

**PENGARUH PEMBERIAN EXOSOME HYPOXIA  
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSC)  
TERHADAP EKSPRESI T-BOX EXPRESSED IN T cells  
(T-BET) DAN Ki-67  
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus Wistar *Psoriasis-like*  
yang diinduksi IMQ)**

**Tesis**

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



**Magister Ilmu Biomedik**

**Shaza Fadhilah**

**MBK. 2424010524**

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*  
*MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSC)* TERHADAP  
EKSPRESI *T-BOX EXPRESSED IN T cells (T-BET)***

**DAN Ki-67**

**(Studi Eksperimental *In Vivo* Pada Tikus Wistar model *Psoriasis-like* yang diinduksi IMQ)**

Disusun oleh:

Shaza Fadhilah

MBK.2424010524

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji

Jumat, 13 Februari 2026

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B

NIK. 210.113.160

Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A

NIK. 210.105.097

Mengetahui,

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



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes






NIK. 210.198.046

## LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSC)* TERHADAP EKSPRESI *T-BOX EXPRESSED IN T cells (T-BET)* DAN Ki-67 (Studi Eksperimental *In Vivo* Pada Tikus Wistar model *Psoriasis-like* yang diinduksi IMQ)” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 13 Februari 2026

NO.	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE, Subsp.DKE, FINS DV, FAADV	Penguji I	
2.	Dr. dr. Chodidjah, M.Kes, PAK (K)	Penguji II	
3.	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji III	
4.	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B	Pembimbing I	
5.	Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A	Pembimbing II	

## PERNYATAAN

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



## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : Shaza Fadhillah  
Tempat / tanggal lahir : Jakarta, 22 September 1988  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. TK Rabbi Radhiyya, Jakarta : Lulus tahun 1993
2. SDIT Al-hikmah, Jakarta : Lulus tahun 1999
3. SMPIT Nurul Fikri Boarding School, Anyer: Lulus tahun 2002
4. SMA Plus BBS, Bogor : Lulus tahun 2005
5. S1 Fakultas Kedokteran Universitas Yarsi : Lulus tahun 2010
6. Profesi Dokter : Lulus tahun 2012
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 - Sekarang

### C. Riwayat Keluarga

1. Nama Ayah : KH. Muhammad Nasir Zein, MA
2. Nama ibu : Ida Farida
3. Nama Suami : dr. Anas
4. Nama Anak : Falzata Qolbina

Shakirah Lirabbina

Muhammad Mayyaz

## KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “Pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSC) terhadap Ekspresi *T-BOX Expressed In T Cells* (T-BET) dan Ki-67 (Studi eksperimental In Vivo Pada Tikus Wistar *Psoriasis Like* yang diinduksi IMQ)” ini dapat penulis selesaikan.

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

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

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS sekaligus sebagai dosen pembimbing pertama atas keluangan waktu dan bimbingannya.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes sekaligus sebagai dosen penguji ketiga atas saran dan masukannya dalam penyelesaian tesis ini
4. Dr. dr. Sri Priyantini, Sp.A atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing kedua.

5. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp.DVE, Subsp.DKE, FINSADV, FAADV, penguji I yang banyak memberikan masukan dalam pelaksanaan penulisan tesis.
6. Dr.dr.Chodidjah, M.Kes, PAK (K), sekretaris Prodi Magister Biomedik sekaligus penguji II yang telah memberikan banyak saran saran dalam penyelesaian tesis.
7. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
8. Segenap staf administrasi progam Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
9. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal tesis ini lebih sempurna serta sebagai masukan bagi penulis untuk penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa yang akan datang.

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

Semarang, Februari 2026  
Penulis

( Shaza Fadhilah )

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
RIWAYAT HIDUP .....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR SINGKATAN .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK .....	xv
<i>ABSTRACT</i> .....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	5
1.3. Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1. Tujuan Umum .....	5
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Originalitas Penelitian.....	6
1.5. Manfaat penelitian .....	8
1.5.1. Manfaat Teoritis .....	8
1.5.2. Manfaat Praktis .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Psoriasis .....	10
2.1.1. Definisi.....	10
2.2. <i>T-box expressed in T cells (T-Bet)</i> .....	12
2.2.1. Definisi.....	12
2.2.2. Peran T-Bet pada Psoriasis dan Penekanan Respons Th2.....	13

2.3. Ki-67 .....	14
2.3.1. Definisi.....	14
2.3.2. Peran Ki-67 pada Psoriasis.....	15
2.4. <i>Exosome Mesenchymal Stem Cells</i> (E-Msc).....	16
2.4.1. Definisi.....	16
2.4.2. Kandungan <i>Exosome</i> MSC .....	16
2.4.3. Metode Isolasi <i>Exosome</i> MSC .....	18
<b>BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS .....</b>	<b>21</b>
3.1. Kerangka Teori.....	21
3.2. Kerangka Konsep.....	24
3.3. Hipotesis .....	24
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>25</b>
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	25
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	26
4.2.1. Variabel Penelitian .....	26
4.2.2. Definisi Operasional.....	26
4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian.....	28
4.3.1. Subyek penelitian .....	28
4.3.2. Sampel Penelitian.....	28
4.4. Besar Sampel .....	29
4.5. Alat dan Bahan.....	29
4.5.1. Alat Penelitian.....	29
4.5.2. Bahan Penelitian.....	30
4.6. Cara Penelitian .....	30
4.6.1. <i>Ethical clearance</i> .....	30
4.6.2. Pembuatan psoriasis dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan .....	30
4.6.3. Metode Validasi.....	31
4.6.4. Terminasi dan pengambilan jaringan .....	34
4.6.5. Ekstraksi RNA dan sintesis cDNA.....	34

4.6.6. Pembacaan T-Bet dan Ki-67 dengan <i>Real Time-Polymerase Chain Reaction</i> (RT-PCR) .....	36
4.7. Alur Penelitian .....	37
4.8. Analisa Data .....	38
4.9. Tempat dan Waktu Penelitian .....	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN .....	40
5.1. Hasil Penelitian .....	40
5.1.1. Hasil Validasi EH-MSC ( <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i> ) .....	40
5.1.2. Hasil Validasi Psoriasis .....	42
5.1.3. Ekspresi T-Bet .....	45
5.1.4. Ekspresi Ki67 .....	48
5.2. Pembahasan Hasil Penelitian .....	51
5.3. Keterbatasan Penelitian .....	55
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN .....	25
6.1. Kesimpulan .....	25
6.2. Saran .....	25
DAFTAR PUSTAKA .....	26
LAMPIRAN .....	31



## DAFTAR SINGKATAN

DC	: <i>Dendritic Cell</i>
EH-MSC	: <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell</i>
hUC-MSC	: <i>Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cell</i>
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon gamma</i>
IL	: <i>Interleukin</i>
IMQ	: <i>Imiquimod</i>
JAK-STAT	: <i>Janus kinase–signal transducer and activator of transcription</i>
KC	: <i>Keratynocyte Cell</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
miRNA	: <i>microRNA</i>
MMP-9	: <i>Metaloproteinase-9</i>
mRNA	: <i>messenger Ribo Nucleic Acid</i>
NF $\kappa$ B	: <i>Nuclear Factor kappa B</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	: <i>Real Time-Polymerase Chain Reaction</i>
T-BET	: <i>T-box expressed in T cells</i>
TCR	: <i>T Cell Receptor</i>
Th	: <i>T-helper</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor necrosis factor alfa</i>

## DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	6
Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi T-Bet.....	45
Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi T-Bet antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane.....	47
Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Ekspresi Ki67 .....	48
Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi Ki67 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane.....	50



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Disregulasi respons imun pada psoriasis.....	11
Gambar 2.2.	Peran T-bet dalam diferensiasi sel T pembantu.....	13
Gambar 2.3.	Mekanisme penggerak dampak terapeutik SFN dalam memerangi psoriasis.....	15
Gambar 3.1.	Kerangka Teori .....	23
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep .....	24
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian .....	25
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	37
Gambar 5.1.	Validasi MSCs.....	40
Gambar 5.2.	Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna Alizarin-red staining (ditunjukkan dengan panah merah, perbesaran 200x dan (B) kondrosit pada pewarnaan Alician Blue Staining (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).....	41
Gambar 5.3.	Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i> menggunakan marker CD63 dan CD9.....	42
Gambar 5.4.	Validasi Makroskopis dan Mikroskopis kulit Tikus Sehat .....	43
Gambar 5.5.	Validasi Makroskopis dan Mikroskopis kulit Tikus Psoriasis .....	44
Gambar 5.6.	Grafik ekspresi T-Bet .....	48
Gambar 5.7.	Grafik Ekspresi Ki67.....	51

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i> .....	31
Lampiran 2. Statistik Ekspresi T-BET dan Ki67 .....	32
Lampiran 3. Surat Ijin Penelitian .....	36
Lampiran 4. Surat Keterangan Penelitian .....	37
Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian .....	40
Lampiran 6. Hasil Penelitian.....	41



## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Psoriasis merupakan penyakit kulit inflamasi kronis yang ditandai oleh disregulasi sistem imun, peningkatan sitokin proinflamasi, dan hiperproliferasi keratinosit. T-box expressed in T cells (T-Bet) berperan dalam diferensiasi sel T helper 1 (Th1) dan regulasi respons imun seluler, sedangkan Ki67 merupakan penanda proliferasi sel yang meningkat pada lesi psoriatik. Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (EH-MSC) mengandung molekul bioaktif dengan efek imunomodulator, antiinflamasi, dan antiproliferatif sehingga berpotensi memperbaiki patogenesis psoriasis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian EH-MSC terhadap ekspresi T-Bet dan Ki67 pada model tikus psoriasis-like yang diinduksi imiquimod.

**Metode:** Penelitian eksperimental *in vivo* dengan rancangan randomized post-test only control group menggunakan tikus Wistar jantan yang diinduksi imiquimod. Hewan dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat (K1), kontrol psoriasis/NaCl (K2), metotreksat (K3), EH-MSC dosis 100  $\mu$ l/ekor (K4), dan EH-MSC dosis 200  $\mu$ l/ekor (K5). Ekspresi T-Bet dan Ki67 dianalisis menggunakan qRT-PCR. Data dianalisis dengan One-Way ANOVA dan uji lanjut Post Hoc Tamhane.

**Hasil:** Terdapat perbedaan bermakna ekspresi T-Bet dan Ki67 antar kelompok ( $p < 0,001$ ). Ekspresi T-Bet menurun signifikan pada K4 ( $p = 0,030$ ) dan K5 ( $p = 0,008$ ) dibanding K2. Ekspresi Ki67 juga menurun signifikan pada K4 ( $p = 0,032$ ) dan K5 ( $p = 0,002$ ).

**Kesimpulan:** Pemberian EH-MSC dosis 100  $\mu$ l dan 200  $\mu$ l berpengaruh terhadap penurunan ekspresi T-Bet dan Ki67 pada tikus model psoriasis dibandingkan kelompok kontrol.

**Kata kunci:** psoriasis, T-Bet, Ki67, EH-MSC

## ABSTRACT

**Background:** Psoriasis is a chronic inflammatory skin disease characterized by immune dysregulation, increased pro-inflammatory cytokines, and keratinocyte hyperproliferation. T-box expressed in T cells (T-Bet) plays a role in T helper 1 (Th1) differentiation and cellular immune responses, while Ki67 is a marker of cell proliferation that is elevated in psoriatic lesions. Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs) contain bioactive molecules with immunomodulatory, anti-inflammatory, and antiproliferative properties, making them a potential therapeutic approach for psoriasis.

**Methods:** This in vivo experimental study used a randomized post-test only control group design with an imiquimod-induced male Wistar rat model. Animals were divided into five groups: healthy control (K1), psoriasis/NaCl control (K2), methotrexate (K3), EH-MSC 100  $\mu$ l/rat (K4), and EH-MSC 200  $\mu$ l/rat (K5). T-Bet and Ki67 expression in skin tissue were analyzed using qRT-PCR. Data were normally distributed but not homogeneous (Levene  $p < 0.05$ ) and were analyzed using One-Way ANOVA followed by Tamhane post hoc test.

**Results:** Significant differences in T-Bet and Ki67 expression were observed among groups (ANOVA  $p < 0.001$ ). T-Bet expression decreased significantly in K4 ( $p = 0.030$ ) and K5 ( $p = 0.008$ ) compared to K2. Ki67 expression also decreased significantly in K4 ( $p = 0.032$ ) and K5 ( $p = 0.002$ ). No significant difference was found between K4 and K5 for T-Bet ( $p = 0.098$ ) or Ki67 ( $p = 1.000$ ).

**Conclusion:** There is an effect of administering (Exosome hypoxia mesenchymal stem cell) EH-MSC at a dose of 100  $\mu$ l/kgBW and 200  $\mu$ l/kgBW on reducing T-bet and Ki67 expression in psoriasis model mice compared to the control group.

