriks ekstraseluler (ECM), sehingga menimbulkan efek regangan atau tekanan pada jaringan sekitarnya.⁷⁸ Efek mekanis ini terdeteksi oleh fibroblas dermis melalui aktivasi reseptor integrin di permukaan sel, yang memicu sinyal intraseluler seperti jalur FAK, MAPK/ERK, dan PI3K/Akt.⁷⁹ Aktivasi jalur tersebut akan menginduksi transkripsi gen kolagen, terutama tipe I dan III, sehingga

produksi protein kolagen baru di dermis semakin meningkat.²⁴ Selain stimulasi mekanis, HA juga menginduksi sekresi faktor pertumbuhan seperti TGF- β dan bFGF yang mempercepat sintesis kolagen oleh fibroblas, serta menghambat ekspresi enzim MMP yang berperan dalam degradasi kolagen.⁸⁰ Pemberian HA secara eksogen juga dapat meningkatkan produksi HA endogen melalui aktivasi *hyaluronan synthase* (HAS) yang membentuk *cross talk* positif sehingga mempercepat proses regenerasi ECM dan kolagen.



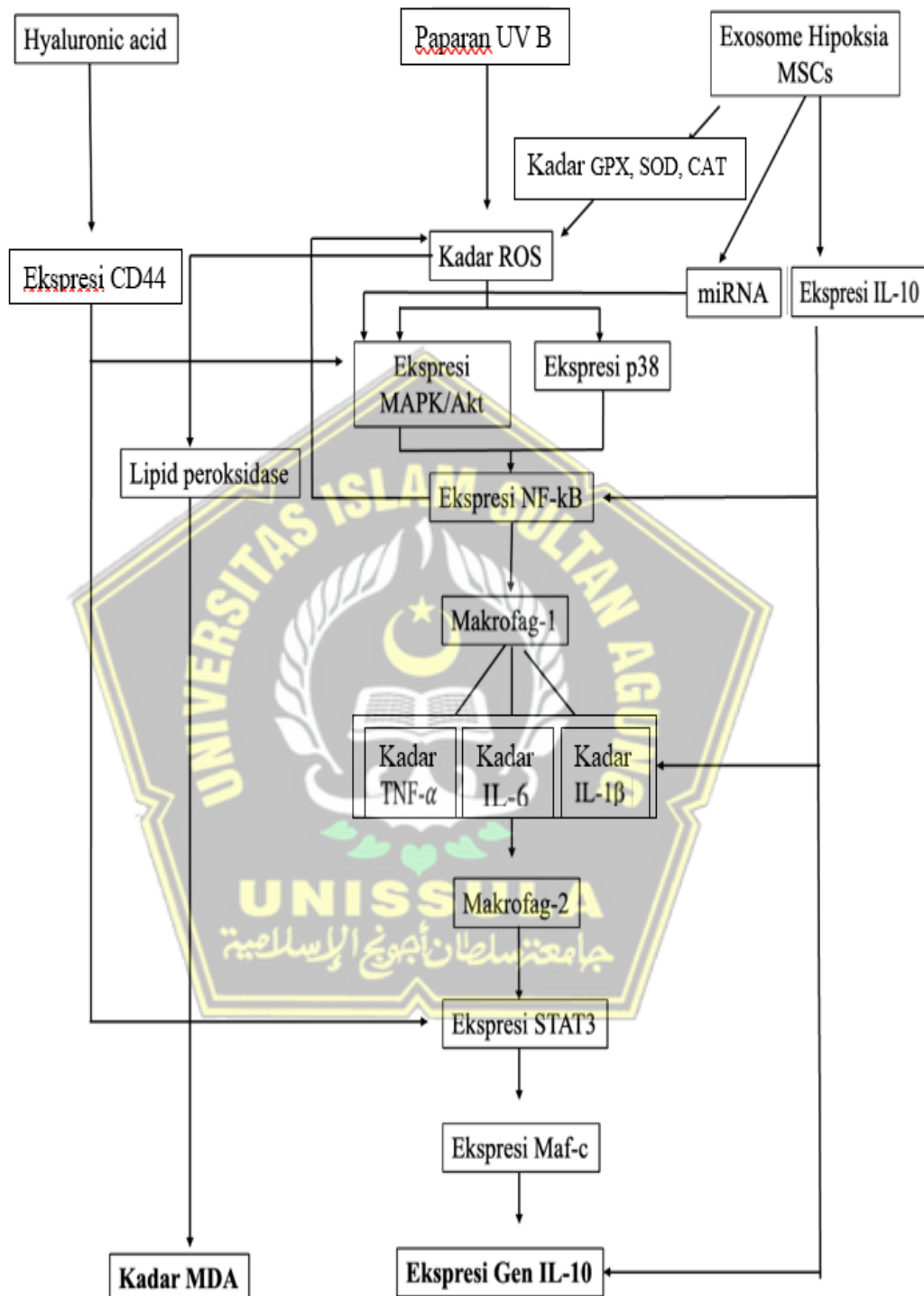
BAB III

KERANGKA TEORI

3.1. Kerangka Teori

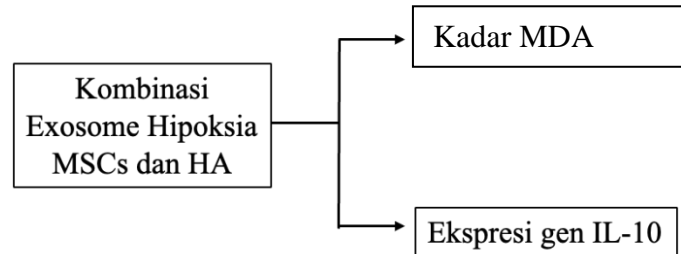
Gambar 3.1 menunjukkan kerangka teori penelitian ini. Paparan UVB menginduksi tingginya produksi ROS yang menyebabkan kerusakan DNA, kemudian penurunan kolagen^{81, 82}. Jalur pensinyalan seperti p38 MAPK dan Akt memiliki peran penting dalam respons terhadap ROS *pathway* yang dipapar UVB, yang mengarah ke proses inflamasi yang diperantarai AP-1 dan NF- κ B di kulit. Paparan UV menginduksi respon sinyal inflamasi melalui aktivasi faktor transkripsi, termasuk AP-1 (c-Fos / c-Jun) dan NF- κ B diaktifkan oleh molekul ROS yang adanya ROS ini memicu lipid peroksidasi untuk menghasilkan MDA. Peningkatan ROS juga akan meningkatkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, dan INF γ ⁸³. Aktivasi p38 MAPK akibat peningkatan ROS juga dapat menginduksi polarisasi makrofag M1 yang bersifat inflamasi menjadi makrofag M2 yang bersifat antiinflamasi sehingga akan menginduksi ekspresi IL-10 yang dapat menghambat sitokin proinflamasi^{84,85}. M2 yang bersifat antiinflamasi melalui jalur Nf- κ B dan menginduksi fosforilasi STAT3 dapat meningkatkan ekspresi IL-10. Aktivasi homodimer STAT3 mengaktifkan c-Maf dan NF- κ B sehingga menginduksi pelepasan ekspresi IL-10.⁸⁶ IL-10 yang terekspresi juga dapat memiliki efek balik untuk mencegah M2 terpolarisasi kembali menjadi M1⁸⁷.

HA yang berikatan dengan CD44 akan mengaktivasi MAPK/Akt.⁷⁹ Aktivasi jalur tersebut dapat menurunkan kadar Ros dan menginduksi transkripsi gen kolagen, terutama tipe I dan III, sehingga produksi protein kolagen baru di dermis semakin meningkat.²⁴ *Exosome hypoksia* MSCs mengandung senyawa biomolekul aktif, termasuk microRNA, sitokin antiinflamasi IL-10, serta enzim antioksidan seperti *glutathione peroxidase* (GPX), *superoxide dismutase* (SOD1, SOD2), *catalase* (CAT), dan SIRT1.^{70,71} MicroRNA pada *exosome* berfungsi untuk mempengaruhi sel target melalui jalur sinyal MAPK, sedangkan IL-10 pada *exosome* dapat berperan sebagai regulator antiinflamasi dengan aktivasi reseptor IL-10R yang memicu fosforilasi JAK1/STAT3.⁷² IL-10 pada *exosome* akan menghambat pelepasan sitokin proinflamasi yang akan menghambat pelepasan enzim MMP-1 untuk mendegradasi kolagen. Sisi lain, berbagai macam antioksidan yang diekspresikan secara langsung oleh MSCs melalui *exosome* mampu mengaktivasi faktor transkripsi NRF2 yang berujung pada peningkatan ekspresi antioksidan, penahanan ROS dan hambatan produksi MDA¹². Respon antioksidan *exosome* dapat mengurangi kadar ROS, yang kemudian akan mengurangi peradangan dengan menghambat aktivitas berlebih Akt, dan mengurangi/memblok sinyal inflamasi AP-1 dan NF-κB. Pemblokkan sinyal inflamasi tersebut dapat mencegah produksi MDA dan meningkatkan kadar IL-10.⁷⁷



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah terdapat pengaruh pemberian kombinasi EH-MSCs dan HA terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B.

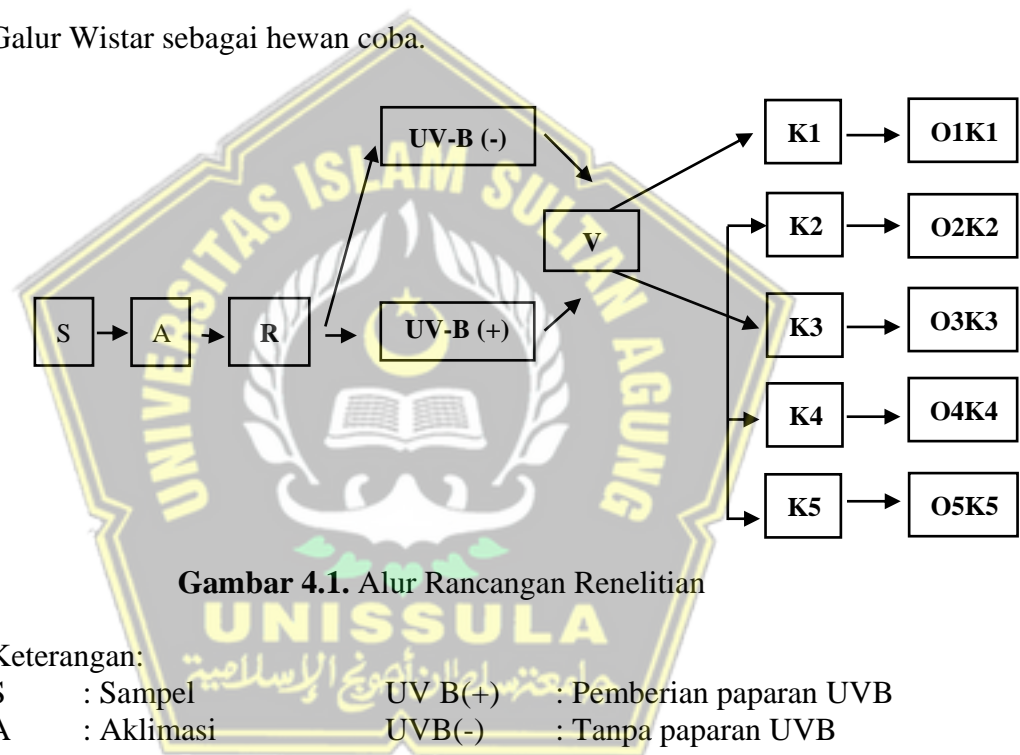


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian merupakan *post-test only control group* dengan metode rancang acak lengkap dengan lima kali ulangan per perlakuan. Gambar 4.1 menunjukkan alur rancangan penelitian yang mengelompokkan tikus jantan Galur Wistar sebagai hewan coba.



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan:

- S : Sampel
A : Aklimasi
R : Randomisasi
V : Validasi pembentukan animal model *collagen loss*
O1K1 : Observasi Kelompok 1, kelompok sehat tanpa penyinaran UVB
O2K2 : Observasi Kelompok 2, kelompok kontrol negatif dimana tikus dipapar UV-B dengan pemberian vehicle NaCl secara subkutan
O3K3 : Observasi Kelompok 3, kelompok kontrol positif dimana Tikus dipapar UV-B dengan pemberian kontrol positif *hyaluronic acid* (HA) STARIS dosis 2,4% b/v secara subkutan.
O4K4 : Observasi Kelompok 4, kelompok perlakuan 1 dimana tikus dipapar UV-B dengan perlakuan *exosome hypoksia* MSCs secara subkutan dengan dosis 200 μ L.
O4K5 : Observasi Kelompok 5, kelompok perlakuan dua dimana tikus dipapar UV-B dengan perlakuan kombinasi HA 2,4% b.v dan *exosome hypoksia* MSCs 200 μ L secara subkutan.

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel Penelitian

4.2.1.1. Variabel bebas

Kombinasi EH-MSCs dan HA.

4.2.1.2. Variabel Terikat

Kadar MDA dan Ekspresi gen IL-10

4.2.2. Definisi Operasional

4.2.2.1. Exosome hipoksia MSCs (EH-MSCs)

Exosome hipoksia MSCs yang diproduksi oleh PT, SCCR Indonesia merupakan vesikel ekstraseluler berukuran 30 hingga 150 nanometer yang dilepaskan ke dalam medium kultur oleh sel MSCs. Exosome ini mengekspresikan protein permukaan antara lain CD9, CD63, dan CD81. Proses isolasi exosome ini dilakukan menggunakan metode *tangential flow filtration*. Exosome hipoksia MSCs diinjeksikan secara subkutan di daerah dorsal yang terpapar UVB sebanyak 200 μ L untuk masing-masing kelompok perlakuan diinjeksikan pada hari ke 15.

Satuan: μ L

Skala: Ordinal

4.2.2.2. *Hyaluronic acid* (HA)

HA merupakan senyawa asam hialuronat yang di formulasikan dalam bentuk hydrogel. HA pada penelitian

ini dengan menggunakan produk STARIS (Haju Medical, Korea) diberikan dengan dosis 2,4% (mg/mL) secara injeksi subkutan pada kulit mencit sebanyak 200 μ L di daerah dorsal yang terpapar sinar UVB untuk masing-masing kelompok perlakuan diinjeksikan pada hari ke 15.

Satuan: μ L

Skala: Ordinal

4.2.2.3. Kadar MDA

MDA adalah produk sampingan dari oksidasi lipid yang dapat digunakan sebagai indikator stres oksidatif.

Kadar MDA dianalisa dari sampel jaringan kulit yang di isolasi pada hari ke-20 perlakuan. Kadar MDA dalam jaringan kulit tikus yang dinyatakan dalam satuan ng/mL, diukur menggunakan metode ELISA di Laboratorium SCCR Indonesia.

Skala: Rasio

4.2.2.4. Ekspresi gen IL-10

IL-10 adalah sitokin antiinflamasi yang memiliki peran dalam proses mencegah degradasi kolagen akibat paparan UVB. Ekspresi gen IL-10 dianalisa dari sampel jaringan kulit yang di isolasi pada hari ke-20 perlakuan. Banyaknya IL-10 dalam jaringan kulit tikus yang dinyatakan dalam satuan rasio relatif ekspresi, diukur

menggunakan metode qRT-PCR yang dibandingkan dengan housekeeping gen GAPDH sebagai kontrol internal di Laboratorium SCCR Indonesia.

Skala : Rasio

4.3. Populasi dan Sampel Penelitian

4.3.1. Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan Galur Wistar yang diperoleh dari SCCR Indonesia.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tikus putih jantan Galur Wistar.
2. Umur 2-3 bulan.
3. Kondisi sehat.
4. Berat badan 200-250 g.

4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

Tikus putih jantan Galur Wistar dengan kriteria :

1. Sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya
2. Tidak mengalami *collagen loss*

4.3.2.3. Kriteria *Drop Out*

Tikus mati atau infeksi selama penelitian.

4.3.3. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *Randomized Sampling*.

4.3.4. Besar Sampel

Besar sampel dilakukan dengan rumus sampel eksperimental dari Federer yaitu $(t-1)(n-1) \geq 15$ sehingga didapat hasil 15. Keterangan untuk nilai t adalah banyaknya perlakuan dan n adalah banyaknya sampel setiap perlakuan.

$$\text{Rumus Federer} : (t-1)(n-1) \geq 15$$

$$\text{Sampel tiap Kelompok} : (5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan:

t= banyaknya perlakuan

n= banyak sampel setiap perlakuan

Perhitungan dengan menggunakan rumus federer didapatkan jumlah tikus 5 ekor perkelompok. Jumlah sampel yang digunakan peneliti yaitu minimal 5 ekor tikus perkelompok dan di tambahkan 1 hewan uji perkelompok sebagai cadangan, jadi jumlah seluruh tikus adalah 30 ekor.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1. Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain berupa UV *light* (broadband

dengan *peak emission* pada 302 nm) dengan energi 160 mJ/cm², pisau cukur, kandang paparan, kandang pemeliharaan, tempat air minum tikus dan pemotong rambut. Alat yang digunakan untuk pengumpulan data adalah tabung hematokrit, pot 5 mL, 6 mm *biopsy punch*, sentrifus, mikropipet, 1000 uL mikropipet tip, dan *vial tube* 1,5 mL. Alat yang digunakan untuk analisis data antara lain *microplate reader*, mikroskop, *staining jar*, *coated desk glass*, *cover glass*, dan laptop.

4.4.2. Bahan

Penelitian ini menggunakan beberapa bahan yang terdiri *gel base* untuk pembuatan gel, untuk anestesi terdiri dari ketamin dan *xylazine*. Bahan untuk proses isolasi RNA terdiri dari etanol, akuades, kloroform, 2-propanol, dan RNase free water. Bahan untuk menganalisis variabel penelitian yaitu elisa kit MDA, primer IL-10, dan primer GAPDH.

4.5. Cara Penelitian

4.5.1. Perolehan *Ethical Clearance*

Ethical clearance penelitian diajukan ke Unit Komisi Bioetik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.5.2. Pemberian EH-MSCs

EH-MSCs diambil menggunakan mikropipet atau spuit yang telah disterilkan sebanyak 200 µL, kemudian disuntikkan secara

subkutan ke area dorsal tikus yang sebelumnya telah dibersihkan menggunakan antiseptik. Proses injeksi dilakukan secara perlahan dengan jarum halus (ukuran 26–30G) pada sudut 30–45° agar cairan EH-MSCs terdistribusi secara merata di jaringan subkutan.

4.5.3. Pemberian HA

HA diambil menggunakan mikropipet atau spuit yang telah disterilkan sebanyak 200 μ L, kemudian disuntikkan secara subkutan ke area dorsal tikus yang sebelumnya telah dibersihkan menggunakan antiseptik. Proses injeksi dilakukan secara perlahan dengan jarum halus (ukuran 26–30G) pada sudut 30–45° agar cairan HA terdistribusi secara merata di jaringan subkutan.

4.5.4. Paparan UV-B dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan

1. Tikus yang sudah diadaptasi selama 1 minggu dibius dengan campuran ketamine (60 mg/kg BB) dan xylazine (20mg/kg BB).
2. Rambut pada bagian punggung tikus dicukur hingga bersih.
3. Punggung tikus dipapar dengan UV *light* (*broadband* dengan *peak emission* 302 nm) dengan *minimal erythema dose* (MED) 160 mJ/cm² yang dipapar sekitar 8 menit/hari dengan jarak 20 cm selama 5 kali seminggu (hari 1, 2, 4, 5, dan 7) selama 2 minggu⁸⁸.

4. Tikus kelompok 2 diberi perlakuan secara subkutan menggunakan NaCl yang diberikan satu kali pada hari 15 . Tikus kelompok 3 diberi perlakuan secara subkutan menggunakan HA yang diberikan satu kali pada hari 15. Tikus kelompok 4 diberi perlakuan secara subkutan menggunakan EH-MSCs yang diberikan satu kali pada hari 15. Tikus kelompok 5 diberi perlakuan secara subkutan menggunakan kombinasi EH-MSCs dan HA yang diberikan satu kali pada hari 15.

4.5.5. Pengambilan Sampel Jaringan

Sebanyak 2x2 cm sampel jaringan kulit dorsal subjek penelitian diambil pada hari ke-20 dengan pembiusan menggunakan scalper. Sampel jaringan dimasukkan ke dalam tube berisi *RNA lyster* dan disimpan pada suhu -80°C hingga proses analisis dilakukan.

4.5.6. Pembuatan Blok Parafin untuk pewarnaan *Masson Trichome*

1. Dehidrasi

Potongan jaringan dimasukkan dalam alkohol bertingkat dari 30%, 40%, 60%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96% (bertingkat) untuk mengeluarkan cairan dari dalam jaringan. Masukkan jaringan ke dalam larutan alkohol-xylol selama 1 jam kemudian masukan jaringan pada larutan xylol murni selama 2 x 2 jam.

2. Parafinisasi dan *Embedding*

Masukan jaringan dalam parafin cair selama 2 x 2 jam. Tunggu hingga parafin memadat, potong jaringan dalam parafin setebal 4 mikron dengan mikrotom. Hasil dari potongan jaringan ditempelkan pada object glass yang sebelumnya telah diolesi polilisin sebagai perekat. Masukan jaringan pada kaca obyek deparafinasi dalam inkubator dan dipanaskan dengan suhu 56-58°C hingga parafin mencair.

4.5.7. Validasi Berkurangnya Kolagen Akibat UV-B Menggunakan Pengecatan Kolagen

Pengecatan kolagen dilakukan dengan menggunakan metode pengecatan Masson Trichome dengan tahapan sebagai berikut :

1. Slide jaringan dideparafinisasi.
2. Cairan Bouin dipanaskan pada suhu 54-64°C.
3. Slide diinkubasi dalam Cairan Bouin yang dipanaskan selama 60 menit dan dinginkan selama 10 menit, kemudian dibilas dengan air mengalir.
4. Slide diinkubasi dalam Hematoxylin Besi Weigert selama 5 menit, kemudian bilas dengan air.
5. Slide diinkubasi dalam larutan *Biebrich Scarlet/Acid Fuchsin* selama 15 menit, kemudian dibilas dengan air.
6. Slide diinkubasi dalam larutan asam fosfomolibdat/fosfotungstat selama 10-15 menit.

7. Slide diinkubasi dalam larutan *Aniline Blue* selama 5-10 menit, kemudian dibilas dengan air.
8. Slide diinkubasi dalam larutan asam asetat selama 3-5 menit.
9. Slide dilakukan proses dehidrasi, kemudian pasang *desk glass*.

4.5.8. Analisis Kuantitatif Kadar MDA dengan ELISA

Jaringan kulit tikus diambil sesuai dengan protokol penelitian dan segera dibersihkan menggunakan larutan PBS dingin untuk menghilangkan sisa darah dan kotoran. Selanjutnya, jaringan kulit tersebut dihancurkan dengan cara dihomogenisasi menggunakan buffer lisis yang sesuai dengan panduan kit ELISA MDA. Homogenat kemudian disentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan debris seluler. Supernatan hasil sentrifugasi digunakan sebagai sampel untuk analisis kadar MDA dengan metode ELISA menggunakan kit ELISA spesifik terhadap MDA, mengikuti prosedur yang ditetapkan oleh produsen. Proses *assay* meliputi penambahan standar dan sampel ke dalam *well microplate* yang telah dilapisi antibodi spesifik untuk MDA, inkubasi, pencucian, serta penambahan substrat untuk mengembangkan reaksi warna. Hasil reaksi diamati menggunakan pembaca *microplate* pada panjang gelombang 450 nm, kemudian konsentrasi MDA ditentukan berdasarkan kurva standar yang diperoleh. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik untuk menguji perbedaan kadar MDA antar kelompok perlakuan.

4.5.9. Analisis Kuantitatif Ekspresi Gen IL-10 dengan qRT-PCR

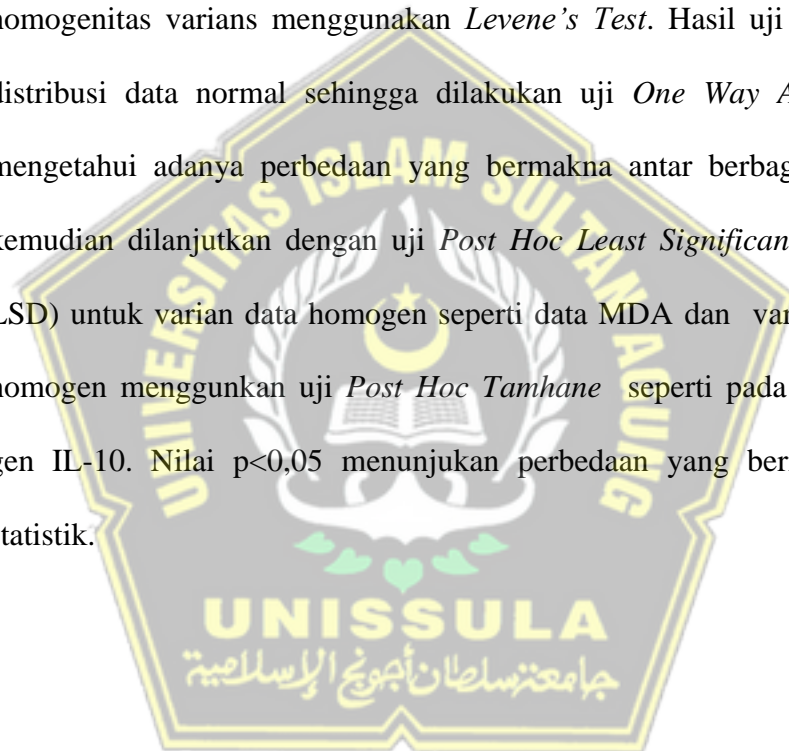
Analisis ekspresi gen dilakukan dengan metode quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Jaringan kulit yang telah disimpan dalam RNA later dihomogenisasi menggunakan homogenizer jaringan dan diekstraksi RNA totalnya menggunakan RNeasy Mini Kit (Qiagen) sesuai protokol pabrikan. Kemurnian dan konsentrasi RNA diukur menggunakan spektrofotometer NanoDrop pada panjang gelombang 260/280 nm. RNA total kemudian dikonversi menjadi cDNA menggunakan RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific). Amplifikasi qRT-PCR dilakukan menggunakan SYBR Green PCR Master Mix dalam sistem PCR real-time (Applied Biosystems StepOnePlus™) dengan primer spesifik untuk gen IL-10 dan MDA, serta gen housekeeping GAPDH sebagai kontrol internal. Kondisi siklus PCR terdiri dari pre-denaturasi pada 95°C selama 10 menit, diikuti oleh 40 siklus denaturasi 95°C selama 15 detik, annealing 60°C selama 30 detik, dan ekstensi 72°C selama 30 detik. Data dianalisis menggunakan metode $\Delta\Delta C_t$, dan hasil diekspresikan dalam bentuk fold change terhadap kelompok kontrol sehat.