**Key Words:** psoriasis, T-Bet, Ki67 and EH-MSCs

UNISSULA  
جامعة سلطان أبوبوع الإسلامية

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Psoriasis adalah penyakit kulit inflamasi kronik yang dimediasi imun dengan beberapa sub tipe fenotip berbeda, misalnya plak, fleksural, gutata, pustular, atau eritroderma. Pasien dengan psoriasis umumnya mengalami lesi kulit berupa plak eritematosa dengan batas tegas yang ditutupi oleh sisik putih hingga keperakan (*silver-white scales*), sering kali disertai gatal, terbakar atau perih ringan. Pada sejumlah kasus, terutama yang lebih berat atau jenis khusus (misalnya pustular atau eritrodermik), muncul rasa nyeri kulit, sensitif terhadap air atau tekanan, dan adanya retakan atau perdarahan pada area yang terkelupas. Perubahan di kuku (seperti pitting, onikolis) maupun keterlibatan sendi (*Psoriatic arthritis*) juga dapat muncul, menandakan bahwa psoriasis bukan hanya penyakit kulit semata.<sup>2</sup>

Psoriasis dapat ditemukan di seluruh dunia dengan prevalensi 0,1%-11,8% angka yang berbeda beda pada setiap negara. Prevalensi psoriasis di Indonesia mencapai 2,5% dari populasi penduduk. Terdapat kasus psoriasis 1.4% dari 14.618 penderita di RSUP Dr Kariadi dengan jenis psoriasis vulgaris yang paling dominan.<sup>4</sup> India Utara, prevalensi psoriasis pada orang dewasa bervariasi antara 0,44 hingga 2,8%, dengan prevalensi yang jauh lebih rendah pada anak-anak.<sup>5</sup> Meskipun tidak menyebabkan kematian, psoriasis dapat mempengaruhi kualitas hidup penderita.

Psoriasis merupakan penyakit inflamasi kronis kulit yang sulit disembuhkan secara tuntas. Terapi yang tersedia seperti *metotreksat* (MTX) sering digunakan, namun hasilnya belum memuaskan karena efek samping seperti mual, muntah, stomatitis, hepatotoksitas, dan supresi sumsum tulang yang membatasi penggunaannya jangka panjang. Penggunaan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSC) dipilih karena sel ini memiliki kemampuan imunomodulator dan regeneratif yang dapat menekan peradangan, memperbaiki fungsi barrier kulit, serta berpotensi memberikan efek penyembuhan yang lebih aman dan tahan lama dibanding terapi konvensional.<sup>22</sup>

Peran *T-box expressed in T cells* (T-bet) dan Ki-67 sangat penting dalam patogenesis psoriasis karena keduanya mencerminkan dua aspek utama penyakit ini, yaitu aktivitas imun dan proliferasi sel epidermis. *T-box expressed in T cells* (T-bet) merupakan faktor transkripsi yang mengatur diferensiasi sel T helper 1 (Th1) dan produksi sitokin proinflamasi seperti IFN- $\gamma$ . Pada psoriasis, ekspresi T-bet meningkat dan mendorong aktivasi jalur imun Th1 yang berkontribusi pada inflamasi kronis kulit. Sementara itu, Ki-67 adalah penanda proliferasi sel yang diekspresikan selama fase aktif siklus sel, terutama digunakan untuk menilai tingkat hiperproliferasi keratinosit pada epidermis psoriatik. Penelitian melaporkan bahwa ekspresi Ki-67 pada jaringan kulit psoriasis jauh lebih tinggi dibandingkan dermatosis lain dan berkorelasi positif dengan derajat keparahan penyakit *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI). Dengan demikian, peningkatan

T-bet mencerminkan aktivasi imun yang berlebihan, sedangkan peningkatan Ki-67 menunjukkan hiperproliferasi epidermis; keduanya saling berkaitan dalam membentuk gambaran khas psoriasis berupa inflamasi kronis dan penebalan kulit.<sup>3,11,12</sup>

Berbagai studi eksperimental menunjukkan bahwa *exosome* dari MSC efektif menekan peradangan psoriasiform dan mengurangi hiperplasia epidermis, pada model *mice IMQ-induced*, hUCMSC-Exo secara signifikan menurunkan ekspresi IL-17, IL-23, CCL20, dan menghambat fosforilasi STAT3, sehingga memperbaiki inflamasi dan proliferasi epidermal.<sup>6</sup> Penelitian menunjukkan MSC memperbaiki skor klinis, menurunkan ketebalan epidermis, menekan ekspresi TNF- $\alpha$  dan IL-17A, serta mempengaruhi diferensiasi T-sel (menghambat Th1/Th17 dan menginduksi Treg).<sup>7, 8</sup> *Exosome* (seperti IFN $\gamma$ -MSC-sEVs lebih lanjut menunjukkan peningkatan efikasi dalam mereduksi lesi, infiltrasi sel imun, dan menurunkan jumlah sel Ki-67 di kulit, yang juga menekan jalur NF- $\kappa$ B dan *cytokine signaling*.<sup>6,9</sup>

*Exosome* berperan sebagai sistem penghantar alami yang dapat menembus lapisan epidermis dan berinteraksi langsung dengan sel keratinosit serta sel imun yang terlibat dalam patogenesis psoriasis. Melalui mekanisme ini, *exosome* membantu meningkatkan penyerapan obat ke area kulit yang mengalami peradangan, mengurangi ekspresi gen proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-23, IL-6, dan IL-15, serta menurunkan efek sitotoksik yang biasanya muncul pada pemberian obat bebas. Dengan demikian,

pemanfaatan *exosome* bertujuan untuk memperbaiki peradangan kulit, menormalkan proliferasi keratinosit, dan mengurangi efek samping sistemik, sehingga diharapkan menghasilkan terapi psoriasis yang lebih efektif dan aman.<sup>13</sup>

Penelitian yang dilakukan oleh Zhou *et al.* menunjukkan bahwa *exosome* MSC (nor@MSC-EVs) secara efektif mengurangi sel Ki-67 (marker proliferasi) dalam model psoriasis tikus, menunjukkan efek antiproliferatif yang relevan dengan penurunan hiperplasia epidermal. Meskipun data langsung tentang T-bet masih terbatas, efek *exosome* dalam menghambat jalur STAT3, IL-17, dan IL-23 menunjukkan potensi modulasi pada jalur imun Th1/Th17 yang terkait dengan T-bet. Dengan menurunnya inflamasi dan ekspresi cytokine Th1/Th17, dapat diperkirakan bahwa T-bet juga akan menurun secara fungsional. Selain itu, mekanisme *exosome* yang meningkatkan Treg dan menekan Th1/Th17 mendukung kemungkinan penurunan ekspresi T-bet sebagai bagian dari perubahan keseimbangan imun.<sup>6-9</sup>

Penelitian lain melaporkan Efek terapeutik MSC pada psoriasis.<sup>10</sup> Namun demikian, penelitian mengenai pengaruh EH-MSC terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 masih sangat terbatas sehingga masih perlu untuk dilakukan kajian.

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 Pada Tikus *psoriasis like* yang diinduksi IMQ?

## 1.3. Tujuan Penelitian

### 1.3.1. Tujuan Umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah mengetahui pengaruh *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 yang diinduksi IMQ Pada Tikus Wistar *psoriasis-like*.

### 1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Ekspresi T-Bet antar kelompok yang diberikan *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* dosis 100 µl/ekor dan 200 µl/ekor dibandingkan kelompok kontrol.

1.3.2.2. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Ekspresi Ki-67 antar kelompok *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* dosis 100 µl/ekor dan 200 µl/ekor dibandingkan kelompok kontrol.

#### 1.4. Originalitas Penelitian

**Tabel 1.1. Originalitas Penelitian**

No	Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
1.	Borade, S., Belgaumkar, V. A., Chavan, R. B., Bhatt, N., & Deshmukh, N. S. (2020). <sup>11</sup>	<i>Evaluation of IHC Ki-67 with Clinical Correlation in Psoriasis</i>	Studi observasional; pemeriksaan imunohistoki mia (IHC) Ki- 67 pada sampel kulit penderita psoriasis, dikorelasikan dengan temuan klinis	Ekspresi Ki-67 meningkat signifikan pada lesi psoriasis dibandingkan kulit normal; tingkat ekspresi berhubungan dengan tingkat keparahan klinis psoriasis.
2.	Lun-Fei Liu, Ji- Su Chen, Ji-Yang Shen, Ting-Ting Dou, Jiong Zhou, Sui-Qing Cai, Min Zheng (2018). <sup>12</sup>	<i>Ustekinumab treats psoriasis by suppressing RORC and T-box but its suppression of GATA restrains its efficacy</i>	Penelitian klinis eksperimental dengan desain crossover terkontrol plasebo acak. Sampel 30 pasien psoriasis dibagi menjadi kelompok ustekinumab dan plasebo. Pengukuran PASI dan ekspresi mRNA RORC, T- BOX, GATA, dan FOXP3 menggunakan qPCR pada minggu 0, 12, dan 24	Ustekinumab menurunkan ekspresi RORC, T- BOX, dan GATA secara signifikan, tetapi tidak mempengaruhi FOXP3. Efek klinis maksimal dicapai setelah 2 kali injeksi. Penekanan terhadap GATA berpotensi membatasi efektivitas terapi
3.	Dehghani P, Varshosaz J, Mirian M, Minaiyan M, Kazemi M,	<i>Keratinocyte Exosomes for Topical Delivery of Tofacitinib in Treatment of</i>	Uji <i>in vitro</i> dan <i>in vivo</i>	<i>Exosome</i> yang membungkus TFC menunjukkan sitotoksitas yang lebih rendah dalam

No	Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
	Bodaghi M.2024. <sup>13</sup>	<i>Psoriasis: an In Vitro/ In Vivo Study in Animal Model of Psoriasis</i>		uji MTT, penekanan ekspresi gen TNF-a, IL-23, IL-6 , dan IL-15 yang lebih tinggi dalam PCR waktu nyata dan efek terapeutik yang lebih baik pada model hewan dibandingkan dengan TFC bebas.
4.	XiaoJuan Lu1, Hao Wang, Hongwei Wang, Fan Xie, Cuibao Jiang, Danpeng Shen, Hongpeng Zhang, Jie Yang and Youshu Lin, 2022. <sup>14</sup>	<i>Indirubin combined with umbilical cord mesenchymal stem cells to relieve psoriasis-like skin lesions in BALB/c mice</i>	Eksperimental <i>in vivo</i>	Baik hUC-MSC maupun indirubin dapat secara efektif mengurangi lesi mirip psoriasis pada tikus BALB/c, dan pemberian gabungan obat ini memberikan efek terbaik.
5.	Nanna Philbert Engel-Andreasen et al.,2024. <sup>15</sup>	<i>Biologics Used for Psoriasis: A Drug Utilization Study Based on Two Nationwide Danish Data Sources</i>	Analisis data sekunder dari registri kesehatan dan basis data klinis	ekinumab, dan secukinumab adalah pengobatan pilihan pertama yang paling umum. Banyak pengguna memiliki lebih dari satu episode pengobatan. Ustekinumab menunjukkan kelangsungan hidup obat terpanjang.
6.	Kim SA, Ryu YW, Kwon JI, Choe MS, Jung JW, dan Cho JW (2018). <sup>31</sup>	<i>Differences in the expression of cyclin D1, Ki-67, pRb, and p53 in psoriatic skin lesions and normal skin</i>	Analisis imunohistokimia dilakukan untuk membandingkan ekspresi cyclin D1, Ki-67, pRb, dan	Adalimumab, ust Ekspresi cyclin D1, Ki-67, dan p53 meningkat secara signifikan pada kulit psoriasis, sedangkan pRb menurun. Hasil ini

No	Peneliti, Tahun	Judul	Metode	Hasil
			p53 pada jaringan lesi kulit psoriasis dan kulit normal..	menunjukkan adanya peningkatan proliferasi keratinosit dan disregulasi kontrol siklus sel pada psoriasis.

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi psoriasis, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 Pada Tikus Wistar *Psoriasis Like* yang diinduksi IMQ sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

## 1.5. Manfaat penelitian

### 1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *exosome hypoxia mesenchymal stem cell* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 Pada Tikus Wistar *Psoriasis-like* yang diinduksi IMQ.

### 1.5.2. Manfaat Praktis

1.5.2.1. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk alternatif terapi lanjutan

1.5.2.2. Hasil penelitian ini dapat menjadi tambahan landasan teori bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan peran

*exosome hypoxia mesenchymal stem cell* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 Pada Tikus *Psoriasis Like* yang diinduksi IMQ.

1.5.2.3. Hasil penelitian ini dapat memberikan pengetahuan yang berguna bagi masyarakat mengenai kegunaan *Exosome Hypoxia MSC* untuk perlindungan kulit.