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

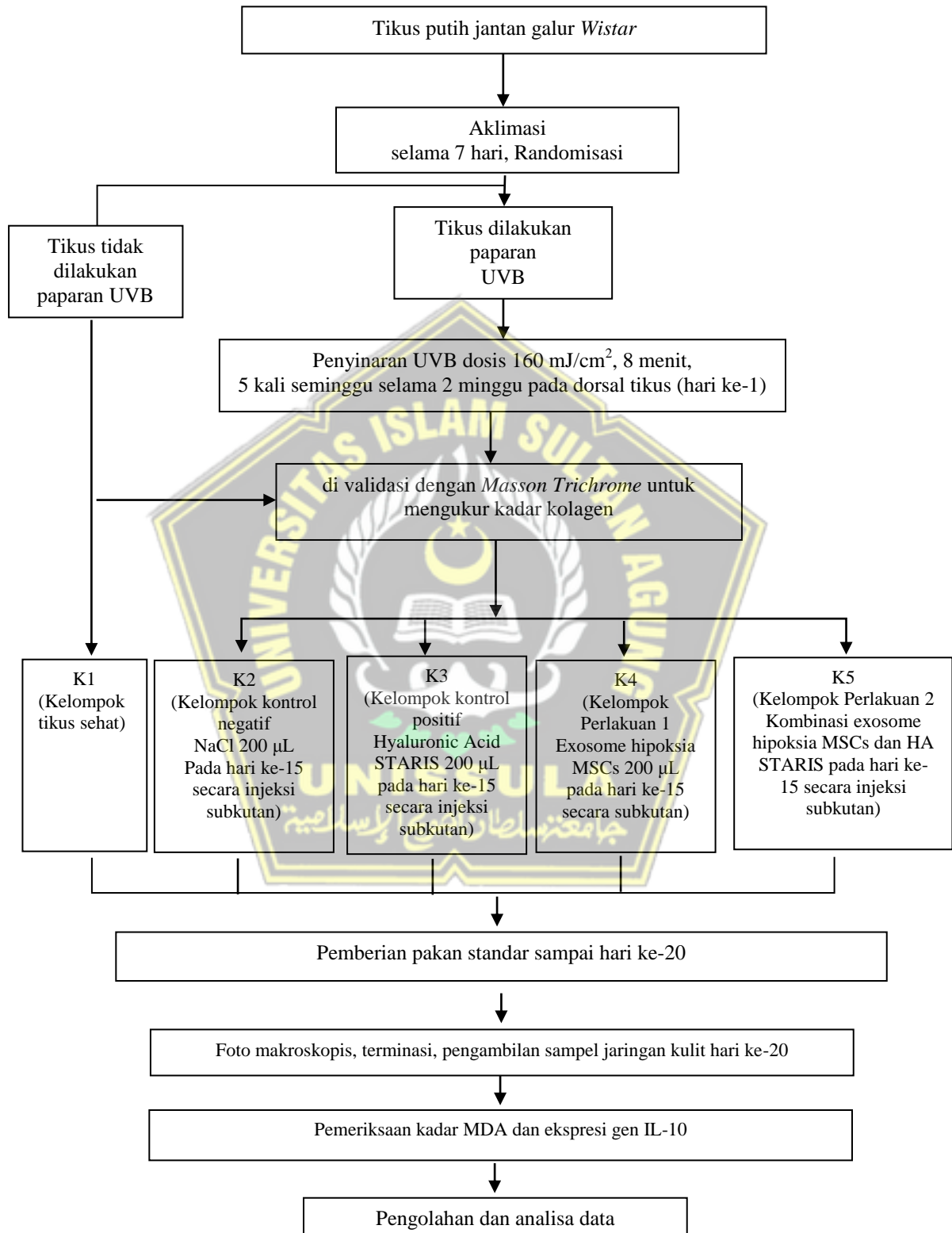
Penelitian dilakukan di *Laboratorium Stem Cell and Cancer Research*, Semarang, Jawa Tengah. Penelitian rencana akan dilakukan pada Oktober 2025- Januari 2026.

4.7. Analisa Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan perangkat lunak SPSS versi 29.0 for Windows. Data kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 dianalisa secara deskriptif untuk menampilkan rerata dan *standart deviasi (SD)*. Analisa statistik inferensial didahului dengan uji normalitas distribusi data menggunakan *Shapiro-Wilk* dan homogenitas varians menggunakan *Levene's Test*. Hasil uji menunjukkan distribusi data normal sehingga dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar berbagai kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Difference (LSD)* untuk varian data homogen seperti data MDA dan varian data tidak homogen menggunakan uji *Post Hoc Tamhane* seperti pada data ekspresi gen IL-10. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik.



4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi efek pemberian *exosome hipoksia MSCs* (EH-*MSCs*) dan kombinasinya dengan *hyaluronic acid* (HA) terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada kulit tikus Wistar yang terpapar UVB. Selama periode penelitian yang berlangsung di Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research*, Semarang, Jawa Tengah, pada Oktober 2025 hingga Januari 2026, seluruh hewan uji dalam kondisi sehat tanpa mortalitas maupun *drop out* hingga akhir percobaan. Semua tikus mampu beradaptasi dengan baik selama fase aklimatisasi maupun selama perlakuan. Tidak terdapat perubahan perilaku yang mengindikasikan stress maupun penurunan kondisi fisiologis pada setiap kelompok perlakuan.

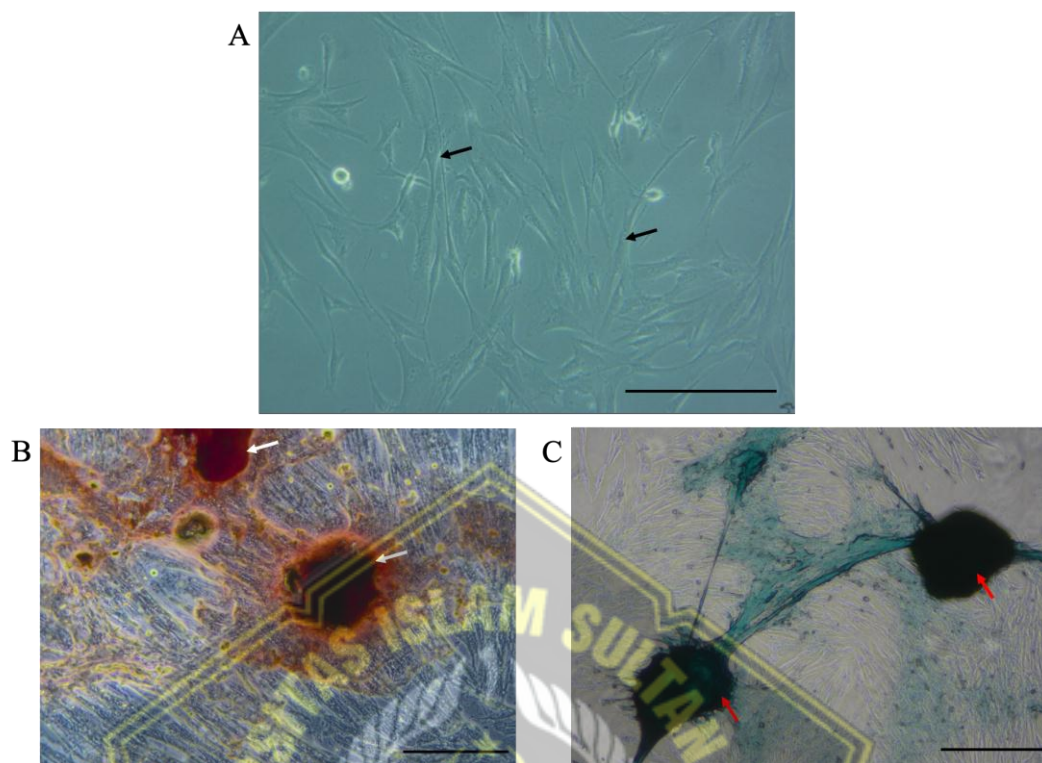
5.1. Isolasi, Kultur, dan Validasi MSCs

Keberhasilan isolasi dan kultur MSCs asal *umbilical cord* tikus bunting usia 21 hari dievaluasi sesuai kriteria *International Society for Cellular Therapy* (ISCT) yaitu mencakup kemampuan adhesi pada permukaan kultur flask, kemampuan morfologi khas, serta potensi diferensiasi *multilineage*. Pengamatan mikroskopis pada passage 4 kultur MSCs menunjukkan morfologi sela dengan adhesi kuat pada dasar kultur flask. Populasi sel menampilkan morfologi homogen berbentuk spindel memanjang (*fibroblast-like*), dengan rasio nukleus-sitoplasma yang jelas (Gambar 5.1 A). Morfologi sel menunjukkan susunan sel yang rapat

membentuk koloni yang menandakan proliferasi optimal dalam kondisi kultur.

Potensi multipoten MSCs divalidasi melalui induksi diferensiasi osteogenik dan kondrogenik. Pada diferensiasi osteogenik, sel MSCs selama 21 hari diinduksi dalam medium khusus osteogenik, lalu dilakukan pewarnaan Alizarin Red yang dapat mendeteksi deposisi nodul kalsium berwarna merah bata secara kuat (Gambar 5.1 B). Hal ini mengonfirmasi diferensiasi ke lini osteoblas dengan mineralisasi matriks ekstraseluler.

Pada diferensiasi kondrogenik yang divalidasi dengan pewarnaan *Alcian Blue pasca* menunjukkan adanya agregat seluler dengan matriks ekstraseluler positif berwarna biru (Gambar 5.1 C). Pewarnaan ini menunjukkan akumulasi glikosaminoglikan (GAGs) dan proteoglikan asam, komponen utama matriks kartilago, sehingga membuktikan kapasitas kondrogenik MSCs. Secara keseluruhan karakteristik morfologi beserta kemampuan diferensiasi osteogenik-kondrogenik dapat memvalidasi identitas MSCs yang valid, siap untuk aplikasi untuk pengujian selanjutnya.



Gambar 5.1. Karakterisasi Morfologi dan Potensi Diferensiasi MSCs yang berasal dari *umbilical cord* tikus.

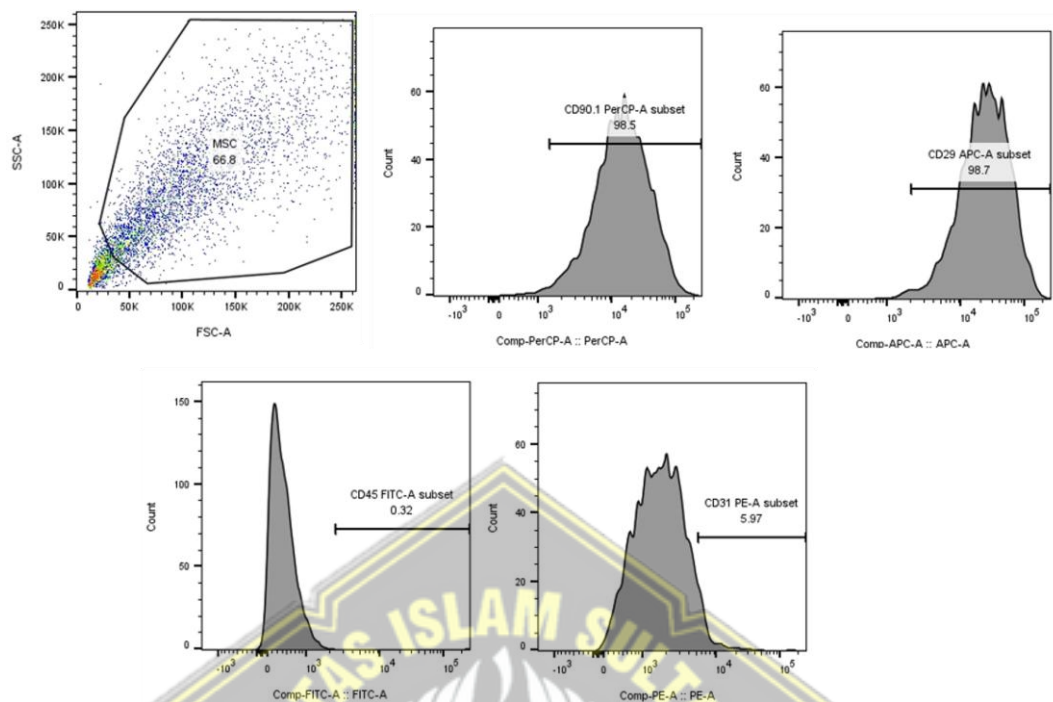
(A) Gambaran morfologi sel pada kultur passage 4. Sel menunjukkan karakteristik *plastic-adherent* dengan bentuk *fibroblast-like* yang homogen, di tunjukan tanda panah hitam. (B) Hasil uji diferensiasi osteogenik menggunakan pewarnaan Alizarin Red S. Tampak adanya deposit mineral kalsium berwarna merah yang ditunjukan dengan tanda panah putih, mengindikasikan pembentukan matriks tulang. (C) Hasil uji diferensiasi kondrogenik menggunakan pewarnaan Alcian Blue. Tampak akumulasi proteoglikan berwarna biru yang ditunjukan tanda panah merah mengonfirmasi pembentukan matriks kartilago. Perbesaran 100x.

5.2. Analisis Fenotip MSCs Menggunakan Flow Cytometry

Validasi identitas sel punca mesenkimal secara molekuler dan memastikan kemurnian populasi sel dari kontaminasi sel lain, pada penelitian ini juga dilakukan analisis *imunofenotip* menggunakan *Flow Cytometry* terhadap marker permukaan MSCs yang spesifik. Berdasarkan kriteria ISCT, MSCs harus mengekspresikan marker permukaan mesenkimal dan tidak mengekspresikan marker hematopoietik atau

endotelial. Hasil analisis kuantitatif (Gambar 5.2) menunjukkan bahwa sebagian besar populasi sel yang dikultur mengekspresikan marker positif MSCs dengan persentase yang tinggi. Ekspresi CD90.1 (Thy-1) terdeteksi sebesar 98.5% dan CD29 (Integrin beta-1) sebesar 98.7%. Tingginya persentase kedua marker ini yang >95% menunjukkan bahwa sel-sel tersebut memiliki karakteristik adhesi dan signaling yang khas dari sel punca mesenkimal.