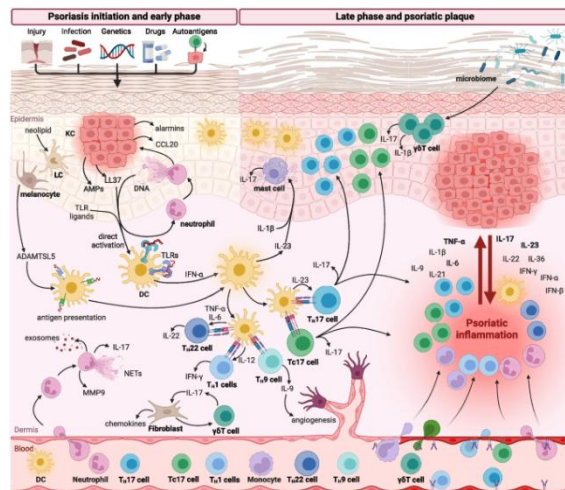
## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Psoriasis**

##### **2.1.1. Definisi**

Psoriasis adalah kondisi kulit kronis yang relatif umum yang mempengaruhi orang-orang dari segala usia, etnis, dan jenis kelamin. Psoriasis juga merupakan kondisi kulit autoimun kronis yang ditandai dengan pertumbuhan sel kulit yang cepat dan berlebihan, yang menyebabkan pembentukan bercak tebal, merah, dan bersisik di permukaan kulit. Bercak ini dapat terasa gatal dan nyeri, serta dapat menyebabkan ketidaknyamanan bagi pasien yang mengalami kondisi ini. Terdapat komponen genetik pada psoriasis, dan individu dengan riwayat keluarga dengan kondisi tersebut berisiko lebih tinggi. Menurut literatur ilmiah, beberapa gen yang terkait dengan regulasi sistem imun dan pertumbuhan sel kulit memainkan peran penting dalam perkembangan penyakit ini. Namun, psoriasis adalah kondisi multifaktorial, karena faktor-faktor tertentu lainnya dapat memicu atau memperburuk gejala psoriasis. Ini termasuk stres, infeksi, dan cedera pada kulit. Terapi untuk psoriasis bertujuan untuk meringankan gejala, mengurangi peradangan, dan memperlambat pertumbuhan sel kulit yang berlebihan.<sup>16</sup>



**Gambar 2.1.** Disregulasi respons imun pada psoriasis.<sup>17</sup>

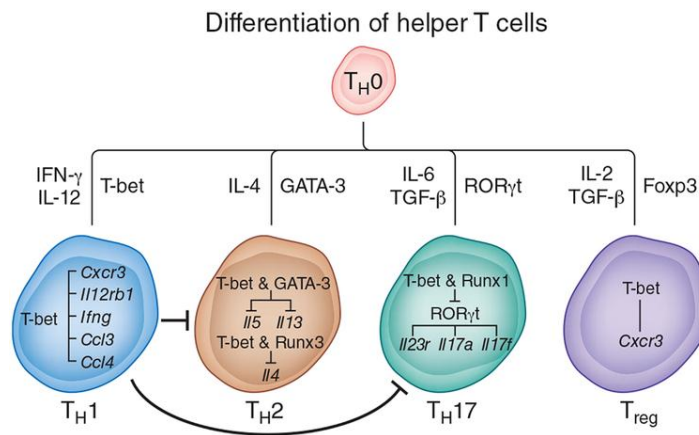
Psoriasis dapat dipicu oleh berbagai faktor, termasuk cedera kulit (fenomena Koebner), infeksi, obat-obatan, dan autoantigen pada individu yang memiliki predisposisi. Pada fase awal psoriasis, neutrofil menyusup ke kulit dan melepaskan perangkap ekstraseluler neutrofil (NET), eksosom, metaloproteinase 9 (MMP9), dan IL-17. Keratinosit yang teraktivasi (KC) memiliki kapasitas proliferasi yang meningkat dan menghasilkan berbagai faktor pro-inflamasi, termasuk kemokin, peptida antimikroba (AMP), dan alarmin. Sel dendritik (DC) diaktifkan oleh ligan reseptor mirip tol (TLR) dan AMP yang memulai respons imun sel T. DC mengaktifkan berbagai sel T, termasuk sel Th17 dan Tc17 yang memproduksi IL-17, sel Th 9 yang memproduksi IL-9, sel Th 1 yang memproduksi IFN- $\gamma$ , dan sel Th 22 yang memproduksi IL-22. Lebih lanjut, DC dan sel Langerhans (LC) dapat menghadirkan autoantigen yang merangsang sel T autoreaktif. Mikrobioma kulit yang terganggu mengaktifkan sel

T  $\gamma\delta$  yang memproduksi IL-17 dan IL-1 $\beta$ . Pada fase akhir peradangan, lesi psoriasis ditandai dengan infiltrasi sel imun yang mendalam, peningkatan konsentrasi beberapa sitokin dan kemokin, dan hiperproliferasi KC. Selain itu, peningkatan angiogenesis dan sel endotel yang diaktifkan oleh sitokin psoriasis memfasilitasi infiltrasi sel imun ke dalam kulit yang meradang.<sup>17</sup>

## 2.2. *T-box expressed in T cells (T-Bet)*

### 2.2.1. Definisi

*T-box expressed in T cells (T-Bet)* adalah faktor transkripsi kunci yang mengatur diferensiasi sel T CD4<sup>+</sup> menuju fenotipe Th1 serta produksi sitokin proinflamasi, khususnya interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). Molekul ini tidak hanya berperan penting dalam respons imun melawan infeksi intraseluler, tetapi juga memiliki keterlibatan dalam regulasi berbagai sel imun lain termasuk sel NK, NKT, dan subset sel B. Aktivitas T-bet berfungsi sebagai penghubung antara sistem imun bawaan dan adaptif, sehingga ketidakseimbangan ekspresinya dapat berkontribusi pada perkembangan penyakit autoimun, inflamasi kronis, maupun kanker, menjadikannya faktor sentral dalam homeostasis dan patologi sistem imun.<sup>18</sup>



**Gambar 2.2.** Peran T-bet dalam diferensiasi sel T pembantu.<sup>18</sup>

Ketika sel T CD4<sup>+</sup> naif diaktifkan oleh IFN- $\gamma$  dan IL-12, sel-sel tersebut akan berdiferensiasi menjadi subset Th1. Proses ini tergantung pada faktor transkripsi T-bet, yang diatur oleh sinyal dari TCR dan IFN- $\gamma$ . T-bet meningkatkan regulasi gen untuk reseptor IL-12 dan memicu respons IL-12, melanjutkan ekspresi T-bet. T-bet mendorong diferensiasi Th1 dengan meningkatkan regulasi IFN- $\gamma$  dan menginduksi gen untuk mobilisasi leukosit. Selain itu, T-bet menekan diferensiasi Th2 dan Th17 dengan menghalangi faktor transkripsi sel-sel tersebut. Dalam sel T reg, T-bet penting untuk regulasi CXCR3 dan aktivitas supresifnya dalam beberapa model penyakit autoimunitas.<sup>18</sup>

### 2.2.2. Peran T-Bet pada Psoriasis dan Penekanan Respons Th2

T-bet berperan penting dalam patogenesis psoriasis dengan mengatur diferensiasi dan fungsi sel T efektor, khususnya sel Th1. Pada psoriasis, TBX21 (T-bet) mendorong dominasi Th1 melalui peningkatan IFN- $\gamma$  dan secara aktif menekan Th2 (IL-4/IL-5/IL-13)

melalui antagonisme terhadap GATA-3. Ketidakseimbangan ini berkontribusi pada inflamasi kronik khas psoriasis. T-bet menginduksi ekspresi interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), sebuah sitokin proinflamasi utama yang memicu aktivasi sel imun lain serta meningkatkan produksi mediator inflamasi di kulit psoriatik. Aktivasi T-bet yang berlebihan berkontribusi pada dominasi respons imun Th1 yang memperparah inflamasi kronis, disfungsi sawar kulit, dan hiperproliferasi keratinosit. Hal ini menjadikan T-bet salah satu faktor transkripsi kunci yang menghubungkan disregulasi sel T efektor dengan progresivitas psoriasis.<sup>19</sup>

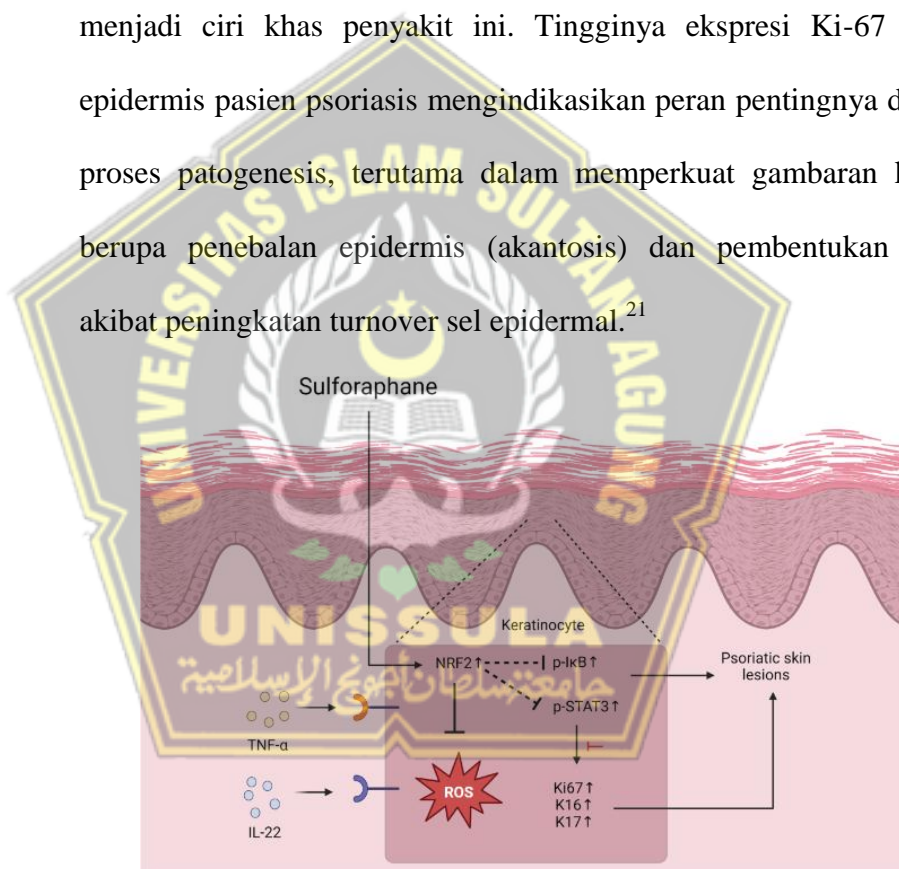
## **2.3. Ki-67**

### **2.3.1. Definisi**

Ki-67 adalah protein nuklear yang secara luas digunakan sebagai penanda proliferasi sel karena diekspresikan pada semua fase siklus sel aktif (G1, S, G2, dan M) tetapi tidak pada fase istirahat (G0). Protein ini memiliki peran penting dalam mengatur organisasi kromatin dan pemisahan kromosom selama mitosis, sehingga fungsi Ki-67 tidak hanya terbatas sebagai indikator pertumbuhan sel, tetapi juga berkontribusi pada dinamika struktural nukleus. Oleh karena itu, Ki-67 dipandang sebagai biomarker yang bernilai diagnostik dan prognostik, khususnya dalam penelitian kanker dan penyakit proliferasi lainnya.<sup>20</sup>

### 2.3.2. Peran Ki-67 pada Psoriasis

Ki-67 adalah penanda proliferasi sel yang diekspresikan pada inti sel selama semua fase siklus sel aktif kecuali fase G<sub>0</sub>, sehingga mencerminkan aktivitas proliferaatif jaringan. Pada psoriasis, ekspresi Ki-67 meningkat signifikan dibandingkan dengan psoriasiform dermatitis, menunjukkan adanya hiperproliferasi keratinosit yang menjadi ciri khas penyakit ini. Tingginya ekspresi Ki-67 pada epidermis pasien psoriasis mengindikasikan peran pentingnya dalam proses patogenesis, terutama dalam memperkuat gambaran klinis berupa penebalan epidermis (akantosis) dan pembentukan plak akibat peningkatan turnover sel epidermal.<sup>21</sup>



**Gambar 2.3.** Mekanisme penggerak dampak terapeutik SFN dalam memerangi psoriasis.<sup>32</sup>

Ekspresi Ki-67 meningkat pada kulit psoriatik akibat aktivasi jalur inflamasi seperti STAT3 dan NF-κB yang dipicu oleh sitokin proinflamasi TNF-α dan IL-22. Aktivasi jalur ini menyebabkan hiperproliferasi keratinosit yang merupakan ciri khas lesi psoriatik.

Namun, pemberian sulforaphane menekan ekspresi Ki-67 melalui aktivasi NRF2, yang memperkuat pertahanan antioksidan dan menurunkan stres oksidatif (ROS). Penurunan ROS selanjutnya menghambat fosforilasi STAT3 serta menurunkan ekspresi gen proliferasi seperti K16, K17, dan Ki-67. Dengan demikian, sulforaphane mampu menghambat siklus proliferasi keratinosit berlebih dan memperbaiki struktur epidermis, yang secara keseluruhan berkontribusi pada perbaikan lesi kulit psoriasis.<sup>32</sup>

#### **2.4. *Exosome Mesenchymal Stem Cells (E-Msc)***

##### **2.4.1. Definisi**

*Exosome* adalah vesikel lipid dwilapis yang berbentuk bulat dan memiliki diameter yang bervariasi dari 30 hingga 150 nm. *Exosome* menunjukkan pengayaan selektif untuk biomolekul yang berbeda, seperti glikoprotein membran, lipid, dan protein spesifik sel lainnya, selain beberapa jenis asam nukleat. Sel punca mesenkimal (MSC) adalah sel stroma multilineage yang berdiferensiasi dengan sifat imunomodulatori dan antiinflamasi yang luas. MSC dan eksosom turunan MSC memainkan peran penting dalam memodulasi peradangan dan perbaikan jaringan pada psoriasis.<sup>22</sup>

##### **2.4.2. Kandungan *Exosome* MSC**

*Exosome* yang berasal dari *mesenchymal stem cells (EH-MSCs)* membawa beragam molekul bioaktif yang berpotensi dimanfaatkan

sebagai terapi pada psoriasis. Beberapa komponen utama di dalam *exosome* MSC berperan dalam mekanisme perbaikan kondisi tersebut.

a. miRNA (*MicroRNA*)

*Exosome* MSC mengandung sejumlah miRNA yang diketahui memiliki peran penting pada psoriasis. MikroRNA adalah molekul RNA non-coding kecil yang terlibat dalam pembungkaman RNA dan regulasi pasca-transkripsi ekspresi gen, yang juga tampaknya memediasi disfungsi imun pada psoriasis.<sup>23</sup>

b. Protein dan Enzim

*Exosome* yang mengandung T-Bet berpotensi dalam mengatur berbagai proses biologis, termasuk respons imun. *Exosome MSC* *Exosome-encapsulated* miRNAs dapat meningkatkan polarisasi M2 makrofag. Ki-67 memiliki peran sebagai penanda aktivitas proliferasi (pembelahan) sel epidermis dan sel imun dalam psoriasis, yang menunjukkan peningkatan jumlah sel yang aktif membelah.

c. Lipida

Komponen lipida dalam *exosome* MSC juga memainkan peran dalam memodulasi respon seluler dan menjaga integritas membran sel. Komponen lipid dalam *exosome* MSC, khususnya

fosfolipid, berperan penting dalam berkomunikasi antar sel pada psoriasis.<sup>24</sup>

d. *Cytokine dan Growth Factors*

*Exosome* yang mengandung T-Bet berpotensi dalam mengatur berbagai proses biologis, termasuk respons imun. Ki-67 memiliki peran sebagai penanda aktivitas proliferasi (pembelahan) sel epidermis dan sel imun dalam psoriasis, yang menunjukkan peningkatan jumlah sel yang aktif membelah.