Marker pan-leukosit CD45 hanya terdeteksi sebesar 0.32%, yang membuktikan bahwa kultur sel bebas dari kontaminasi sel-sel hematopoietik. Selain itu, marker endotelial CD31 (PECAM-1) menunjukkan ekspresi rendah sebesar 5.97%. Rendahnya kedua marker ini <10% menunjukkan bahwa sel-sel tersebut bukan sel imun dan sel endothelial yang dapat menginduksi respon penolakan saat terapi. Secara keseluruhan, profil imunofenotip ini yakni CD90.1, CD29, CD45, CD31 memperkuat hasil uji morfologi dan diferensiasi sebelumnya serta mengkonfirmasi bahwa populasi sel yang diisolasi adalah sel MSCs dan memenuhi standar validasi untuk digunakan dalam eksperimen selanjutnya.



Gambar 5.2. Profil Imunofenotip MSCs Menggunakan Analisis *Flow Cytometry*.

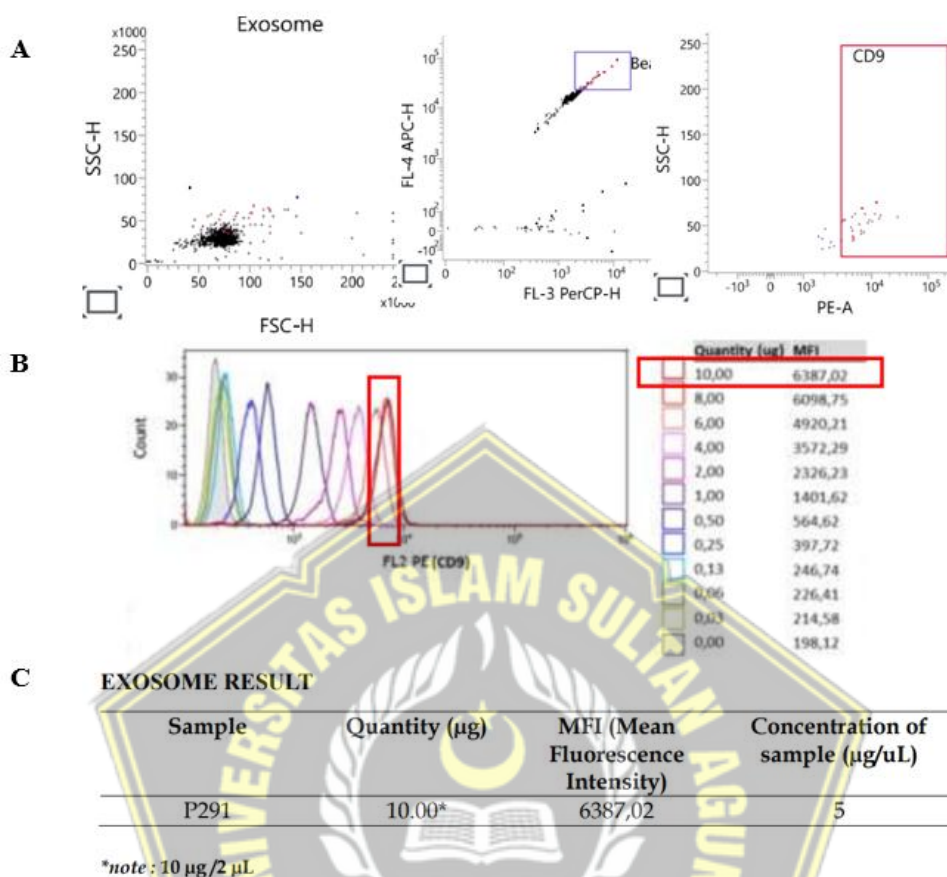
Analisis ekspresi marker permukaan sel menunjukkan populasi sel yang positif terhadap marker spesifik MSC, yaitu CD90.1 dan CD29. Sel juga menunjukkan ekspresi yang sangat rendah atau negatif terhadap marker hematopoietik CD45 dan marker endotelial CD31.

5.3. Validasi Exosome MSCs

Karakterisasi eksosom yang diisolasi dari media hipoksia MSCs dilakukan menggunakan metode *bead-assisted flow cytometry*. Metode ini bertujuan untuk memvalidasi keberadaan marker spesifik eksosom serta mengukur konsentrasi eksosom berdasarkan intensitas fluoresensi. Pada pengujian ini, eksosom ditangkap menggunakan *beads* yang dilapisi antibodi anti-CD63 (Gambar 5.3 A) dan selanjutnya dilakukan deteksi menggunakan antibodi anti-CD9 yang terkonjugasi fluorokrom phycoerythrin (PE) (Gambar 5.3. B). Hasil analisis *flow cytometry* menunjukkan bahwa populasi *beads* yang bergeser memberikan sinyal

positif pada chanel PE. Hal ini menunjukkan bahwa partikel yang terisolasi adalah eksosom yang mengekspresikan marker CD63 dan CD9 secara simultan. Keberadaan kedua protein CD63 dan CD9 ini merupakan indikator validitas utama yang menandakan identitas eksosom menurut standar *International Society for Extracellular Vesicles* (ISEV). Kuantifikasi konsentrasi eksosom pada penelitian ini juga dilakukan dengan mengonversi nilai *Mean Fluorescence Intensity* (MFI) sampel ke dalam kurva standar yang telah dibuat (Gambar 5.3 C). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa sampel memiliki nilai MFI yang tinggi yaitu sebesar 6387,026. Nilai MFI ini berkorelasi dengan kuantitas total protein eksosom sebesar 10,00 μg dalam volume uji 2 μL . Oleh karena itu, konsentrasi akhir eksosom yang diperoleh dari sampel pada penelitian ini adalah sebesar 5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$. Tingginya nilai MFI dan konsentrasi yang diperoleh menunjukkan bahwa metode isolasi yang digunakan efisien dalam memurnikan eksosom.





Gambar 5.3. Validasi dan Kuantifikasi *Exosome* MSCs Menggunakan *Flow Cytometry*.

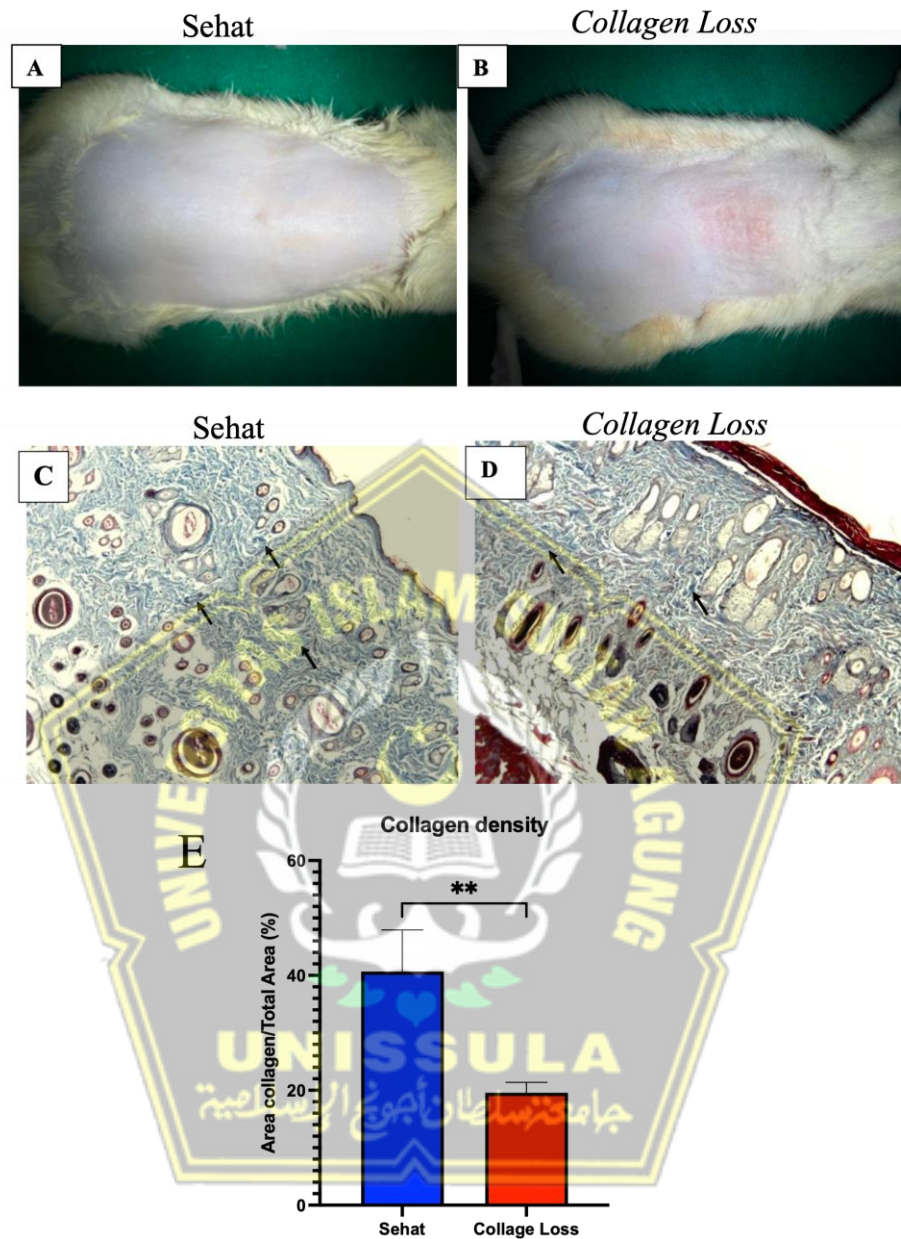
(A) Analisis scatter plot menunjukkan populasi beads anti-CD63 dan analisis histogram intensitas fluoresensi ekspresi marker permukaan CD9 pada *exosome* yang tertangkap oleh beads. (B) Kurva standar (*Dynamic Range*) yang menunjukkan korelasi linear antara kuantitas protein eksosom dengan Mean *Fluorescence Intensity* (MFI). (C) Tabel hasil kuantifikasi *exosome* yang menunjukkan nilai MFI 6387,02 yang setara dengan konsentrasi 5 µg/µL.

5.4. Validasi Hewan Model *Collagen Loss*

Keberhasilan pembuatan model hewan *collagen loss* divalidasi melalui pengamatan makroskopis dan analisis histologis densitas kolagen. Secara makroskopis, kulit punggung tikus pada kelompok model menunjukkan perubahan patologis yang jelas dibandingkan kelompok

kontrol sehat. Pada kelompok sehat (Gambar 5.4 A) memperlihatkan permukaan kulit yang halus dengan warna merah muda pucat normal. Pada kulit yang diinduksi UVB mengalami kerusakan yang ditandai dengan eritema (kemerahan) serta perubahan tekstur menjadi lebih kasar, kering, dan keriput yang mengindikasikan terjadinya reaksi inflamasi dan kerusakan barier kulit akibat paparan UVB (Gambar 5.4B).

Validasi lebih lanjut dilakukan melalui analisis histopatologi menggunakan pewarnaan *Masson's Trichrome* untuk memvisualisasikan jumlah kolagen di lapisan dermis. Pada kelompok sehat (Gambar 5.4 C), serat kolagen terwarnai biru pekat dengan struktur yang tebal, padat, dan tersusun rapi. Sebaliknya, pada kelompok *collagen loss* (Gambar 5.4 D), terjadi degradasi matriks ekstraseluler yang masif. Serat kolagen tampak terfragmentasi, menipis, dan tersusun secara tidak teratur dengan ruang antar serat yang lebih lebar. Hasil pengamatan kualitatif ini didukung oleh analisis kuantitatif (Gambar 5.4 E). Perhitungan persentase area kolagen menunjukkan penurunan yang signifikan secara statistik ($p < 0.05$). Densitas kolagen pada kelompok sehat sebesar 40,68%, sementara pada kelompok model turun drastis menjadi 19,56%. Penurunan densitas kolagen hingga setengah dari kondisi normal ini membuktikan bahwa induksi yang dilakukan telah berhasil menyebabkan degradasi kolagen yang signifikan, sehingga hewan coba valid untuk digunakan sebagai model uji *collagen loss*.



Gambar 5.4. Validasi Model Hewan *Collagen Loss* Secara Makroskopis dan Histologis.

(A) Perbandingan gambaran makroskopis kulit punggung tikus. Kelompok Sehat dan (B) kelompok *collagen loss*. (C) Gambaran histologi jaringan kulit menggunakan pewarnaan *Masson's Trichrome* pada kelompok sehat dan (D) *collagen loss*. Area berwarna biru merepresentasikan serat kolagen. (E) Analisis kuantitatif densitas kolagen (Area collagen/Total Area). Data disajikan sebagai Rerata \pm SD. Tanda bintang (**) menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan uji T-test dibandingkan dengan kelompok sehat.