### 2.4.3. Metode Isolasi *Exosome* MSC

Isolasi *exosome* dari mesenchymal stem cell (MSC) dari medium kultur adalah proses penting untuk mempelajari fungsi dan aplikasi terapinya. Beberapa metode isolasi telah dikembangkan untuk memastikan kemurnian dan integritas *exosome* yang diisolasi. Berikut adalah beberapa metode yang umum digunakan:

a. *Ultrasentrifugasi Diferensial*

Teknik ini merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mengisolasi *exosome*. Prosedurnya terdiri dari beberapa tahap sentrifugasi dengan kecepatan bertahap untuk memisahkan sel, sisa-sisa seluler, serta partikel berukuran lebih besar. Pada tahap awal, medium kultur disentrifugasi pada kecepatan rendah guna menghilangkan sel utuh dan debris berukuran besar. Supernatan yang diperoleh kemudian diproses kembali dengan sentrifugasi pada kecepatan yang lebih tinggi

untuk mengendapkan mikrovesikel serta partikel yang ukurannya lebih besar dibandingkan *exosome*. Akhirnya, supernatan disentrifugasi pada kecepatan sangat tinggi (100,000-120,000 x g) untuk mengendapkan *exosome*. *Pellet exosome* kemudian dicuci dan disentrifugasi ulang untuk meningkatkan kemurnian.<sup>25</sup>

b. Ultrafiltrasi

Metode ini menggunakan membran filter dengan ukuran pori tertentu untuk memisahkan *exosome* berdasarkan ukuran. Medium kultur difiltrasi melalui membran untuk menghilangkan partikel yang lebih besar dan molekul kecil, sementara *exosome* tertahan di membran. Ultrafiltrasi sering digunakan sebagai langkah tambahan setelah ultracentrifugasi untuk meningkatkan kemurnian *exosome*.<sup>25</sup>

c. Kromatografi Afinitas

Teknik ini didasarkan pada interaksi selektif antara molekul yang terdapat pada permukaan *exosome* dan ligan yang terimobilisasi pada matriks kromatografi. Antibodi yang mengenali marker permukaan *exosome*, seperti CD63, CD81, dan CD9, umumnya digunakan dalam metode ini. Medium kultur dialirkan melalui kolom yang mengandung ligan tersebut, sehingga *exosome* dengan marker permukaan yang sesuai akan berikatan dan tertahan di kolom, kemudian dapat dilepaskan kembali melalui proses elusi.<sup>25</sup>

#### d. Presipitasi Polimer

Metode ini melibatkan penggunaan polimer, seperti *polyethylene glycol* (PEG), yang menginduksi presipitasi *exosome* dari medium kultur. Polimer ini ditambahkan ke medium kultur dan diinkubasi, kemudian campuran disentrifugasi pada kecepatan rendah untuk mengendapkan *exosome*. Metode ini relatif cepat dan sederhana, namun bisa menghasilkan *exosome* dengan kemurnian yang lebih rendah dibandingkan metode lain.<sup>25</sup>

#### e. Isolasi Berdasarkan Densitas

Teknik ini menggunakan gradien densitas, seperti sukrosa atau iodixanol, untuk memisahkan *exosome* sesuai karakteristik densitasnya. Medium kultur ditempatkan pada media gradien tersebut lalu disentrifugasi dengan kecepatan tinggi. *Exosome* akan bermigrasi dan terkumpul pada lapisan yang sesuai dengan densitasnya, sehingga fraksi tersebut dapat diambil secara terpisah untuk analisis lebih lanjut.<sup>2</sup>

## BAB III

### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

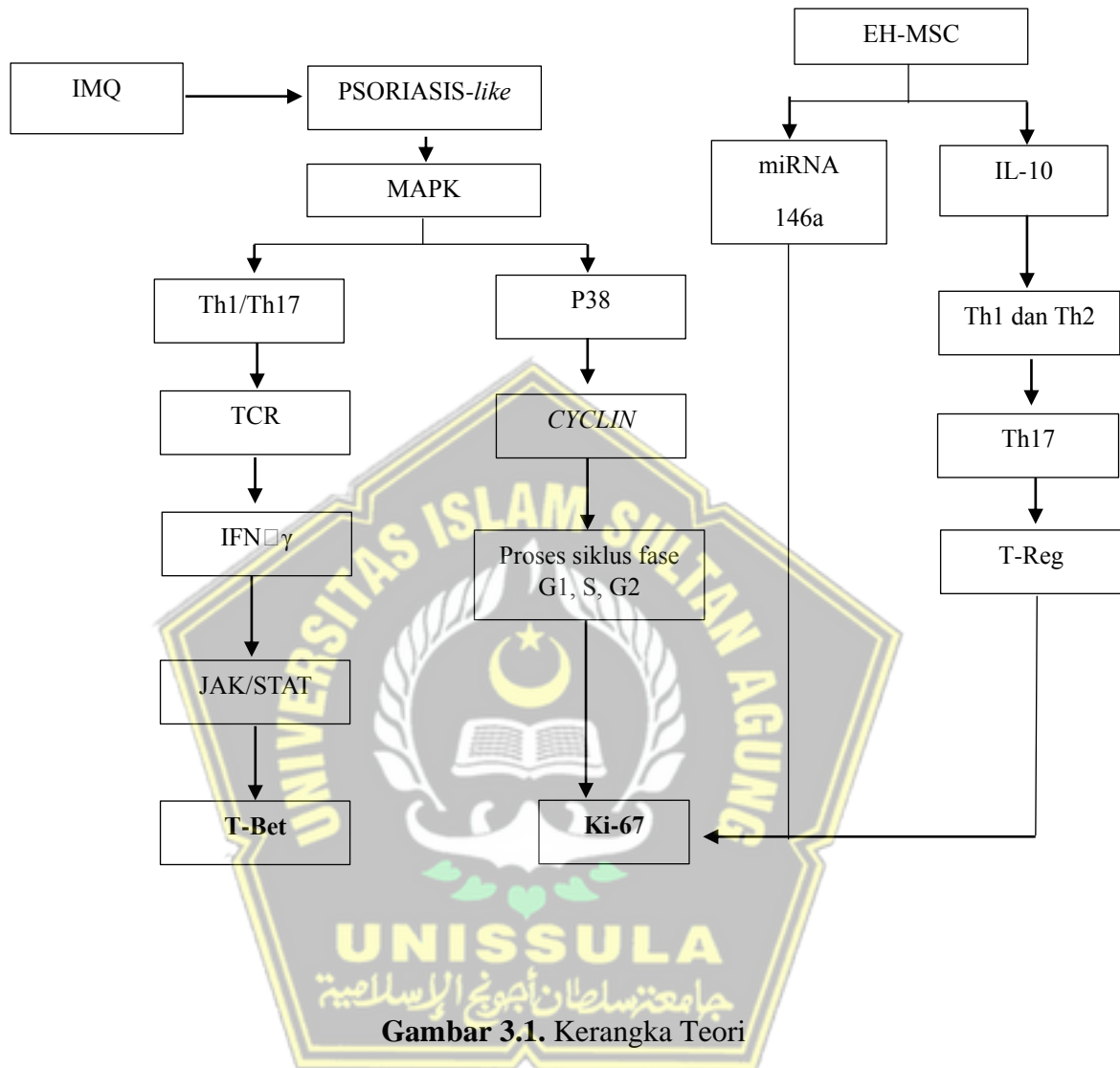
#### 3.1. Kerangka Teori

Salah satu model yang paling sering digunakan untuk meniru proses psoriasis secara eksperimental adalah pemberian *Imiquimod* (IMQ), suatu agonis reseptor Toll-like 7/8 yang menstimulasi respon imun bawaan dan adaptif. Aplikasi topikal IMQ pada kulit mencetuskan inflamasi mirip psoriasis melalui aktivasi sel dendritik dan produksi sitokin proinflamasi seperti IL-23 dan IL-17. Respons ini selanjutnya memicu hiperproliferasi keratinosit dan aktivasi jalur *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), yang berperan dalam regulasi pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis keratinosit. *Imiquimod* (IMQ) menginduksi stres oksidatif dan mengaktifkan p38/MAPK yang mempercepat proliferasi epidermal dan inflamasi kulit mirip psoriasis.<sup>17,26</sup>

Pasca induksi psoriasis dengan IMQ, aktivasi jalur imun adaptif menjadi dominan, terutama melalui aktivasi sel T helper tipe 1 (Th1) dan tipe 17 (Th17). Aktivasi reseptor sel T (TCR) meningkatkan produksi sitokin seperti *interferon-gamma* (IFN- $\gamma$ ) dan *interleukin-17* yang berperan dalam inflamasi kronik. Jalur JAK/STAT yang diaktifkan oleh IFN- $\gamma$  kemudian menginduksi faktor transkripsi T-Bet yang memperkuat diferensiasi Th1. Di sisi lain, aktivasi p38 MAPK memacu ekspresi cyclin yang berperan dalam siklus sel fase G1, S, dan G2, menghasilkan peningkatan marker proliferasi seperti Ki-67. Terapi berbasis *Exosome*

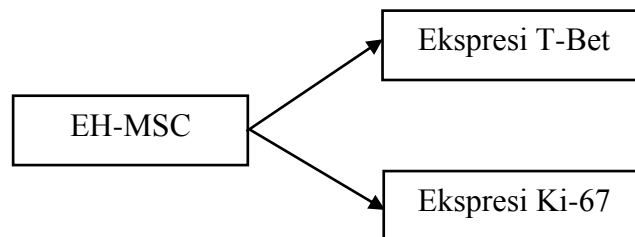
*Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSC) berpotensi menekan jalur inflamasi ini melalui sekresi miRNA dan IL-10 yang menyeimbangkan rasio Th1/Th17 terhadap Treg, sehingga mengurangi kerusakan jaringan kulit.  
19,27,28

Penelitian ini mengusulkan T-Bet dan Ki-67 sebagai marker utama dalam penelitian ini karena T-Bet merupakan faktor transkripsi penting yang mengatur diferensiasi sel Th1 dan produksi IFN- $\gamma$ , sehingga mencerminkan aktivitas imun adaptif yang berperan pada fase inflamasi psoriasis yang diinduksi oleh IMQ. Peningkatan T-Bet menunjukkan dominasi respon Th1 dan aktivasi jalur JAK/STAT yang memperparah inflamasi kulit. Sementara itu, Ki-67 adalah protein nuklear yang diekspresikan selama fase aktif siklus sel dan menjadi indikator proliferasi keratinosit yang berlebihan pada lesi psoriatik. Dengan mengukur kedua marker ini, penelitian dapat menggambarkan dua aspek utama dari patogenesis psoriasis, yaitu komponen imun dan proliferasi seluler. T-Bet berperan langsung dalam diferensiasi Th1 dan peningkatan lesi psoriatik, sedangkan ekspresi Ki-67 berhubungan erat dengan tingkat keparahan lesi psoriasis.<sup>11,18,29,30</sup>



Gambar 3.1. Kerangka Teori

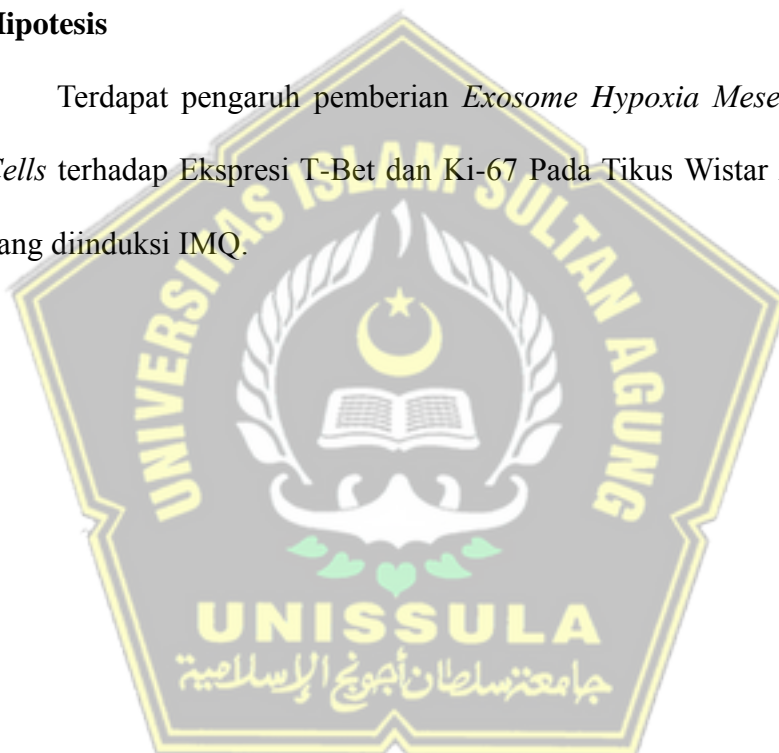
### 3.2. Kerangka Konsep



**Gambar 3.2.** Kerangka Konsep

### 3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi T-Bet dan Ki-67 Pada Tikus Wistar *Psoriasis Like* yang diinduksi IMQ.