5.5. Analisis Kadar MDA Setelah Pemberian Kombinasi EH-MSCs dan HA pada Model *Collagen Loss*

Tingkat stres oksidatif sistemik dan peroksidasi lipid yang terjadi setelah induksi kerusakan dan pemberian perlakuan dianalisis dengan pengukuran kadar *Malondialdehyde* (MDA) pada hari ke-20 atau hari ke-5 setelah pemberian perlakuan. MDA merupakan biomarker akhir dari kerusakan oksidatif pada membran sel yang dipicu oleh akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Tabel 5.1. Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Kadar MDA

Kelompok	Rerata±SD	p value		One Way ANOVA
		Shapiro Wilk	Levene test	
K1	24,45 ±5,70	0,249*	0,362**	<0,001***
K2	46,20 ± 8,27	0,536*		
K3	40,23 ± 11,62	0,364*		
K4	29,90 ± 4,75	0,893*		
K5	24,32 ± 4, 55	0,795*		

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

Berdasarkan tabel 5.1 menunjukkan bahwa rerata kadar MDA terendah ditemukan pada kelompok K5 (kombinasi HA dan EH-MSCs), yaitu sebesar 24,32±4,55 ng/mL. Nilai ini mendekati dan hampir setara dengan kelompok K1 (tikus sehat tanpa paparan UVB) yang memiliki rerata sebesar 24,45±5,70 ng/mL. Rerata terendah berikutnya diikuti oleh kelompok K4 (*Exosome*) sebesar 29,90±4,75 ng/mL, dan kelompok K3 (*Hyaluronic Acid*) sebesar 40,23±11,62 ng/mL. Sebaliknya, rerata kadar MDA tertinggi terlihat pada kelompok K2 (kontrol negatif/UVB) sebesar 46,20±8,27 ng/mL. Hal ini menunjukkan kadar MDA yang lebih tinggi akibat

paparan UVB pada kelompok K2 dengan perlakuan NaCl dapat menyebabkan *collagen loss*. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas pada variabel kadar MDA, uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan seluruh data berdistribusi normal ($p>0,05$) dan uji *Levene* menunjukkan varian data yang homogen ($p=0,362$; $p>0,05$). Distribusi data normalitas dan homogenitas yang terpenuhi, maka analisis dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA*. Hasil uji menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat signifikan antar kelompok dengan nilai $p<0,005$.

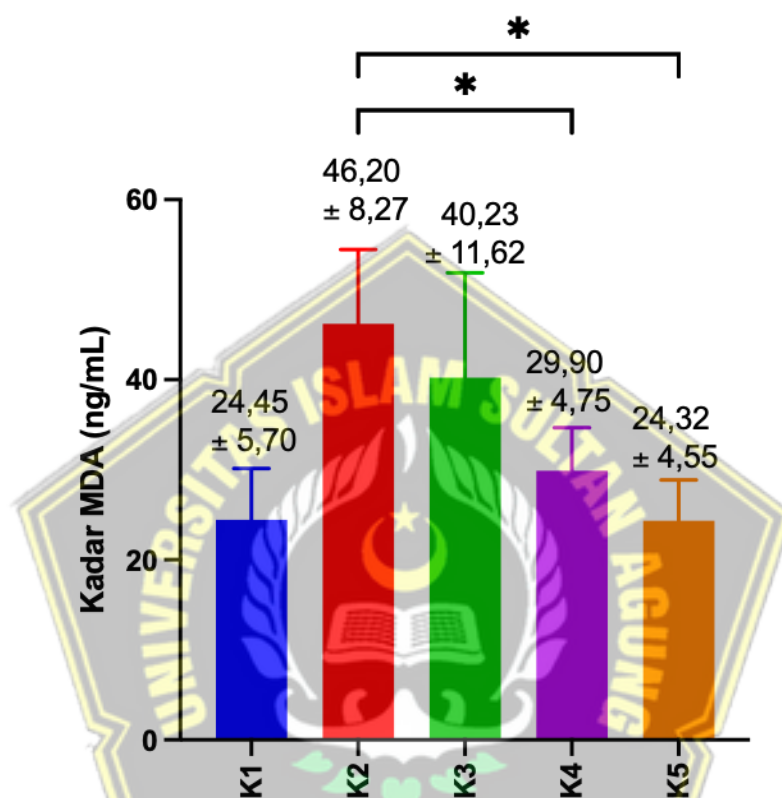
Tabel 5.2. Perbedaan Kadar MDA antar kelompok perlakuan

	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0,001*	0,001*	0,218	0,978
K2	0,001*		0,179	0,001*	0,001*
K3	0,001*	0,179		0,025*	0,001*
K4	0,218	0,001*	0,025*		0,208
K5	0,978	0,001*	0,001*	0,208	

*Uji *Post Hoc LSD* dengan nilai signifikan $p<0,05$

Hasil uji *post hoc* LSD kadar MDA pada tabel tersebut menunjukkan bahwa kadar MDA pada kelompok tikus sehat K1 terdapat perbedaan signifikan terhadap kelompok K2 yang diberi NaCl, serta berbeda signifikan dengan kelompok K3 yang diberi *Hyaluronic Acid*, dengan nilai $p=0,001$. Sebaliknya, kelompok tikus sehat K1 tidak berbeda signifikan dengan kelompok K4 yang diberi *exosome* MSCs ($p=0,218$) dan kelompok K5 kombinasi HA dan EH-MSCs ($p=0,978$). Hal ini mengindikasikan bahwa kadar MDA pada kedua kelompok K4 dan K5 tersebut telah turun hingga setara dengan kondisi normal kelompok K1. Analisis pada kelompok K2 menunjukkan perbedaan signifikan terhadap K4 dan K5 ($p=0,001$), namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok K3 ($p=0,178$). Selanjutnya,

kelompok K3 berbeda secara signifikan dengan kelompok K4 ($p=0,025$) dan K5 ($p=0,001$). Sedangkan perbandingan antara kelompok K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,208$)



Gambar 5.5. Pengaruh Pemberian Perlakuan *Exosome Hypoxia MSCs* dan *Hyaluronic Acid* (HA) Terhadap Kadar MDA pada Hari ke-20. Data disajikan sebagai Rerata \pm SD ($n = 6$). Tanda bintang (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0.05$) antar kelompok yang ditandai.

5.6. Analisis Ekspresi Gen IL-10 Setelah Pemberian Kombinasi EH-MSCs dan HA pada Model *Collagen Loss*

Evaluasi respons terhadap anti-inflamasi pasca-perlakuan dianalisis melalui pengukuran ekspresi gen *Interleukin-10* (IL-10). IL-10 merupakan

sitokin anti-inflamasi yang berperan krusial dalam menekan reaksi peradangan berlebih dan memfasilitasi proses regenerasi jaringan.

Tabel 5.3. Hasil Analisis Rerata, Uji Normalitas, Uji Homogenitas pada Ekspresi Gen IL-10

Kelompok	Rerata±SD	p value		
		<i>Shapiro Wilk</i>	<i>Levene test</i>	<i>One Way ANOVA</i>
K1	0,19 ±0,11	0,086*	0,001	<0,001***
K2	0,03 ± 0,01	0,091*		
K3	0,24 ± 0,06	0,063*		
K4	0,51 ± 0,29	0,751*		
K5	0,73 ± 0,31	0,910*		

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

Berdasarkan Tabel 5.3, rerata ekspresi gen IL-10 tertinggi ditemukan pada kelompok K5 (kombinasi HA dan *Exosome*), yaitu sebesar $0,73\pm 0,31$. dibandingkan kelompok lainnya. Pada kelompok K4 (*Exosome* MSCs) memiliki ekspresi gen IL-10 sebesar $0,51\pm 0,29$, dan kelompok K3 (*Hyaluronic Acid*) sebesar $0,24\pm 0,06$. Sebaliknya, rerata ekspresi IL-10 terendah terlihat pada kelompok K2 (kontrol negatif/UVB) dengan nilai $0,03\pm 0,01$, ekspresi gen IL-10 pada kelompok K2 lebih rendah dibandingkan kelompok Sehat K1 ($0,19\pm 0,11$). Rendahnya IL-10 pada kelompok K2 mengindikasikan bahwa paparan UVB menyebabkan *collagen loss* alami tubuh. Berdasarkan uji normalitas dan homogenitas, uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan seluruh data berdistribusi normal ($p>0,05$). Namun, uji *Levene* menunjukkan varian data tidak homogen ($p=0,001$). Meskipun homogenitas data tidak terpenuhi, analisis komparatif tetap dilanjutkan

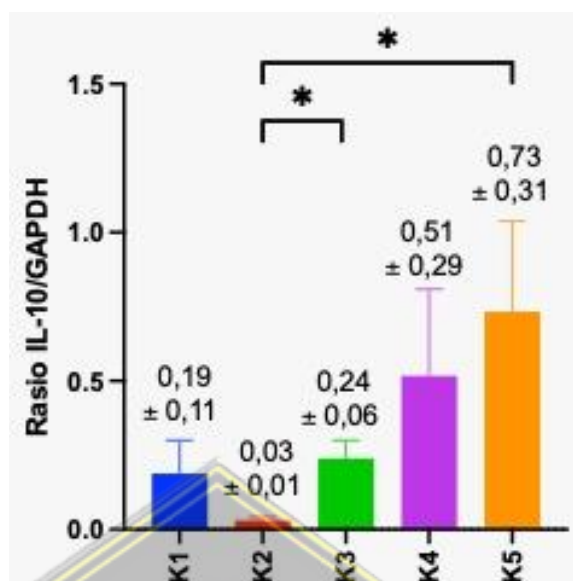
menggunakan uji *One Way ANOVA* yang menunjukkan perbedaan signifikan pada semua kelompok dengan nilai $p < 0,005$.

Tabel 5.4. Perbedaan Ekspresi Gen IL-10 antara kelompok penelitian

	K1	K2	K3	K4	K5
K1		0,167	0,989	0,328	0,055
K2	0,167		0,003*	0,089	0,024*
K3	0,989	0,003*		0,495	0,095
K4	0,328	0,089	0,495		0,934
K5	0,055	0,024*	0,095	0,934	

*Uji *Post hoc Tamhane* dengan nilai signifikan $p < 0,05$

Hasil uji *post hoc Tamhane* pada Tabel 5.4 menunjukkan perbedaan ekspresi gen IL-10 pada semua kelompok. Pada kelompok K2 ekspresi IL-10 setelah pemberian NaCl lebih rendah, tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan ($p=0,167$) secara statistik terhadap kelompok K1. Perbedaan yang signifikan terjadi pada kelompok K3 ($p=0,003$) dan K5 ($p=0,0024$) terhadap K2. Menariknya pada kelompok K4 memiliki nilai ekspresi gen IL-10 lebih tinggi terhadap K2, tetapi secara statistik tidak signifikan ($p=0,089$) (Gambar 5.6). Pada penelitian ini menunjukkan ekspresi gen IL-10 pada kelompok K3, K4 dan K5 lebih tinggi dibandingkan K1, meskipun secara data tidak signifikan. Pada K5 terjadi ekspresi gen IL-10 lebih tinggi dibandingkan rata-rata kenaikan IL-10 pada kelompok K3 dan K4.



Gambar 5.6. Pengaruh Pemberian perlakuan *Exosome* MSCs dan *Hyaluronic Acid* (HA) Terhadap Ekspresi Gen IL-10 pada Hari ke-20. Data disajikan sebagai Rerata \pm SD ($n = 6$). Tanda bintang (*) menunjukkan perbedaan yang signifikan secara statistik ($p < 0.05$) antar kelompok yang ditandai.

5.7. Pembahasan

Penelitian ini menganalisis pengaruh terapi kombinasi *Hyaluronic Acid* (HA) dan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) pada model *collagen loss* akibat paparan UVB, dengan menganalisis kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada model tikus. Hasil validasi secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa paparan UVB intensitas 160 mJ/cm² selama 2 minggu yang berhasil menginduksi fenotipe *collagen loss* dengan terjadinya degradasi kolagen, disertai manifestasi klinis berupa eritema, kekasaran kulit, dan pembentukan kerutan. Hasil ini konsisten dengan penelitian Kwon *et al* (2019) yang melaporkan bahwa paparan UVB memicu akumulasi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang mengaktifasi jalur sinyal *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) dan faktor transkripsi

AP-1, sehingga menyebabkan peningkatan ekspresi *Matrix Metalloproteinases* (MMPs) yang dapat mendegradasi kolagen tipe I dan III pada matriks ekstraseluler dermis.^{94,95} Penelitian lain juga melaporkan bahwa aktivasi MMPs tidak hanya terbatas pada degradasi kolagen, namun juga mengganggu homeostasis matriks ekstraseluler melalui fragmentasi fibronektin dan proteoglikan, sehingga menyebabkan *microenvironment* yang tidak seimbang untuk sintesis kolagen de novo.^{68,69}

Pemberian HA secara injeksi subkutan pada model tikus *collagen loss* akibat UVB menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang *collagen loss* namun tidak berbeda secara signifikan. Hasil ini menunjukkan HA dapat mempertahankan hidrasi jaringan dan memperbaiki matriks ekstraseluler. HA juga berfungsi utama sebagai *scavenger* radikal bebas hidroksil dan anion superoksida, namun kapasitas tersebut terbatas sehingga jika stress oksidatif sangat tinggi kurang memiliki kapasitas antioksidan.⁸⁹ Pada paparan UVB kelompok K2 tanpa perlakuan menunjukkan kadar MDA tertinggi, kondisi tersebut dapat memecah rantai polimer HA menjadi fragmen berukuran kecil yang dapat menurunkan efektivitas HA dalam menekan ROS.⁹⁰ Hal tersebut menyebabkan pemberian tunggal HA tidak efektif menurunkan MDA dan hal ini menunjukkan bahwa perlakuan tunggal HA belum berhasil membuat kadar MDA setara dengan kelompok K1 sehingga secara statistik terdapat perbedaan yang signifikan.

Pada kelompok K4 pemberian *exosome* tunggal maupun kelompok K5 yang diberikan kombinasi terbukti mampu membuat kadar MDA lebih rendah dari pada kelompok K2 dan bahkan lebih rendah dibandingkan K3 (HA). Menariknya, kadar MDA pada kelompok K4 dan K5 (kombinasi EH-MSCs + HA) ini tidak berbeda signifikan dengan kelompok K1 (Sehat), yang mengindikasikan bahwa pemberian *exosome* tunggal maupun kombinasi *exosome hypoxia* MSCs dan *hyaluronic acid* mampu mengembalikan status oksidatif tubuh kembali ke level fisiologis normal hanya dalam waktu 5 hari. Pada penelitian ini terlihat kelompok K5 memiliki kadar MDA yang lebih rendah daripada kelompok K4, temuan ini menunjukkan adanya efek sinergis antara *hyaluronic acid* dan *exosome hypoxia* MSCs. Hasil ini relevan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa HA berperan dalam menurunkan peroksidasi lipid dan meningkatkan ekspresi sitokin antiinflamasi melalui aktivasi reseptor CD44 dan modulasi jalur NF- κ B.⁷⁸ Sementara *exosome* MSCs menghantarkan senyawa bioaktif seperti miRNA atau enzim antioksidan yang secara aktif menetralkan radikal bebas dan menghentikan rantai peroksidasi lipid.

Perlakuan EH-MSCs secara tunggal menunjukkan kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok *collagen loss*, namun efek tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan terapi HA tunggal. Pemberian eksosom tunggal yang menurunkan kadar MDA lebih rendah namun tidak signifikan ini, dapat disebabkan oleh konsentrasi eksosom yang terbatas atau waktu paruh biomolekul aktif dalam eksosom yang relatif singkat

sehingga efek terhadap MDA belum efektif. Hasil ini sesuai dengan temuan beberapa studi bahwa efektivitas eksosom MSCs sangat bergantung pada dosis, frekuensi pemberian, serta kondisi lingkungan jaringan target, terutama dalam konteks paparan oksidatif akibat UVB.^{10,96}

Pada penelitian ini, rasio ekspresi IL-10 pada pemberian HA dan eksosome baik tunggal maupun kombinasi lebih tinggi dibandingkan kelompok K2 yang diberi NaCl, hal ini menandakan adanya perbaikan pada pemberian perlakuan setelah dipapar UVB. Pada kelompok K2 ekspresi gen IL-10 lebih rendah dibandingkan kelompok K1, hal ini dapat terjadi karena paparan UVB mengaktifkan jalur proinflamasi NF- κ B yang menekan produksi IL-10 melalui penghambatan faktor transkripsi STAT3.^{91,92} Namun pada hari ke-20, terjadi respon regenerasi secara alami akibat sel Treg yang menginduksi produksi IL-10 secara endogen,⁹³ sehingga perbedaan antar kelompok tidak signifikan secara statistik.

Ekspresi IL-10 yang lebih tinggi pada kelompok K5 dibandingkan kelompok K3 dan K4 hingga melampaui ekspresi gen pada kelompok K1 menunjukkan bahwa adanya mekanisme sinergi HA-exosome, dimana HA meningkatkan *retention exosome* melalui CD44 signaling serta dapat melindungi dari degradasi lysosomal, hal ini menyebabkan mekanisme *dual upregulation* STAT3/PI3K dan *TLR4-dependent IL-10 production* pada makrofag M2.⁹⁴

Exosome MSCs yang digunakan pada penelitian telah divalidasi menggunakan *bead-assisted flow cytometry* yang mendeteksi ko-ekspresi

tetraspanin CD63 dan CD9. Ekspresi marker CD63 dan CD9 telah sesuai dengan kriteria yang ditetapkan oleh *Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles* (MISEV) 2023 yang menetapkan *tetraspanin* sebagai marker esensial untuk identifikasi *exosome*.⁹⁷ Pada penelitian ini *exosome* yang digunakan adalah berasal dari prekondisi hipoksia MSCs, penelitian sebelumnya melaporkan bahwa prekondisi hipoksia dapat meningkatkan potensi parakrin MSCs hingga 2-3 kali lipat dibandingkan kondisi normoksia melalui stabilisasi *Hypoxia-Inducible Factor-1alpha* (HIF-1 α).^{98,99} *Exosome* yang disekresikan MSCs dalam kondisi hipoksia memiliki *enrichment* signifikan terhadap miRNA spesifik seperti miR-21, miR-125b, dan miR-146a yang berperan dalam modulasi inflamasi dan promosi angiogenesis, serta peningkatan kandungan protein bioaktif seperti VEGF, bFGF, dan TGF- β yang esensial untuk regenerasi jaringan.¹⁰⁰⁻¹⁰²

Pada penelitian ini efektifitas dalam memperbaiki produksi kolagen pada model *collagen loss* terdapat pada terapi kombinasi EH-MSCs dan HA. Efektifitas ini disebabkan adanya EH-MSCs yang membawa senyawa biomolekul aktif sebagai antioksidan endogen termasuk enzim *Superoxide Dismutase* (SOD), *Catalase* (CAT), dan *Glutathione Peroxidase* (GPX) dapat secara langsung menetralkan ROS.^{96,103} Selain enzim antioksidan, *exosome* juga mengandung miRNA miR-210 yang dapat meregulasi ekspresi gen terkait respons hipoksia dan oksidatif melalui targeting *ROS-generating enzyme* seperti *NADPH oxidase*.¹⁰⁴ Di sisi lain, HA berinteraksi dengan reseptor CD44 pada permukaan sel dan mengaktifasi jalur sinyal

PI3K/Akt sehingga mengaktivasi *Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2* (Nrf2), suatu regulator antioksidan seluler yang dapat menginduksi transkripsi gen *cytoprotective* seperti *Heme Oxygenase-1* (HO-1), *NAD(P)H Quinone Dehydrogenase 1* (NQO1), dan *Glutamate-Cysteine Ligase* (GCL).^{61,62,78} Kemampuan sinergi antar EH-MSCs dan HA ini menyebabkan penurunan MDA hingga level yang ekuivalen dengan kelompok K1 (24,32 ng/mL vs 24,45 ng/mL), hal ini mengindikasikan kemampuan perbaikan dengan menyeimbangkan redoks.

Modulasi respons inflamasi yang ditunjukkan melalui upregulasi ekspresi gen interleukin-10 (IL-10) pada kelompok K5 menunjukkan kemampuannya dalam memperbaiki kondisi homeostasis dan menginisiasi respons regeneratif. Ekspresi gen IL-10 pada kelompok K5 yang lebih tinggi dibandingkan kelompok K1 disebabkan karena mekanisme polarisasi makrofag, dimana *exosome* MSCs menginduksi konversi makrofag M1 pro-inflamasi menjadi M2 anti-inflamasi melalui transfer miR-182 yang menargetkan TLR4 signaling pathway.^{105,106} Makrofag M2 merupakan penghasil utama IL-10 yang berfungsi sebagai sitokin pleiotropik dengan aktivitas immunosupresif melalui inhibisi sintesis sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 dan downregulasi ekspresi MHC kelas II, serta aktivitas pro-regeneratif melalui stimulasi proliferasi fibroblas dan sintesis kolagen.^{85,107,108} Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *exosome* MSCs mengandung *Transforming Growth Factor-beta* (TGF- β) dan *Prostaglandin E2* (PGE2) yang bekerja sinergis dalam menginduksi ekspresi IL-10 melalui

aktivasi jalur STAT3.³⁰ Penelitian lain juga melaporkan bahwa efektivitas *exosome adipose-derived stem cells* dalam menurunkan ekspresi MMP-1 dan meningkatkan sintesis procollagen pada model photoaging in vitro.³⁰ Efek kombinasi HA dengan senyawa protein lain seperti *platelet-rich plasma* (PRP) telah dilaporkan dapat meningkatkan densitas kolagen, namun mekanisme aksinya berbeda. PRP terutama bekerja melalui pelepasan *growth factors* seperti PDGF, TGF- β , dan EGF dalam sel, sementara *exosome* memiliki efek prolonged melalui modulasi transkripsional dan translational yang lebih sustained.¹⁰⁹ Ekspresi gen IL-10 pada kelompok K5 lebih tinggi disebabkan juga adanya HA yang berinteraksi dengan reseptor CD44 pada permukaan sel dan mengaktivasi jalur MAPK/Akt, jalur yang mengendalikan ekspresi gen yang mempengaruhi seberapa efektif IL-10 bekerja dan mempengaruhi jumlah produksi IL-10 tersebut diproduksi. Kemampuan sinergis antara EH-MSCs dan HA menyebabkan peningkatan ekspresi IL-10 lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya.

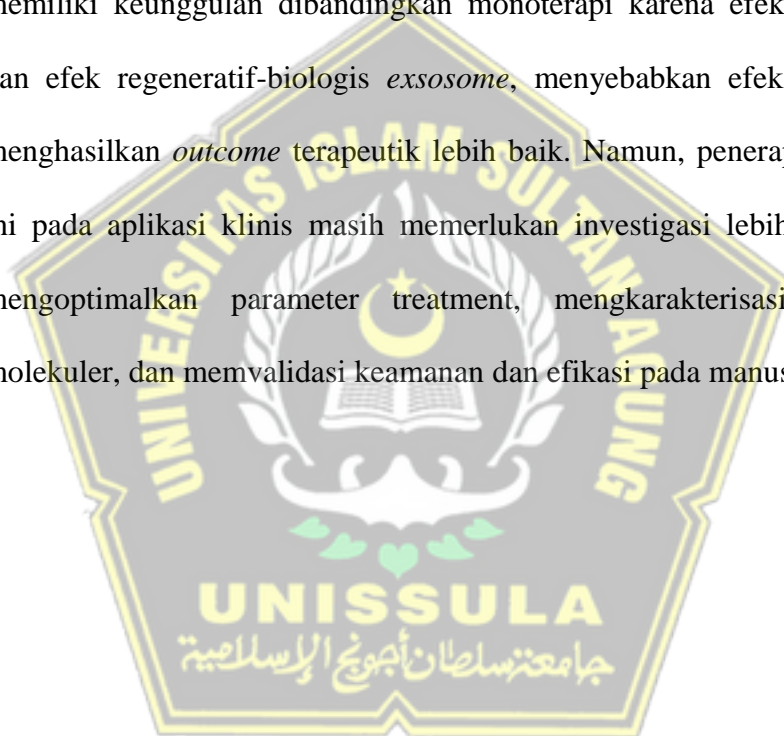
Kelebihan kombinasi terapi dibandingkan monoterapi kemungkinan juga karena fungsi HA sebagai *scaffold* biologis⁶³ yang memperpanjang retensi *exosome* di lokasi injeksi sehingga menyebabkan *exosome* dapat bertahan di area terapi lebih panjang dan lebih efektif. Pada penerapan secara klinis, hasil penelitian ini dapat digunakan menjadi dasar pengembangan terapi regeneratif kulit. Pada injeksi HA konvensional yang efeknya hanya terbatas pada augmentasi mekanis dan hidrasi dermis,

kombinasi dengan *exosome* memungkinkan perbaikan seluler melalui modulasi *microenvironment*, reduksi inflamasi kronis, dan stimulasi aktivitas fibroblas endogen.

Namun, penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan dalam interpretasi hasil dan aplikasi klinis. Kadar MDA dan IL-10 pada penelitian ini belum dapat menggambarkan kondisi stress oksidatif yang efektif sehingga penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan waktu pengamatan yang relatif panjang. Penelitian dengan pengamatan beberapa *timepoint* seperti 4, 8, dan 12 minggu *post-treatment* diperlukan untuk menilai persistensi perbaikan histologis dan biomolekuler. Pada penelitian ini tidak melakukan analisis kuantitatif terhadap densitas kolagen *post-treatment* menggunakan metode standar seperti *Masson's trichrome* staining, dimana keberhasilan sintesis kolagen kembali merupakan *gold standard* untuk evaluasi kondisi perbaikan *collagen loss*. Penelitian ini tidak mengkarakterisasi profil miRNA dan proteomik dari *exosome* yang digunakan, sehingga kandungan molekuler spesifik yang bertanggung jawab terhadap efek terapeutik tidak dapat diidentifikasi secara jelas. Analisis *next-generation sequencing* (NGS) untuk miRNA *profiling* dan *liquid chromatography-mass spectrometry* (LC-MS) untuk *proteomics analysis* dapat dilakukan kedepannya untuk memberikan informasi kandungan lebih jelas. Parameter khusus yang berkaitan dengan gen yang berperan pada sintesis kolagen seperti (COL1A1, COL3A1), regulasi MMPs

(MMP-1, MMP-3, MMP-9), dan *tissue inhibitor of metalloproteinases* (TIMP-1, TIMP-2) tidak dilakukan pada penelitian ini.

Secara keseluruhan, penelitian ini memberikan bukti preklinis bahwa terapi kombinasi HA dan EH-MSCs merupakan strategi terapeutik efektif untuk manajemen *collagen loss* akibat paparan UVB melalui regulasi terhadap stres oksidatif dan inflamasi kronis. Pendekatan kombinasi ini memiliki keunggulan dibandingkan monoterapi karena efek kimiawi HA dan efek regeneratif-biologis *exosome*, menyebabkan efek sinergi yang menghasilkan *outcome* terapeutik lebih baik. Namun, penerapan penelitian ini pada aplikasi klinis masih memerlukan investigasi lebih lanjut untuk mengoptimalkan parameter treatment, mengkarakterisasi mekanisme molekuler, dan memvalidasi keamanan dan efikasi pada manusia.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Terdapat pengaruh kombinasi *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) dan *Hyaluronic acid* (HA) terhadap kadar MDA dan ekspresi gen IL-10 pada tikus jantan galur wistar model *collagen loss* yang dipapar UV-B.
2. Terdapat perbedaan kadar MDA antara kelompok K2 (tikus model *collagen loss* yang diberi perlakuan NaCl) dengan kelompok K5 (tikus model *collagen loss* yang diberi perlakuan kombinasi EH-MSCs dan HA) dimana kadar MDA pada kelompok K2 sebesar $46,20 \pm 8,27$ ng/mL, lebih tinggi secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok K5 sebesar $24,32 \pm 4,55$ ng/mL.
3. Terdapat perbedaan ekspresi gen IL-10 antara kelompok K2 (tikus model *collagen loss* yang diberi perlakuan NaCl) dengan kelompok K5 (tikus model *collagen loss* yang diberi perlakuan kombinasi EH-MSCs dan HA) dimana ekspresi gen IL-10 pada kelompok K2, dengan rerata $0,03 \pm 0,01$, memperlihatkan nilai yang lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok K5 yang menunjukkan nilai IL-10 paling tinggi, yaitu $0,73 \pm 0,31$.