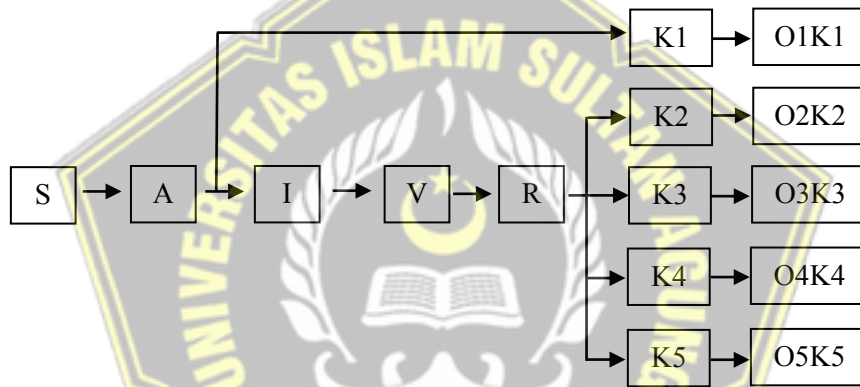


## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

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



**Gambar 4.1.** Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Sampel

A = Aklimatisasi hewan coba

I = Induksi *Imiquimod* (IMQ) جامعۃ

V = Validasi

R = Randomisasi hewan coba

Kelompok 1 = Tikus sehat, tidak diberi perlakuan

Kelompok 2 = Tikus diinduksi IMQ dengan diberi NaCl 0,9%

Kelompok 3 = Tikus diinduksi IMQ dengan diberi Mtx 25mg per minggu selama 12 minggu

Kelompok 4 = Tikus diinduksi IMQ dengan diberi *Exosome Hypoxia* MSC 100 µl/ekor

Kelompok 5 = Tikus diinduksi IMQ dengan diberi *Exosome Hypoxia* MSC 200 µl/ekor

O1K1 = Observasi Ekspresi T-Bet dan Ki-67 kelompok K1

O2K2 = Observasi Ekspresi T-Bet dan Ki-67 kelompok K2

O3K3 = Observasi Ekspresi T-Bet dan Ki-67 kelompok K3

O4K4 = Observasi Ekspresi T-Bet dan Ki-67 kelompok K4

O5K5 = Observasi Ekspresi T-Bet dan Ki-67 kelompok K5

## 4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 4.2.1. Variabel Penelitian

- a. Variabel Bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Exosome Hypoxia* MSC
- b. Variabel Tergantung penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi T-Bet dan Ki-67
- c. Variabel Prakondisi penelitian ini adalah pemberian IMQ secara topikal. Validasi HE dilihat perubahan histopatologi kulit dan dilihat dari sel keratinosit, limfosit, neutrofil dan makrofag.

### 4.2.2. Definisi Operasional

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

*Exosome* dari *mesenchymal stem cell* (MSC) adalah vesikel ekstraseluler yang mengandung berbagai molekul bioaktif seperti miRNA, protein, dan lipida yang berkontribusi pada regenerasi jaringan, anti-inflamasi, dan modulasi imun. *Exosome Hypoxia* MSC diisolasi dengan metode TFF. Media kultur disaring menggunakan filter 100 kDa dan 500 kDa. Validasi dilakukan dengan *flow cytometry* menggunakan penanda CD81, CD63, dan CD9. *Exosome Hypoxia* MSC yang tervalidasi disimpan di tabung 2,5 mL pada suhu 2-8 °C. Injeksi *exosome* terbagi dalam beberapa kelompok yaitu kelompok K4 diberikan EH-MSC dosis 100 µl/ekor dan kelompok K5 diberikan EH-MSC dosis 200 µl/ekor.

Skala: Ordinal

b. Ekspresi T-Bet

*T-box expressed in T cells* (T-bet) adalah faktor transkripsi kunci yang mengatur diferensiasi sel T CD4<sup>+</sup> menuju fenotipe Th1 serta produksi sitokin proinflamasi, khususnya interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). T-bet berperan penting dalam patogenesis psoriasis dengan mengatur diferensiasi dan fungsi sel T efektor, khususnya sel Th1. Faktor transkripsi T-Bet dapat menurunkan regulasi yang signifikan pada lesi kulit psoriasis. Pada Tikus yang diinduksi oleh IMQ, pemberian *exosome hypoxia* MSC dapat menurunkan ekspresi T-Bet pada tikus yang diinduksi psoriasis. Diukur menggunakan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*) dari kulit tikus setelah perlakuan dengan *exosome hypoxia* MSC.

Skala: Rasio

c. Ekspresi Ki-67

Ki-67 adalah penanda proliferasi sel yang diekspresikan pada inti sel selama semua fase siklus sel aktif kecuali fase G0, sehingga mencerminkan aktivitas proliferaif jaringan. Pada psoriasis, ekspresi Ki-67 meningkat signifikan dibandingkan dengan psoriasiform dermatitis, menunjukkan adanya hiperproliferasi keratinosit yang menjadi ciri khas penyakit ini. Pemberian *exosome hypoxia* MSC dapat meningkatkan Ekspresi

Ki-67 pada tikus yang telah diinduksi oleh IMQ. Diukur menggunakan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*) dari sampel kulit tikus setelah perlakuan dengan *exosome hypoxia* MSC.

Skala: Rasio

#### **4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian**

##### **4.3.1. Subyek penelitian**

Tikus Wistar berusia 6-8 minggu dengan berat 200-250 gram dipilih untuk penelitian ini setelah dianggap layak oleh dokter hewan dari Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Indonesia. Tikus dipelihara di lab berventilasi cukup dan suhu ruangan 20-28°C dengan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

##### **4.3.2. Sampel Penelitian**

###### **4.3.2.1. Kriteria Inklusi**

- a. Tikus Wistar
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Berat badan 200-250 g
- e. Tidak memiliki kelainan anatomi

#### 4.3.2.2. Kriteria Eksklusi

Tikus wistar yang di berikan IMQ tidak mengalami psoriasis.

#### 4.4. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 5 perlakuan dan besaran sampel dihitung menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow 5 \text{ (pembulatan)}$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan lima ekor sampel per perlakuan. Untuk menghadapi risiko mortalitas pada tikus, setiap kelompok ditambah sampel sebanyak satu ekor dari jumlah hitungan menjadi total enam ekor per perlakuan. Ditambahkan 2 tikus validasi sehingga total tikus 34 ekor.

#### 4.5. Alat dan Bahan

##### 4.5.1. Alat Penelitian

Peralatan kultur sel, termasuk Biosafety Cabinet (BSC), mikropipet, inkubator CO<sub>2</sub>, peralatan bedah, dan labu 25T, dipergunakan pada saat ini. Ruang hipoksia dipergunakan menciptakan kondisi yang diperlukan untuk kultur hipoksia. Konsentrasi oksigen di ruang hipoksia diukur menggunakan

pengukur oksigen. Selain itu, penyeka steril dipergunakan pada riset ini guna injeksi EH-MSCs dan IMQ dipergunakan dalam menginduksi gejala mirip psoriasis. Instrumen guna menganalisis ekspresi T-Bet dan Ki-67.

#### **4.5.2. Bahan Penelitian**

Bahan kultur yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tali pusat tikus, NaCl 0,9%, DMEM, FBS, PBS, fungizone, serta penstrep. Sementara itu, alkohol 70%, PBS, xylazine, ketamin, dan gel berbasis air digunakan sebagai bahan dalam prosedur pengobatan.

#### **4.6. Cara Penelitian**

##### **4.6.1. *Ethical clearance***

Setelah mendapatkan persetujuan dari pembimbing dan penguji *Ethical clearance* penelitian diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang.

##### **4.6.2. Pembuatan psoriasis dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan**

- a. Setelah 7 hari adaptasi, tikus diberikan kombinasi *xylazine* (20 mg/kgbb) dan ketamine (60 mg/kgbb) untuk menginduksi anestesi.
- b. Mencukur rambut pada tikus
- c. Tikus kelompok K1 tidak di berikan treatment apapun. Tikus

kelompok K2 sampai dengan K5 diberikan IMQ 5% / hari selama 7 hari

- d. Hari ke-15 dilakukan validasi
- e. Dilakukan injeksi intradermal pada punggung tikus. Injeksi NaCL dilakukan pada K2, injeksi Mtx pada K3, injeksi *Exosome Hypoxia* MSC dosis 100µl/ekor pada K4, dan injeksi *Exosome Hypoxia* MSC dosis 200µl/ekor pada K5
- f. Hari ke-22 dilakukan pemeriksaan sampel
- g. Jaringan yang telah dihomogenisasi disimpan dalam -80°C hingga proses analisis.
- h. Periksa ekspresi T-Bet dan Ki-67 menggunakan PCR sesuai protokol pabrik.

#### 4.6.3. Metode Validasi

- a. Validasi secara makroskopis pada hari ke-15 dimana dinyatakan positif jika daerah yang dicukur tidak menunjukkan kemerahan dan iritasi pada kulit
- b. Validasi mikroskopis dengan pewarnaan *Hematoksilin-Eosin* (HE) dimana dinyatakan mengalami psoriasis apabila pada hasil pengamatan ditemukan penebalan epidermis (akantosis), parakeratosis, hilangnya lapisan granulosum, serta infiltrasi sel-sel inflamasi pada dermis superficial. Untuk melakukan validasi mikroskopis dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Sampel kulit diperoleh dari masing-masing kelompok dan digunakan untuk membuat potongan histologis menggunakan pewarnaan HE dan teknik paraffin Sampel kulit tikus diperoleh dari masing-masing kelompok dan diawetkan dalam larutan NBF 10% atau *Neutral Buffer Formalin*
2. Sampel kulit dibersihkan dari sisa larutan fiksatif dengan membilasnya menggunakan alkohol 70%
3. Sampel ditandai dan ditempatkan dalam keranjang tisu setelah difiksasi dalam larutan BNF 10
4. Alkohol absolut dan alkohol bergradasi 70, 80%, 90%, dan 96% digunakan untuk mendehidrasi sampel jaringan
5. Sampel dimasukkan ke dalam toluol selama satu jam, atau hingga menjadi bening atau transparan
6. Sampel kemudian diinfiltrasi menggunakan parafin dalam oven bersuhu 56°C. Caranya dengan memasukkannya ke dalam kombinasi toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Masing-masing selama tiga puluh menit, sampel kulit direndam dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III
7. Kemudian sampel ditanam (*embedding*) dalam parafin dan *blocking* ditunggu hingga paraffin mengeras
8. Dengan menggunakan mikrotom, potong blok jaringan menjadi irisan berukuran 6µm. Kemudian letakkan potongan-

- potongan tersebut di atas permukaan kaca yang telah dilapisi perekat *Mayer Albumin*, ditetesi sedikit air suling, dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga menempel sempurna
9. Sebelum pewarnaan jaringan, parafin dihilangkan (*deparaffinisasi*) dengan *xylol* selama sehari penuh
  10. Pewarna HE digunakan untuk pewarnaan. Kertas kering digunakan untuk menyerap kandungan *xylol*, yang kemudian secara bertahap ditambahkan ke air sulingan dan larutan alkohol dengan persentase yang semakin rendah (96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30% ), masing-masing, untuk durasi 1- 2 menit
  11. Setelah jaringan diwarnai selama 5–10 detik dengan hematoksilin, jaringan dibilas lagi selama 10 menit dengan air mengalir
  12. Selama 3-5 menit, preparata direndam dalam alkohol masing-masing 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%
  13. Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2 menit. Kemudian dikeringkan dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 96%) masing-masing selama 3-5 menit
  14. Setelah 15 menit *clearing xylol*, balsam Kanada ditetaskan ke dalam sediaan histologi

15. Memasang *slide* jaringan dengan kaca penutup, memberi label, dan memasukkannya ke dalam kotak sediaan melengkapi prosedur ini.

#### 4.6.4. Terminasi dan pengambilan jaringan

- a. Sebelum melakukan pengambilan organ, matikan tikus dengan dosis koktail yang mematikan. *Ketamine* 60 mg/kgBB dan *Xylazine* 20 mg/kgBB diperlukan untuk membuat 10 mL *cocktail*
- b. Organ kulit diambil dari hewan percobaan pasca-eutanasia dan diawetkan dalam RNA *later* pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  dalam *cryotube* bebas RNAase.

#### 4.6.5. Ekstraksi RNA dan sintesis cDNA

- a. Sampel kulit dimasukkan ke dalam tube berisi 300 uL RNA *later*, kemudian disimpan dalam suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ .
- b. Sampel kulit sebanyak 50 mg lalu dimasukkan ke dalam tube berisi 1 mL Trizol, kemudian dilakukan proses homogenisasi menggunakan ultrasonikator serta diinkubasi di suhu ruang selama 5 menit.
- c. Sampel ditambahkan dengan 0.2 mL kloroform dan pada suhu ruang sampel di inkubasi selama 2-3 menit.
- d. Setelah itu sampel disentrifugasi selama 15 menit pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  dengan kecepatan  $12.000 \times g$ .
- e. Sampel akan membentuk tiga lapis larutan, sisi bawah berwarna

merah muda berisi protein, sisi tengah berwarna putih asap berisi DNA dan sisi atas berwarna bening berisi RNA (*aqueous phase*). Pisahkan *aquoeus phase* di sisi atas ke tube yang berbeda.

- f. Sampel *aqueous phase* kemudian ditambahkan 0.5 mL isopropanol, kemudian diresuspensi, di inkubasi selama 10 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 x g pada suhu 4°C selama 10 menit.
- g. Supernatant kemudian dibuang dan pellet ditambahkan dengan 1 mL 75% ethanol lalu diresuspensi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7500 x g di suhu 4°C selama 5 menit.
- h. Supernatant kemudian dibuang dan pellet RNA ditambahkan dengan 50 uL *nuclease-free water* (NFW).
- i. Konsentrasi sampel RNA kemudian dikuantifikasi menggunakan *uDrop microplate reader*.
- j. Sampel RNA sebanyak 0.1 ug dalam 1 uL kemudian ditambahkan 5 uL NFW dan dilakukan proses denaturasi dengan inkubasi di suhu 65°C selama 5 menit menggunakan *thermal cycler*.
- k. Selama 5 menit dengan memanfaatkan *thermal cycler* sampel RNA kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C lalu ditambahkan 2 uL 4x DN *Master Mix*.
- l. Selanjutnya ditambahkan 2 µL 5x RT *Master Mix*, dan *thermal cycler* dimanfaatkan guna menginkubasi campuran pada suhu

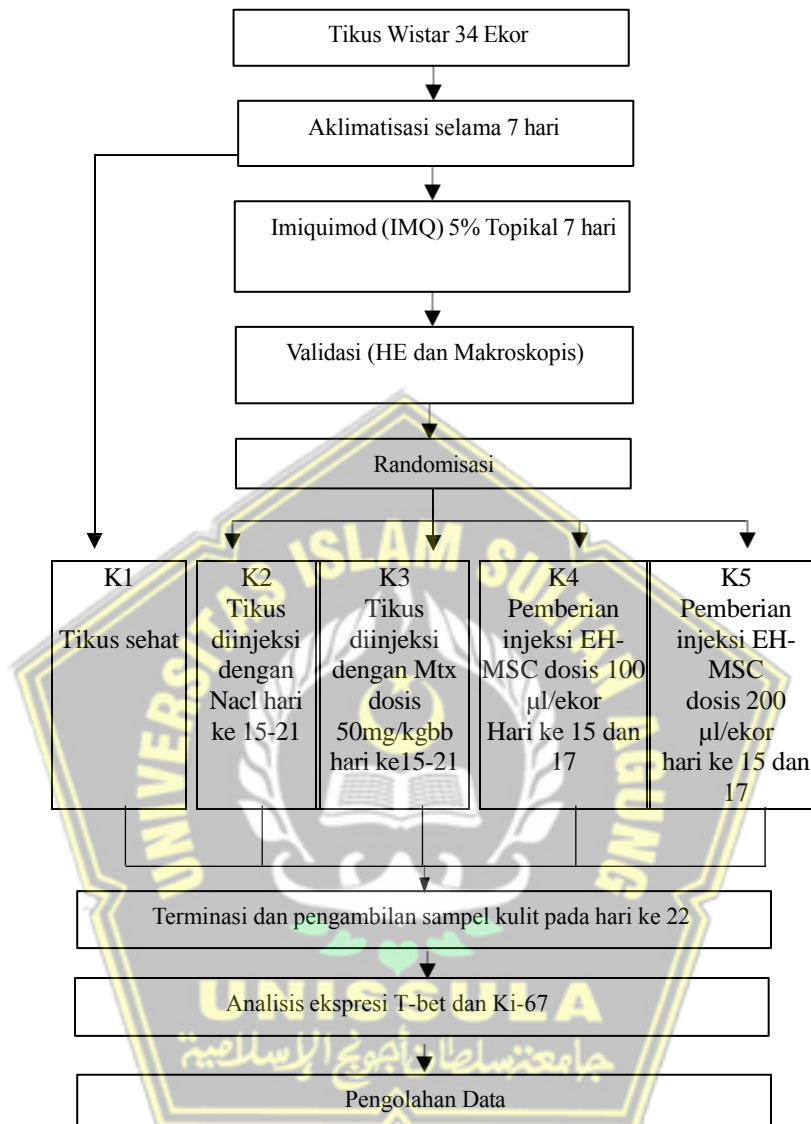
37°C selama 15 menit, 50°C selama 5 menit, dan 98°C selama 5 menit.

m. Sampel cDNA kemudian disimpan pada suhu -20 °C.

#### 4.6.6. Pembacaan T-Bet dan Ki-67 dengan *Real Time-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)*

- a. Dengan menggunakan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR)*, ekspresi T-Bet dan Ki-67 dianalisis.
- b. Lalu proses mencampuran 1 µL cDNA sampel, 2x SensiFAST SYBR No-ROX Mix sebanyak 10 µL, *forward primer* sebanyak 0.8 uL, *reverse primer* sebanyak 0.8 uL dan NFW sebanyak 7.4 uL.
- c. Primer T-Bet yang digunakan marker diferensiasi sel T helper 1 (Th1) F 5'- AAG GAA ACC GAA GGC CAG TT -3', R 5'- ACG GAA CCA TCG GTC AGA AG -3' dan Primer Ki-67 yang digunakan marker proliferasi sel F 5'- CTT TGC GCC ATG CTG AAA CT -3', R 5'- ATG ACG ACC TGG AAC ATC GG -3'.
- d. Proses qPCR dilakukan menggunakan suhu 95 ° C selama 2 menit, 95 ° C selama 5 detik dan 56 ° C selama 20 detik sebanyak 40 siklus. Proses qPCR dilakukan dengan menganalisis probe terhidrolisis pada panjang gelombang 520 nm.
- e. Dengan *Software EcoStudy* kuantifikasi data qPCR dilakukan.

#### 4.7. Alur Penelitian



**Gambar 4.2.** Alur Penelitian

#### 4.8. Analisa Data

Analisis data dilakukan melalui beberapa tahapan uji statistik. Uji Shapiro–Wilk digunakan untuk menentukan normalitas distribusi data, sedangkan Levene’s Test digunakan untuk menilai homogenitas varians antar kelompok.

Penelitian ini memiliki data berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) dan memiliki varians yang homogen ( $p > 0,05$ ), maka dilakukan uji One-Way ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan rerata antar kelompok. Jika hasil uji ANOVA menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

Hasil data yang berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ) namun tidak homogen ( $p < 0,05$ ), maka tetap digunakan uji One-Way ANOVA, tetapi uji lanjut yang diterapkan adalah Post Hoc Tamhane. Nilai  $p < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Hasil uji Shapiro–Wilk menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal ( $p < 0,05$ ), maka digunakan uji non-parametrik Kruskal–Wallis. Jika terdapat perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) antar kelompok, maka dilanjutkan dengan uji Mann–Whitney U test sebagai uji perbandingan antar pasangan kelompok. Nilai  $p < 0,05$  dianggap menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna secara statistik.

#### 4.9. Tempat dan Waktu Penelitian

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



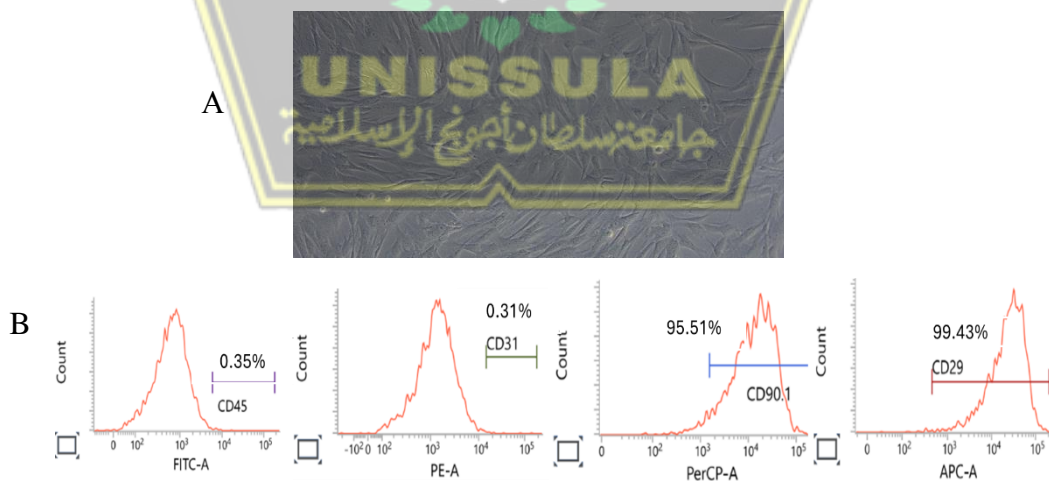
## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Penelitian

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

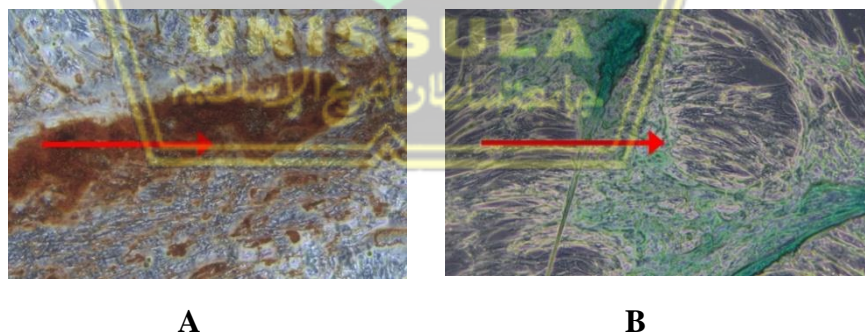
*Mesenchymal stem cell* diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat tikus pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi selesai, sel-sel dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media DMEM. Setelah pasase kelima selesai, morfologi sel dilihat dengan mikroskop dan menunjukkan terdapat sel yang menyerupai *spindle* saat diamati dengan mikroskop dan melekat di atas permukaan flask. (Gambar 5.1A).



**Gambar 5.1.** Validasi MSCs. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD45, CD31, CD90, dan CD29.

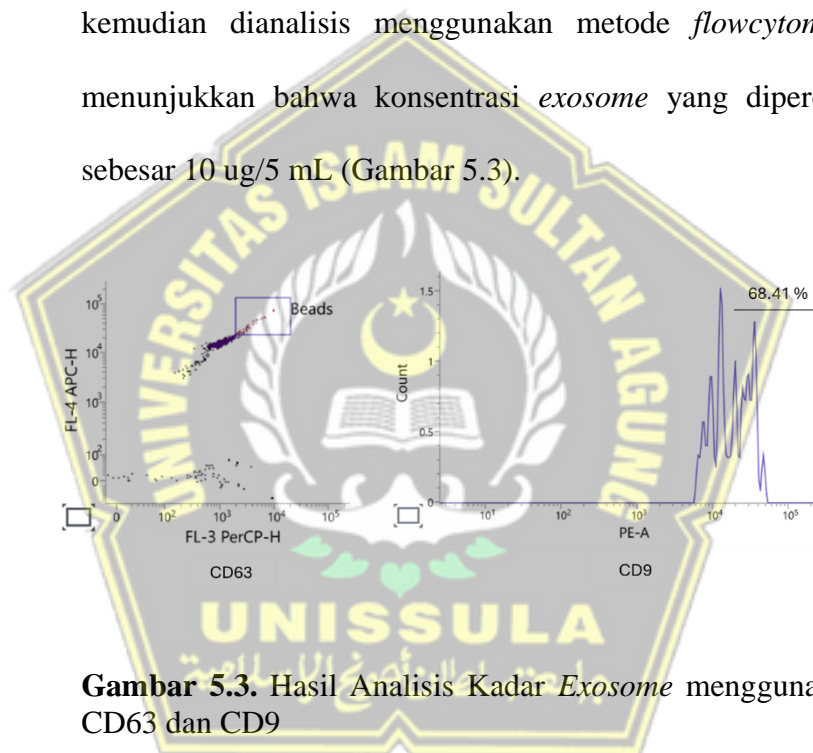
Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD29 (99,43%) dan CD90 (95,51%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,35%) dan CD31 (0,31%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

Penelitian ini juga memastikan kapasitas MSC dalam diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa seperti sel osteosit dan sel kondrosit yaitu dengan cara memberi medium spesifik menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun kondrosit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan kondrosit yang terlihat oleh Alizarin-red staining dan Alician Blue Staining. (Gambar 5.2 A dan B).



**Gambar 5.2.** Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna Alizarin-red staining (ditunjukkan dengan panah merah, perbesaran 200x dan (B) kondrosit pada pewarnaan Alician Blue Staining (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).

Setelah proses validasi, MSC diinkubasi pada kondisi hipoksia dengan konsentrasi oksigen 5% selama 24 jam menggunakan kotak hipoksia. Selanjutnya medium kultur MSC yang mengandung sekretom dikumpulkan dan dilakukan proses filtrasi menggunakan metode *tangential flow filtrasi* (TFF) dengan jarak ukuran 100–500 kDa untuk memperoleh EH-MSC. Kadar *exosome* hasil isolasi kemudian dianalisis menggunakan metode *flowcytometry*, yang menunjukkan bahwa konsentrasi *exosome* yang diperoleh adalah sebesar 10 ug/5 mL (Gambar 5.3).