6.2. Saran

1. Diharapkan studi yang akan datang dapat melakukan pengamatan pada berbagai timepoint seperti 4, 8, 12 minggu *post-treatment* untuk evaluasi efek terapeutik dan efek samping yang mungkin ditimbulkan.
2. Pada penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan pengamatan densitas kolagen dengan *Masson's trichrome* untuk menilai peningkatan produksi kolagen sebagai manifestasi dari penurunan kadar MDA dan kenaikan kadar IL-10.
3. Pada penelitian lanjutan disarankan melakukan profiling kandungan *exosome* MSCs secara lengkap dengan NGS miRNA profiling dan LC-MS proteomics untuk identifikasi kandungan yang menimbulkan efek terapeutik spesifik terhadap kolagen.
4. Disarankan untuk mengamati berbagai marker lain seperti COL1A1, COL3A1, MMP-1/3/9, TIMP-1/2 untuk *pathway* yang berkaitan dengan sintesis-degradasi kolagen

DAFTAR PUSTAKA

- 1 D’Orazio J, Jarrett S, Amaro-Ortiz A, Scott T. UV radiation and the skin. *Int J Mol Sci*. 2013; **14**: 12222–12248.
- 2 Son DJ, Jung JC, Choi YM, Ryu HY, Lee S, Davis BA. Wheat extract oil (WEO) attenuates UVB-induced photoaging via collagen synthesis in human keratinocytes and hairless mice. *Nutrients* 2020. doi:10.3390/nu12020300.
- 3 Phipps KR, Lee HY, Kim H, Jeon B. Oral administration of a novel hydrolyzed chicken sternal cartilage extract (BioCell Collagen®) reduces UVB-induced photoaging in mice. *J Funct Foods* 2020. doi:10.1016/j.jff.2020.103870.
- 4 Kang YM, Hong CH, Kang SH, Seo DS, Kim SO, Lee HY *et al*. Anti-photoaging effect of plant extract fermented with *Lactobacillus buchneri* on CCD-986sk fibroblasts and HaCaT keratinocytes. *J Funct Biomater* 2020. doi:10.3390/jfb11010003.
- 5 Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; **2014**: 360438.
- 6 Egrilmez MY, Koçturk S, Aktan S, Oktay G, Resmi H, Keskin HS *et al*. Melatonin Prevents UVB-Induced Skin Photoaging by Inhibiting Oxidative Damage and MMP Expression through JNK/AP-1 Signaling Pathway in Human Dermal Fibroblasts. *Life* 2022; **12**. doi:10.3390/life12070950.
- 7 Geng R, Kang S-G, Huang K, Tong T. Boosting the Photoaged Skin: The Potential Role of Dietary Components. *Nutrients* 2021; **13**: 1691.
- 8 Zhan JYX, Wang XF, Liu YH, Zhang ZB, Wang L, Chen JN *et al*. Andrographolide sodium bisulfate prevents uv-induced skin photoaging through inhibiting oxidative stress and inflammation. *Mediators Inflamm* 2016; **2016**. doi:10.1155/2016/3271451.
- 9 Fischer R, Maier O. Interrelation of oxidative stress and inflammation in neurodegenerative disease: role of TNF. *Oxid Med Cell Longev* 2015; **2015**: 610813.
- 10 He X, Dong Z, Cao Y, Wang H, Liu S, Liao L *et al*. MSC-Derived Exosome Promotes M2 Polarization and Enhances Cutaneous Wound Healing. 2019; **2019**.
- 11 Zukhiroh Z, Putra A, Chodidjah C, Sumarawati T, Subchan P, Trisnadi S *et al*. Effect of Secretome-Hypoxia Mesenchymal Stem Cells on Regulating SOD and MMP-1 mRNA Expressions in Skin Hyperpigmentation Rats. *Open Access Maced J Med Sci* 2022; **10**: 1–7.

- 12 Green AC, Hughes MCB, McBride P, Fourtanier A. Factors associated with premature skin aging (photoaging) before the age of 55: A population-based study. *Dermatology* 2011. doi:10.1159/000322623.
- 13 Siebenga PS, van Amerongen G, Klaassen ES, de Kam ML, Rissmann R, Groeneveld GJ. The ultraviolet B inflammation model: Postinflammatory hyperpigmentation and validation of a reduced UVB exposure paradigm for inducing hyperalgesia in healthy subjects. *European Journal of Pain (United Kingdom)* 2019; **23**: 874–883.
- 14 Edwards PC, Fantasia JE. Review of long-term adverse effects associated with the use of chemically-modified animal and nonanimal source hyaluronic acid dermal fillers. 2007.
- 15 Corrêa MEAB, dos Santos Haupenthal DP, Mendes C, Zaccaron RP, de Roch Casagrande L, Venturini LM *et al.* Effects of Percutaneous Collagen Induction Therapy Associated with Hyaluronic Acid on Inflammatory Response, Oxidative Stress, and Collagen Production. *Inflammation* 2020; **43**: 2232–2244.
- 16 Pankajakshan D, Agrawal DK. Mesenchymal Stem Cell Paracrine Factors in Vascular Repair and Regeneration. *J Biomed Technol Res* 2014; **1**: 1–21.
- 17 Gao F, Chiu SM, Motan DAL, Zhang Z, Chen L, Ji HL *et al.* Mesenchymal stem cells and immunomodulation: Current status and future prospects. *Cell Death Dis* 2016; **7**. doi:10.1038/cddis.2015.327.
- 18 Kim ES, Jeon HB, Lim H, Shin JH, Park SJ, Jo YK *et al.* Conditioned media from human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells inhibits melanogenesis by promoting proteasomal degradation of MITF. *PLoS One* 2015; **10**: 1–11.
- 19 Martinez VG, Ontoria-Oviedo I, Ricardo CP, Harding SE, Sacedon R, Varas A *et al.* Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha improves immunomodulation by dental mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* 2017; **8**: 1–12.
- 20 Dokka S, Shi X, Leonard S, Wang L, Castranova V, Rojanasakul Y. Interleukin-10-mediated inhibition of free radical generation in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; **280**: 1196–1202.
- 21 Kim YW, Byzova T V. Oxidative stress in angiogenesis and vascular disease. *Blood* 2014; **123**: 625–631.
- 22 English K. Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol Cell Biol* 2013; **91**: 19–26.
- 23 Abreu SC, Weiss DJ, Rocco PRM. Extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells: A therapeutic option in respiratory diseases? *Stem Cell Res Ther* 2016; **7**: 1–10.

- 24 Aryanfar E, Ghoncheh M, Afshar M, Chahkandi M, Allahyari E, Shadi M. Enhancing wound healing with synthetic hyaluronic acid injection in sutured incisions on BALB/c mice. *Folia Med (Plovdiv)* 2025; **67**. doi:10.3897/folmed.67.e130272.
- 25 Park SR, Kim JW, Jun HS, Roh JY, Lee HY, Hong IS. Stem Cell Secretome and Its Effect on Cellular Mechanisms Relevant to Wound Healing. *Molecular Therapy* 2018; **26**: 606–617.
- 26 Balasubramanian S, Thej C, Walvekar A, Swamynathan P, Gupta PK, Seetharam RN *et al.* Evaluation of the Secretome Profile and Functional Characteristics of Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells-Derived Conditioned Medium Suggest Potential for Skin Rejuvenation. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications* 2017; **07**: 99–117.
- 27 Hu S, Li Z, Cores J, Huang K, Su T, Dinh PU *et al.* Needle-Free Injection of Exosomes Derived from Human Dermal Fibroblast Spheroids Ameliorates Skin Photoaging. *ACS Nano* 2019; **13**: 11273–11282.
- 28 Van De Walle GR, De Schauwer C, Fortier LA. Mesenchymal Stem Cell Therapy. *Equine Clinical Immunology* 2016; : 297–310.
- 29 You Y, Tian Y, Yang Z, Shi J, Kwak KJ, Tong Y *et al.* Intradermally delivered mRNA-encapsulating extracellular vesicles for collagen-replacement therapy. *Nat Biomed Eng* 2023; **7**: 887–900.
- 30 Angelina J, Putra A, Trisnadi S, Hermansyah D, Setiawan E, Sumarawati T *et al.* Hypoxia-conditioned mesenchymal stem cells (MSC) exosomes attenuate ultraviolet-B (UVB)-mediated malondialdehyde (MDA) and matrix metalloproteinase-1 (MMP)-1 upregulation in collagen loss models. *Med Glas* 2025; **22**: 9–14.
- 31 Astari L, Cahyono H, Widjajanto E. Correlation of Interleukin-10, Superoxide Dismutase (SOD), and Malondialdehyde (MDA) Levels with HbA1c in Pediatric Type 1 Diabetes Mellitus. *J Trop Life Sci* 2017; **7**: 286–292.
- 32 Lotfi A, Shahryar HA, Ebrahimnezhad Y, Shayegh J. Effect of in ovo ghrelin administration on serum malondialdehyde level in newly-hatched chickens. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012; **2**: 47–9.
- 33 Morales M, Munné-Bosch S. Malondialdehyde: Facts and Artifacts. *Plant Physiol* 2019; **180**: 1246–1250.
- 34 Xing X, Dan Y, Xu Z, Xiang L. Implications of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Treatment of Hyperpigmentation Disorders. *Oxid Med Cell Longev.* 2022; **2022**. doi:10.1155/2022/7881717.

- 35 Santosa IE, Harmita DANI. Pengukuran Etilen Hasil Proses Peroksidasi Lipid pada Biocream yang Diinduksi Sinar Ultraviolet menggunakan Detektor Fotoakustik. 2020<https://journal.unnes.ac.id/nju/index.php/jf/index>.
- 36 C T Pratama GM, Gusti B R M Hartawan IN, Gusti T Indriani IA, Yusrika MU, A Suryantari SA, S Satyarsa AB *et al.* Potensi Ekstrak *Spirulina platensis* sebagai Tabir Surya terhadap Paparan Ultraviolet B Potency of *Spirulina platensis* Extract as Sunscreen on Ultraviolet B Exposure. 2020.
- 37 Ansarin K, Khoubnasabjafari M, Jouyban A. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts* 2017; **5**: 123–127.
- 38 Maurya RP, Prajapat MK, Singh VP, Roy M, Todi R, Bosak S *et al.* Serum Malondialdehyde as a Biomarker of Oxidative Stress in Patients with Primary Ocular Carcinoma: Impact on Response to Chemotherapy. *Clin Ophthalmol* 2021; **15**: 871–879.
- 39 Xing X, Dan Y, Xu Z, Xiang L. Implications of Oxidative Stress in the Pathogenesis and Treatment of Hyperpigmentation Disorders. *Oxid Med Cell Longev* 2022; **2022**: 1–12.
- 40 Cordiano R, Di Gioacchino M, Mangifesta R, Panzera C, Gangemi S, Minciullo PL. Malondialdehyde as a Potential Oxidative Stress Marker for Allergy-Oriented Diseases: An Update. *Molecules*. 2023; **28**. doi:10.3390/molecules28165979.
- 41 Tsai T-T, Chuang Y-J, Lin Y-S, Wan S-W, Chen C-L, Lin C-F. An emerging role for the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 in dengue virus infection. *J Biomed Sci* 2013; **20**: 40.
- 42 Krishnamurthy P, Rajasingh J, Lambers E, Qin G, Losordo DW, Kishore R. IL-10 Inhibits Inflammation and Attenuates Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction via Activation of STAT3 and Suppression of HuR. *Circ Res* 2009; **104**. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.188243.
- 43 Salminen A, Kaarniranta K, Kauppinen A. Photoaging: UV radiation-induced inflammation and immunosuppression accelerate the aging process in the skin. *Inflammation Research*. 2022; **71**: 817–831.
- 44 Ansary TM, Hossain MR, Kamiya K, Komine M, Ohtsuki M. Inflammatory molecules associated with ultraviolet radiation-mediated skin aging. *Int J Mol Sci*. 2021; **22**. doi:10.3390/ijms22083974.
- 45 Yadav DK, Kumar S, Saloni, Misra S, Yadav L, Teli M *et al.* Molecular Insights into the Interaction of RONS and Thieno[3,2-c]pyran Analogs with SIRT6/COX-2: A Molecular Dynamics Study. *Sci Rep* 2018; **8**. doi:10.1038/s41598-018-22972-9.