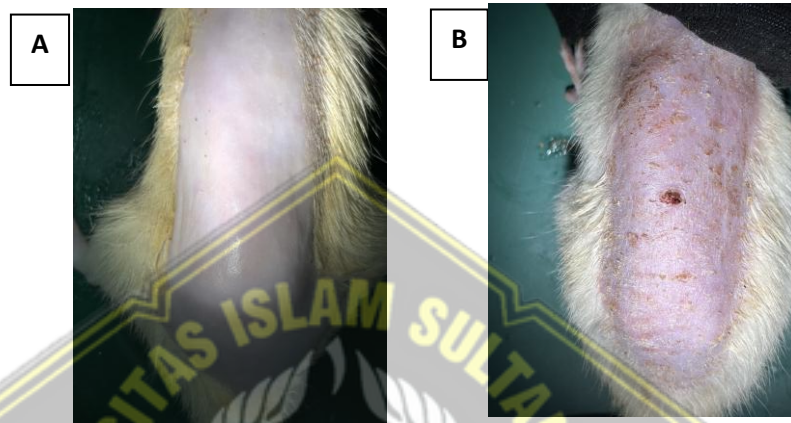


**Gambar 5.3.** Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker CD63 dan CD9

### 5.1.2. Hasil Validasi Psoriasis

Validasi keberhasilan pembentukan model psoriasis pada tikus dilakukan melalui pengamatan visual dengan membandingkan kondisi permukaan kulit tikus kontrol sehat dan tikus yang diinduksi imiquimod (IMQ). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada tikus sehat, permukaan kulit tampak halus tanpa adanya lesi maupun

sisik. Sedangkan, pada tikus yang mendapat induksi IMQ, kulit terlihat mengalami penebalan, kemerahan, dan terbentuknya sisik. Lesi skuamosa yang muncul menampilkan gambaran plak psoriatik dengan batas yang jelas, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 5.4.



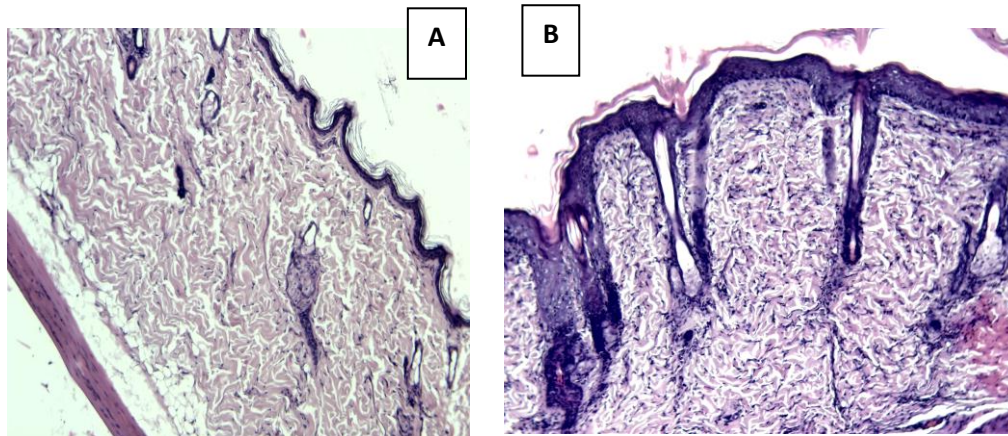
**Gambar 5.4.** Validasi Makroskopis kulit Tikus Sehat dan Tikus Psoriasis

(A) Makroskopis tikus sehat

Permukaan kulit tampak halus, tanpa lesi atau sisik

(B) Makroskopis tikus Psoriais

Kulit tampak menebal, bersisik, dan kemerahan. Lesi skuamosa memperlihatkan karakteristik plak psoriatik dengan batas yang jelas dan terdefinisi tegas.



**Gambar 5.5.** Validasi Mikroskopis kulit Tikus Sehat dan Tikus Psoriasis dengan pewarnaan HE dan perbesaran 100x

(A) Mikroskopis tikus sehat

Epidermis: Lapisan tipis dengan struktur berlapis normal, menunjukkan diferensiasi keratinosit yang baik, Dermis: Jaringan ikat padat dengan kolagen terorganisir, tanpa infiltrasi sel inflamasi. Tidak tampak hiperplasia, parakeratosis, atau spongiosis. Tidak ada elongasi rete ridges atau pembuluh darah superfisial yang menonjol.

(B) Mikroskopis tikus Psoriasis,

Penebalan epidermis (akantosis) jelas, dengan rete ridge yang memanjang dan mendalam. Hiperkeratosis (penebalan stratum korneum) terlihat nyata. Parakeratosis (retensi inti sel pada lapisan stratum korneum) dapat diamati, menandakan turnover epidermis yang cepat. Dermis menunjukkan adanya infiltrasi sel radang mononuklear di daerah papiler, sesuai dengan respon inflamasi.

Setelah tikus tervalidasi mengalami Psoriasis, tikus yang tanpa induksi imq digunakan sebagai kontrol sehat (K1), sedangkan tikus

yang mengalami Psoriasis akibat induksi imq dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (tikus Psoriasis dengan injeksi NaCl dengan dosis 100 uL secara intradermal), K3 (tikus Psoriasis dengan injeksi Mtx 25mg secara intradermal), K4 dan K5 (tikus Psoriasis dengan injeksi EH-MSc dengan dosis masing-masing 100 µl dan 200 µl secara intradermal).

Pemberian injeksi EH-MSc dilakukan pada hari ke-1 dan ke-3 setelah tikus dipastikan mengalami psoriasis, sedangkan pengambilan sampel jaringan kulit dilakukan pada hari ke-15 pasca injeksi. Jaringan kulit yang diperoleh selanjutnya dihomogenisasi menggunakan buffer RIPA yang telah ditambahkan inhibitor proteinase untuk mencegah degradasi protein. Setelah suspensi terbentuk homogen, sampel disentrifugasi, dan supernatan yang dihasilkan dikumpulkan untuk analisis ekspresi T-Bet dan Ki67 menggunakan metode PCR.

### 5.1.3. Ekspresi T-Bet

**Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi T-Bet**

Variabel	Kelompok					Sig. (p)
	K1 Normal N = 6	K2 Kontrol (-) N = 6	K3 Kontrol (+) N = 6	K4 EH-MSc 100µL N = 6	K5 EH-MSc 200µL N = 6	
<b>Ekspresi TBET</b>						
Mean ± SD	1,02±0,19	4,93±1,33	2,80±0,27	2,26±0,51	1,39±0,43	
Shapiro Wilk	*0,83	*0,42	*0,15	*0,19	*0,37	
Lavene test						<0,001
One Way Anova						**<0,001

Keterangan : \*Normal p>0.05 \*\*Signifikan p<0.05

Data ekspresi T-Bet dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasi. Kelompok K2 memiliki ekspresi T-Bet tertinggi, yaitu  $4,93 \pm 1,33$  pg/mL, diikuti oleh K3 dengan  $2,80 \pm 0,27$  pg/mL, dan K4 dengan  $2,26 \pm 0,51$  pg/mL. Kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah sebesar  $1,39 \pm 0,43$  pg/mL, sementara kadar terendah ditemukan pada K1 dengan  $1,02 \pm 0,19$  pg/mL.

Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data ekspresi T-Bet pada semua kelompok memiliki distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Namun, analisis homogenitas varians menggunakan Levene test menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis ini kemudian dilanjutkan dengan analisis perbedaan ekspresi T-Bet antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang memberikan hasil signifikan secara statistik ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada ekspresi T-Bet antar kelompok.

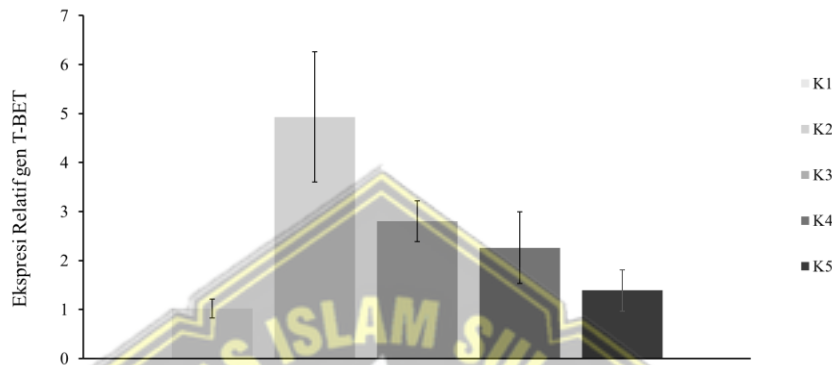
**Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi T-Bet antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane**

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,007*
	K3	<0,001*
	K4	0,011*
	K5	0,602
	K1	0,007*
K2	K3	0,099
	K4	0,030*
	K5	0,008*
	K1	<0,001*
K3	K2	0,099
	K4	0,410
	K5	0,001*
	K1	0,011*
K4	K2	0,030*
	K3	0,410
	K5	0,098
	K1	0,602
K5	K2	0,008*
	K3	0,001*
	K4	0,098

Keterangan : \*Uji Post Hoc Tamhane dengan nilai  $p < 0.05$

Berdasarkan data ekspresi T-Bet yang memiliki beda nyata setelah uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc Tamhane, karena data bersifat normal, namun tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.2. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok K1 berbeda signifikan dengan K2 ( $p = 0,007$ ), K3 ( $p < 0,001$ ), dan K4 ( $p = 0,011$ ), namun tidak berbeda signifikan dengan K5 ( $p = 0,602$ ). Selanjutnya, kelompok K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K4 ( $p = 0,030$ ) dan K5 ( $p = 0,008$ ), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K3 ( $p = 0,099$ ). Pada kelompok lainnya, kelompok K3 berbeda

signifikan dengan K5 ( $p = 0,001$ ), namun tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K4 ( $p = 0,410$ ). Sementara itu, kelompok K4 juga tidak menunjukkan perbedaan signifikan dibandingkan dengan K5 ( $p = 0,098$ ).



**Gambar 5.6.** Grafik ekspresi T-Bet

Grafik T-Bet menunjukkan bahwa ekspresi T-Bet meningkat pada kelompok psoriasis dibandingkan kelompok kontrol sehat, kemudian mengalami penurunan pada kelompok perlakuan EH- MSC.

#### 5.1.4. Ekspresi Ki67

**Tabel 5.3.** Data Hasil Analisis Ekspresi Ki67

Variabel	Kelompok					Sig. (p)
	K1 Normal N = 6	K2 Kontrol (-) N = 6	K3 Kontrol (+) N = 6	K4 EH-MSc 100µL N = 6	K5 EH-MSc 200µL N = 6	
<b>Ekspresi Ki67</b>						
Mean ± SD	1,01±0,17	2,80±0,27	1,70±0,81	1,34±0,73	1,11±0,55	
Shapiro Wilk	*0,25	*0,16	*0,48	*0,71	*0,72	
Lavene test						0,008
One Way Anova						**<0,001

Keterangan : \*Normal  $p > 0.05$  \*\*Signifikan  $p < 0.05$

Data ekspresi Ki67 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasinya. Kelompok K2 memiliki ekspresi Ki67 tertinggi, yaitu  $2,80 \pm 0,27$  pg/mL, diikuti oleh K3 dengan  $1,70 \pm 0,81$  pg/mL, dan K4 dengan  $1,34 \pm 0,73$  pg/mL. Kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah, yaitu  $1,11 \pm 0,55$  pg/mL, sedangkan ekspresi Ki67 terendah ditemukan pada kelompok K1 dengan  $1,01 \pm 0,17$  pg/mL.

Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data ekspresi Ki67 pada semua kelompok memiliki distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Namun, analisis homogenitas varians menggunakan Levene test menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis ini kemudian dilanjutkan dengan analisis perbedaan ekspresi Ki67 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang memberikan hasil signifikan secara statistik ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada ekspresi Ki67 antar kelompok.

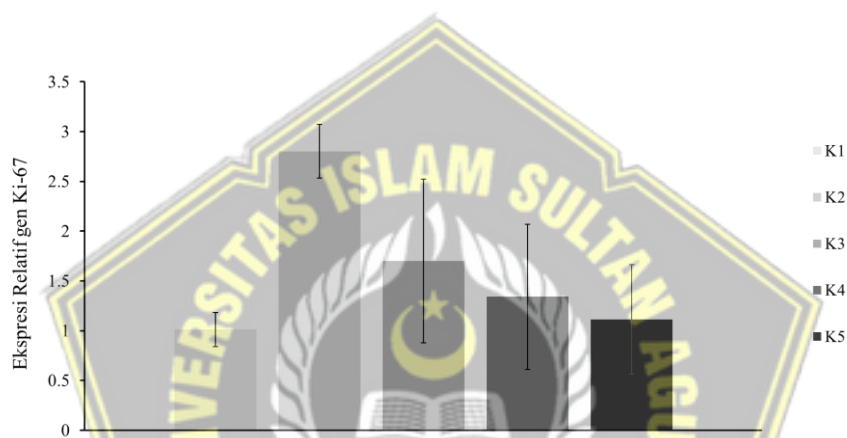
**Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi Ki67 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane**

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	<0,001*
	K3	0,635
	K4	0,981
	K5	1,000
	K1	<0,001*
K2	K3	0,177
	K4	0,032*
	K5	0,002*
	K1	0,635
K3	K2	0,177
	K4	0,997
	K5	0,859
	K1	0,981
K4	K2	0,032
	K3	0,997
	K5	1,000
K5	K1	1,000
	K2	0,002
	K3	0,859
	K4	1,000

Keterangan : \*Uji Post Hoc Tamhane dengan nilai  $p < 0.05$

Berdasarkan data ekspresi Ki67 yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc Tamhane, karena data bersifat normal, namun tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok K1 berbeda signifikan dengan K2 ( $p < 0,001$ ), namun tidak berbeda signifikan dengan K3 ( $p = 0,635$ ), K4 ( $p = 0,981$ ), dan K5 ( $p = 1,000$ ). Selanjutnya, kelompok K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K4 ( $p = 0,032$ ) dan K5 ( $p = 0,002$ ), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K3 ( $p = 0,177$ ). Selain itu, kelompok K3 tidak

menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan K4 ( $p = 0,997$ ) maupun K5 ( $p = 0,859$ ). Demikian pula, kelompok K4 tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan K5 ( $p = 1,000$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa ekspresi Ki67 pada kelompok K3, K4, dan K5 relatif serupa, serta perlakuan pada kelompok K4 dan K5 berasosiasi dengan penurunan ekspresi Ki67 hingga mendekati kelompok kontrol sehat.