- 46 Singampalli KL, Balaji S, Wang X, Parikh UM, Kaul A, Gilley J *et al.* The Role of an IL-10/Hyaluronan Axis in Dermal Wound Healing. *Front Cell Dev Biol* 2020; **8**: 1–15.
- 47 Putra A, Ridwan FB, Putridewi AI, Kustiyah AR, Wirastuti K, Sadyah NAC *et al.* The role of tnf- α induced mscs on suppressive inflammation by increasing tgf- β and il-10. *Open Access Maced J Med Sci* 2018; **6**: 1779–1783.
- 48 Schachtele S, Clouser C, Aho J. Methods to Validate Mesenchymal Stem Cell Identity, Potency, and Quality. *R&D systems* 2018.
- 49 Park YM, Lee MJ, Jeon SH, Hrůzová D. In vitro effects of conditioned medium from bioreactor cultured human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (hUC-MSCs) on skin-derived cell lines. *Regen Ther* 2021; **18**: 281–291.
- 50 Marino L, Castaldi MA, Rosamilio R, Ragni E, Vitolo R, Fulgione C *et al.* Mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the human umbilical cord: Biological properties and therapeutic potential. *Int J Stem Cells* 2019; **12**: 218–226.
- 51 Sargent A, Miller RH. MSC Therapeutics in Chronic Inflammation. *Curr Stem Cell Rep* 2016; **2**: 168–173.
- 52 Scuteri A, Monfrini M. Mesenchymal stem cells as new therapeutic approach for diabetes and pancreatic disorders. *Int J Mol Sci* 2018; **19**. doi:10.3390/ijms19092783.
- 53 Putra A. *Basic Molecular Stem Cell*. Unissula Press: Semarang, 2019.
- 54 Hwang YP, Choi JH, Kim HG, Choi JM, Hwang SK, Chung YC *et al.* Cultivated ginseng suppresses ultraviolet B-induced collagenase activation via mitogen-activated protein kinases and nuclear factor κ B/activator protein-1-dependent signaling in human dermal fibroblasts. *Nutrition Research* 2012; **32**: 428–438.
- 55 Gazon H, Barbeau B, Mesnard JM, Peloponese JM. Hijacking of the AP-1 signaling pathway during development of ATL. *Front Microbiol* 2018; **8**: 1–13.
- 56 Hoenig LJ. Molecular Mechanisms of Skin Aging and Age-Related Diseases. *Skinmed* 2017; **15**: 240.
- 57 Shoulders MD, Raines RT. Collagen Structure and Stability Ann Rev Biochemistry. *Annu Rev Biochem* 2009; **78**: 929–958.
- 58 Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Characteristics of the Aging Skin. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 2013; **2**: 5–10.
- 59 Chung HJ, Uitto J. Type VII Collagen: The Anchoring Fibril Protein at Fault in Dystrophic Epidermolysis Bullosa. *Dermatol Clin* 2010; **28**: 93–105.

- 60 Zhang YZ, Ran LY, Li CY, Chen XL. Diversity, structures, and collagen-degrading mechanisms of bacterial collagenolytic proteases. *Appl Environ Microbiol* 2015; **81**: 6098–6107.
- 61 He X, Hu Y, Wu Y, Luo Y, Feng H, Wu Q *et al.* Hyaluronic acid modified chuanxiong oil liposomes as a novel therapeutic agent for photoaging prevention. *Sci Rep* 2025; **15**. doi:10.1038/s41598-025-97450-0.
- 62 Hu L, Nomura S, Sato Y, Takagi K, Ishii T, Honma Y *et al.* Anti-inflammatory effects of differential molecular weight Hyaluronic acids on UVB-induced calprotectin-mediated keratinocyte inflammation. *J Dermatol Sci* 2022; **107**: 24–31.
- 63 Robati RM, Moeineddin F, Almasi-Nasrabadi M. The Risk of Skin Necrosis Following Hyaluronic Acid Filler Injection in Patients With a History of Cosmetic Rhinoplasty. *Aesthet Surg J* 2018; **38**: 883–888.
- 64 Weng X, Maxwell-Warburton S, Hasib A, Ma L, Kang L. The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2022; **33**: 318–332.
- 65 Horiba S, Kawamoto M, Tobita R, Kami R, Ogura Y, Hosoi J. M1/M2 Macrophage Skewing is Related to Reduction in Types I, V, and VI Collagens with Aging in Sun-Exposed Human Skin. *JID Innov* 2023; **3**. doi:10.1016/j.xjidi.2023.100222.
- 66 Wang Y, Branicky R, Noë A, Hekimi S. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *J Cell Biol* 2018; **217**. doi:10.1083/jcb.201708007.
- 67 Vigneron A, Vousden KH. p53, ROS and senescence in the control of aging. *Aging* 2010; **2**: 471–474.
- 68 Lee YR, Noh EM, Han JH, Kim JM, Hwang JK, Hwang BM *et al.* Brazilin inhibits UVB-induced MMP-1/3 expressions and secretions by suppressing the NF- κ B pathway in human dermal fibroblasts. *Eur J Pharmacol* 2012; **674**: 80–86.
- 69 Manka SW, Bihan D, Farndale RW. Structural studies of the MMP-3 interaction with triple-helical collagen introduce new roles for the enzyme in tissue remodelling. *Sci Rep* 2019; **9**. doi:10.1038/s41598-019-55266-9.
- 70 Bian D, Wu Y, Song G, Azizi R, Zamani A. The application of mesenchymal stromal cells (MSCs) and their derivative exosome in skin wound healing: a comprehensive review. *Stem Cell Res Ther*. 2022; **13**. doi:10.1186/s13287-021-02697-9.
- 71 Phinney DG, Pittenger MF. Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem Cells* 2017; **35**: 851–858.

- 72 Jung M, Ma Y, Iyer RP, DeLeon-Pennell KY, Yabluchanskiy A, Garrett MR *et al.* IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation. *Basic Res Cardiol* 2017; **112**: 1–14.
- 73 Hao JS, Shan G, Cai SW. Protection against TGF- β 1-induced fibrosis effects of IL-10 on dermal fibroblasts and its potential therapeutics for the reduction of skin scarring. 2013; : 341–352.
- 74 Muhar AM, Makharim F, Hermansyah D, Putra A, Hidayah N, Amalina ND *et al.* Hypoxic mesenchymal stem cell-conditioned medium accelerates wound healing by regulating IL-10 and TGF- β levels in a full-thickness-wound rat model. *Indones J Biotechnol* 2022; **27**: 187–194.
- 75 Ahmed SMU, Luo L, Namani A, Wang XJ, Tang X. Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017; **1863**: 585–597.
- 76 Jeayeng S, Wongkajornsilp A, Slominski AT, Jirawatnotai S, Sampattavanich S, Panich U. Nrf2 in keratinocytes modulates UVB-induced DNA damage and apoptosis in melanocytes through MAPK signaling. *Free Radic Biol Med* 2017; **108**: 918–928.
- 77 Nie P, Bai X, Lou Y, Zhu Y, Jiang S, Zhang L *et al.* Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce oxidative damage and apoptosis in diabetic nephropathy by activating Nrf2. *Stem Cell Res Ther* 2021; **12**. doi:10.1186/s13287-021-02447-x.
- 78 Yu H, Zhang J, Yang L, Tian Y, Milne C, Jin P *et al.* MSC-derived exosomes injectable hyaluronic acid hydrogel for enhanced chronic wound healing. *Journal of Controlled Release* 2025; **385**. doi:10.1016/j.jconrel.2025.113985.
- 79 Shang L, Li M, Xu A, Zhuo F. Recent applications and molecular mechanisms of hyaluronic acid in skin aging and wound healing. *Med Nov Technol Devices* 2024; **23**: 100320.
- 80 Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermatoendocrinol.* 2012; **4**. doi:10.4161/derm.21923.
- 81 Son DJ, Jung JC, Choi YM, Ryu HY, Lee S, Davis BA. Wheat Extract Oil (WEO) Attenuates UVB-Induced Photoaging via Collagen Synthesis in Human Keratinocytes and Hairless Mice. *Nutrients* 2020; **12**: 300.
- 82 Dale Wilson B, Moon S, Armstrong F. Comprehensive review of ultraviolet radiation and the current status on sunscreens. *J Clin Aesthet Dermatol* 2012; **5**: 18–23.
- 83 Al-Khayri JM, Sahana GR, Nagella P, Joseph B V., Alessa FM, Al-Mssallem MQ. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. *Molecules* 2022; **27**: 2901.

- 84 Baumann D, Drebant J, Hägele T, Burger L, Serger C, Lauenstein C *et al.* P38 MAPK signaling in M1 macrophages results in selective elimination of M2 macrophages by MEK inhibition. *J Immunother Cancer* 2021; **9**. doi:10.1136/jitc-2020-002319.
- 85 Liu YC, Zou XB, Chai YF, Yao YM. Macrophage polarization in inflammatory diseases. *Int J Biol Sci.* 2014; **10**: 520–529.
- 86 Wang N, Liang H, Zen K. Molecular mechanisms that influence the macrophage M1-M2 polarization balance. *Front Immunol.* 2014; **5**. doi:10.3389/fimmu.2014.00614.
- 87 Miki S, Suzuki J ichiro, Takashima M, Ishida M, Kokubo H, Yoshizumi M. S-1-Propenylcysteine promotes IL-10-induced M2c macrophage polarization through prolonged activation of IL-10R/STAT3 signaling. *Sci Rep* 2021; **11**. doi:10.1038/s41598-021-01866-3.
- 88 Fan Y, Jeong JH, You GY, Park JU, Choi TH, Kim S. An Experimental Model Design for Photoaging. *Journal of Craniofacial Surgery* 2015. doi:10.1097/SCS.0000000000001902.
- 89 Moriya M. Enhanced radical scavenging activity by interactions between hyaluronan and antioxidants -A study of hyaluronan-containing drinks-. *Food Sci Technol Res* 2022; **28**: 159–168.
- 90 Chen M, Li C, Nie F, Liu X, Pipinos II, Li X. Synthesis and characterization of a hyaluronic acid-based hydrogel with antioxidative and thermosensitive properties. *RSC Adv* 2020; **10**: 33851–33860.
- 91 Ai XY, Qin Y, Liu HJ, Cui ZH, Li M, Yang JH *et al.* Apigenin inhibits colonic inflammation and tumorigenesis by suppressing STAT3-NF- κ B signaling. *Oncotarget* 2017; **8**: 100216–100226.
- 92 Huang YH, Chen MH, Guo QL, Chen ZX, Chen QD, Wang XZ. Interleukin-10 induces senescence of activated hepatic stellate cells via STAT3-p53 pathway to attenuate liver fibrosis. *Cell Signal* 2020; **66**: 109445.
- 93 Li H, Wang L, Pang Y, Jiang Z, Liu Z, Xiao H *et al.* In patients with chronic aplastic anemia, bone marrow-derived MSCs regulate the Treg/Th17 balance by influencing the Notch/RBP-J/FOXP3/ROR γ T pathway. *Sci Rep* 2017; **7**. doi:10.1038/srep42488.
- 94 Venza I, Venza M, Visalli M, Lentini G, Teti D, D'Alcontres FS. ROS as Regulators of Cellular Processes in Melanoma. *Oxid Med Cell Longev* 2021; **2021**. doi:10.1155/2021/1208690.
- 95 Kwon KR, Alam MB, Park JH, Kim TH, Lee SH. Attenuation of UVB-induced photo-aging by polyphenolic-rich spatholobus suberectus stem extract via modulation of MAPK/AP-1/MMPs signaling in human keratinocytes. *Nutrients* 2019; **11**. doi:10.3390/nu11061341.

- 96 Li D, Li D, Wang Z, Li J, Shahzad KA, Wang Y *et al.* Signaling pathways activated and regulated by stem cell-derived exosome therapy. *Cell Biosci.* 2024; **14**. doi:10.1186/s13578-024-01277-7.
- 97 Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Bussolati B *et al.* Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles* 2024; **13**. doi:10.1002/jev2.12404.
- 98 Razban V, Lotfi AS, Soleimani M, Ahmadi H, Massumi M, Khajeh S *et al.* HIF-1 α overexpression induces angiogenesis in mesenchymal stem cells. *Biores Open Access* 2012; **1**: 174–183.
- 99 Zhuang Y, Zhao Z, Cheng M, Li M, Si J, Lin K *et al.* HIF-1 α Regulates Osteogenesis of Periosteum-Derived Stem Cells Under Hypoxia Conditions via Modulating POSTN Expression. *Front Cell Dev Biol* 2022; **10**. doi:10.3389/fcell.2022.836285.
- 100 Arrighetti N, Corbo C, Evangelopoulos M, Pastò A, Zuco V, Tasciotti E. Exosome-like Nanovectors for Drug Delivery in Cancer. *Curr Med Chem* 2018; **26**: 6132–6148.
- 101 Vakhshiteh F, Atyabi F, Ostad SN. Mesenchymal stem cell exosomes: A two-edged sword in cancer therapy. *Int J Nanomedicine* 2019; **14**: 2847–2859.
- 102 Wu P, Zhang B, Shi H, Qian H, Xu W. MSC-exosome: A novel cell-free therapy for cutaneous regeneration. *Cytotherapy* 2018; **20**: 291–301.
- 103 Park AY, Lee JOK, Jang Y, Kim YJ, Lee JMIN, Kim SY *et al.* Exosomes derived from human dermal fibroblasts protect against UVB-induced skin photoaging. *Int J Mol Med* 2023; **52**. doi:10.3892/ijmm.2023.5323.
- 104 Giunti D, Marini C, Parodi B, Usai C, Milanese M, Bonanno G *et al.* Role of miRNAs shuttled by mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles in modulating neuroinflammation. *Sci Rep* 2021; **11**. doi:10.1038/s41598-021-81039-4.
- 105 Hu P, Yang Q, Wang Q, Shi C, Wang D, Armato U *et al.* Mesenchymal stromal cells-exosomes: a promising cell-free therapeutic tool for wound healing and cutaneous regeneration. *Burns Trauma* 2019; **7**: 1–10.
- 106 Liu W, Li L, Rong Y, Qian D, Chen J, Zhou Z *et al.* Hypoxic mesenchymal stem cell-derived exosomes promote bone fracture healing by the transfer of miR-126. *Acta Biomater* 2020; **103**: 196–212.
- 107 Orecchioni M, Ghosheh Y, Pramod AB, Ley K. Macrophage polarization: Different gene signatures in M1(Lps+) vs. Classically and M2(LPS-) vs. Alternatively activated macrophages. *Front Immunol* 2019; **10**: 1–14.

- 108 Momtazi-Borojeni AA, Abdollahi E, Nikfar B, Chaichian S, Ekhlasi-Hundrieser M. Curcumin as a potential modulator of M1 and M2 macrophages: new insights in atherosclerosis therapy. *Heart Fail Rev* 2019; **24**: 399–409.
- 109 Nishimoto S, Fujita K, Sotsuka Y, Kinoshita M, Fujiwara T, Kawai K *et al.* Growth Factor Measurement and Histological Analysis in Platelet Rich Fibrin: A Pilot Study. *J Maxillofac Oral Surg* 2015. doi:10.1007/s12663-015-0768-3.