**Gambar 5.7.** Grafik Ekspresi Ki67

Terdapat pola penurunan ekspresi Ki67 yang bersifat dosedependent, di mana peningkatan dosis perlakuan diikuti oleh penurunan ekspresi Ki67, dengan dosis tertinggi menghasilkan penurunan Ki67 yang paling signifikan.

## 5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

*Exosome* merupakan vesikel bermembran lipid dwilapis berbentuk bulat dengan diameter berkisar antara 30–150 nm. Vesikel ini memiliki kandungan biomolekul yang diperkaya secara mewah, meliputi membran glikoprotein, lipid, protein sel spesifik, serta berbagai jenis asam nukleat.

Sel punca mesenkimal (*mesenchymal stem cell/MSK*) merupakan sel stroma multilineage yang mampu berdiferensiasi dan memiliki sifat imunomodulatori serta antiinflamasi yang kuat. MSK beserta *exosome* yang diturunkannya berperan penting dalam modulasi proses inflamasi dan perbaikan jaringan pada psoriasis. Selain itu, *exosome* MSK mengandung berbagai mikroRNA (miRNA) yang diketahui berperan dalam patogenesis psoriasis. MikroRNA sendiri merupakan molekul RNA non-coding berukuran kecil yang berfungsi dalam mekanisme pembungkaman RNA dan regulasi ekspresi gen pada tingkat pasca-transkripsi, serta berkontribusi dalam terjadinya disfungsi imun pada psoriasis.<sup>22,23</sup>

MikroRNA-122 (miR-122) merupakan salah satu miRNA yang berperan penting dalam regulasi respon imun dan inflamasi. Beberapa penelitian melaporkan bahwa miR-122 mampu memodulasi jalur sinyal yang berkaitan dengan aktivasi sel T dan ekspresi transkripsi faktor proinflamasi. Dalam konteks psoriasis, peningkatan aktivitas sel T helper proinflamasi, khususnya Th1, berkontribusi terhadap peningkatan ekspresi T-Bet yang menjadi ciri utama inflamasi kronis pada lesi psoriatik.<sup>33</sup>

Ekspresi T-Bet dan Ki67 merupakan indikator penting dalam patogenesis psoriasis, yang masing-masing berperan dalam regulasi respon imun proinflamasi dan proliferasi keratinosit. T-Bet adalah faktor transkripsi utama pada diferensiasi sel T helper 1 (Th1) yang berperan dalam peningkatan produksi sitokin proinflamasi seperti IFN- $\gamma$ , yang diketahui berkontribusi pada proses inflamasi kronik pada psoriasis. Sementara itu,

Ki67 merupakan penanda proliferasi sel yang mencerminkan tingkat hiperproliferasi keratinosit, salah satu ciri khas lesi psoriatik.<sup>19,34</sup>

Pada penelitian ini, pemberian EH-MSK dengan dosis 100 µl dan 200 µl pada tikus model psoriasis bertujuan untuk memberikan pengaruhnya terhadap ekspresi T-Bet dan Ki67 yang berkaitan dengan regulasi imun dan hiperproliferasi epidermis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EH-MSK dosis 200 µl mampu menurunkan ekspresi T-Bet dan Ki67 secara signifikan hingga mendekati tingkat pada tikus sehat. Sementara itu, pemberian dosis 100 µl juga menurunkan ekspresi kedua penanda tersebut, meskipun efeknya belum seoptimal dosis 200 µl. Temuan ini menunjukkan bahwa dosis 100 µl tetap memberikan efek terapeutik dalam menekan respon inflamasi dan proliferasi keratinosit, namun dosis 200 µl menunjukkan efektivitas yang lebih tinggi pada model psoriasis.

Ekspresi T-bet dan Ki67 merupakan indikator penting dalam patogenesis psoriasis, yang masing-masing mencerminkan aktivasi respon imun proinflamasi dan proliferasi keratinosit. T-bet adalah faktor transkripsi utama yang mengatur diferensiasi sel T helper 1 (Th1) dan memicu produksi sitokin proinflamasi seperti IFN- $\gamma$  melalui jalur JAK/STAT, sehingga berperan dalam mempertahankan inflamasi kronis pada lesi psoriatik. Perubahan keseimbangan antara faktor transkripsi Th1 dan subset lainnya menunjukkan bahwa T-bet ikut mendukung dominasi respon imun proinflamasi pada psoriasis.<sup>19</sup>

Hiperproliferasi keratinosit juga merupakan karakteristik histologis psoriasis. Antigen Ki-67 merupakan protein inti non-histone yang dituangkan selama semua fase aktif siklus sel, sehingga sering digunakan sebagai penanda proliferasi sel. Studi imunohistokimia pada lesi kulit psoriasis menunjukkan ekspresi Ki-67 yang lebih tinggi di epidermis psoriasis dibandingkan kulit normal, mencerminkan proliferasi sel yang meningkat dan berkaitan dengan perluasan plak psoriatik.<sup>11</sup>

Dalam penelitian ini, pemberian EH-MSC pada tikus model psoriasis menurunkan ekspresi T-bet dan Ki67, dengan respon yang lebih kuat pada dosis 200  $\mu$ l dibandingkan 100  $\mu$ l. Penurunan ekspresi T-bet ini menunjukkan bahwa EH-MSC mampu menekan diferensiasi Th1 dan respon imun proinflamasi, sehingga mengurangi produksi sitokin seperti IFN- $\gamma$  yang biasanya memulai inflamasi pada psoriasis. Dengan demikian, modulasi ekspresi T-bet oleh EH-MSC memberi kesan bahwa terapi ini memiliki efek imunomodulator dalam menekan jalur inflamasi dominan pada penyakit.

Sedangkan penurunan ekspresi Ki67 setelah pemberian EH-MSC menunjukkan penghambatan proliferasi keratinosit, yang merupakan respon terhadap inflamasi kronis pada psoriasis. Penurunan ini lebih nyata pada dosis 200  $\mu$ l, menunjukkan bahwa jumlah terapi yang lebih tinggi lebih efektif dalam mengurangi hiperproliferasi epidermis. Karena ekspresi Ki67 terakumulasi dengan tingkat proliferasi sel dan keparahan lesi, penurunan Ki67 mencerminkan perbaikan struktural epidermis dan penghambatan

siklus proliferasi abnormal yang merupakan dasar pembentukan plak psoriatik.<sup>11,21</sup>

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian EH-MSC dengan dosis 100  $\mu$ l dan 200  $\mu$ l mampu menurunkan ekspresi T-Bet dan Ki67 pada tikus model psoriasis. Temuan ini menunjukkan bahwa EH-MSC tidak hanya berperan dalam menekan jalur imun Th1 yang bersifat proinflamasi, tetapi juga dalam menghambat proliferasi keratinosit. Efek pengobatan yang dihasilkan terlihat lebih optimal pada pemberian dosis 200  $\mu$ l dibandingkan dosis 100  $\mu$ l.

### **5.3. Keterbatasan Penelitian**

Meskipun penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSC) berpengaruh terhadap penurunan ekspresi T-Bet dan Ki-67 pada model tikus psoriasis-like, interpretasi hasil tetap perlu dilakukan secara hati-hati. Hal ini disebabkan oleh adanya keterbatasan metodologis dan ruang lingkup penelitian yang tidak dapat sepenuhnya mencerminkan kompleksitas patogenesis psoriasis secara keseluruhan. Oleh karena itu, beberapa keterbatasan berikut perlu dipertimbangkan.

1. Penelitian menggunakan model hewan (tikus Wistar) sehingga hasilnya belum dapat secara langsung digeneralisasi pada manusia. Perbedaan fisiologi, respons imun, serta kompleksitas patogenesis psoriasis pada manusia dapat menyebabkan perbedaan efek terapi dibandingkan dengan model eksperimental.

2. Parameter penelitian terbatas pada ekspresi T-Bet dan Ki-67 tanpa mengevaluasi biomarker inflamasi lain atau parameter klinis yang lebih luas. Keterbatasan ini menyebabkan gambaran efek EH-MSK terhadap patogenesis psoriasis belum dapat dinilai secara komprehensif, khususnya terkait jalur imun lain yang berperan dalam penyakit ini.



## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian mengenai pengaruh injeksi EH-MSC secara intadermal terhadap penurunan ekspresi T-Bet dan Ki67 pada tikus jantan galur Wistar model psoriasis menunjukkan bahwa:

- a. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC terhadap ekspresi T-Bet yang hasilnya lebih rendah pada kelompok tikus model psoriasis yang diberi dosis 100  $\mu$ l dan 200  $\mu$ l dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC terhadap ekspresi Ki67 yang hasilnya lebih rendah pada kelompok tikus psoriasis yang diberi dosis 100  $\mu$ l dan 200  $\mu$ l dibandingkan dengan kelompok kontrol.

#### 6.2. Saran

- a. Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menilai ekspresi sitokin dan mediator imun lain yang berperan dalam patogenesis psoriasis, seperti IFN- $\gamma$ , IL-17, dan IL-23, serta ekspresi faktor transkripsi lain yang terkait dengan diferensiasi sel T setelah pemberian EH-MSC.
- b. Diperlukan penelitian lanjutan untuk efektivitas dan keamanan EH-MSC pada model psoriasis yang lebih luas sebagai dasar pengembangan uji klinis fase awal pada manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Raharja A, Mahil SK, Barker JN. Psoriasis: a brief overview. *Clin Med (Lond)*. 2021 May;21(3):170-173. doi: 10.7861/clinmed.2021-0257. PMID: 34001566; PMCID: PMC8140694. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8140694/>
2. Armstrong AW , Read C. Patofisiologi, Presentasi Klinis, dan Pengobatan Psoriasis : Sebuah Tinjauan . *JAMA*. 2020;323(19):1945–1960. doi:10.1001/jama.2020.4006. <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/>
3. Dairov, A.; Sekenova, A.; Alimbek, S.; Nurkina, A.; Shakhatbayev, M.; Kumasheva, V.; Kuanysh, S.; Adish, Z.; Issabekova, A.; Ogay, V. Psoriasis: The Versatility of Mesenchymal Stem Cell and Exosome Therapies. *Biomolecules* 2024, 14, 1351. <https://doi.org/10.3390/biom14111351>
4. Ratna Susanti , Mateus Sakundarno Adi , Henry Setyawan Susanto , Dwi Sutiningsih. GAMBARAN KUALITAS HIDUP PENDERITA PSORIASIS DIKOMUNITAS PSOBAT JAWA TENGAH. *JURNAL KESEHATAN MASYARAKAT (e-Journal) Volume 8, Nomor 3, Mei 2020 ISSN: 2715-5617 / e-ISSN: 2356-3346* <http://ejournal3.undip.ac.id/index.php/jkm>
5. Dogra S, Mahajan R. Psoriasis: Epidemiology, clinical features, co-morbidities, and clinical scoring. *Indian Dermatol Online J*. 2016 Nov-Dec;7(6):471-480. doi: 10.4103/2229-5178.193906. PMID: 27990381; PMCID: PMC5134160. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5134160/>
6. Zhang Y, Yan J, Li Z, Zheng J, Sun Q. Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate Psoriasis-like Skin Inflammation. *J Interferon Cytokine Res*. 2022 Jan;42(1):8-18. doi: 10.1089/jir.2021.0146. PMID: 35041513. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35041513/>
7. Huang, Y.-C.; Chang, C.-Y.; Huang, C.-J. Effectiveness of Exosomes from Different Mesenchymal Stem Cells in the Treatment of Psoriasis: A Murine Study and Meta-Analysis of Experimental Studies. *Biomedicines* 2025, 13, 2093. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13092093>
8. Quiñones-Vico MI, Sanabria-de la Torre R, Sánchez-Díaz M, Sierra-Sánchez Á, Montero-Vílchez T, Fernández-González A, Arias-Santiago S. The Role of Exosomes Derived From Mesenchymal Stromal Cells in Dermatology. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Apr 7;9:647012. doi: 10.3389/fcell.2021.647012. PMID: 33898436; PMCID: PMC8058372. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8058372/>

9. Zhou X, Tang B, Huang Q, Yang S, Jiang Y, Xu L, Chen W, Shan G, Liao X, Hou C, Yao Z, Zou C, Ou R, Xu Y, Li D. Engineered Mesenchymal Stem Cell-Derived Extracellular Vesicles Scavenge Self-Antigens for Psoriasis Therapy via Modulating Metabolic and Immunological Disorders. *Adv Sci (Weinh)*. 2025 Feb;12(6):e2410067. doi: 10.1002/advs.202410067. Epub 2024 Dec 12. PMID: 39665264; PMCID: PMC11809393. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11809393/>
10. Quiñones-Vico MI, Sanabria-de la Torre R, Sánchez-Díaz M, Sierra-Sánchez Á, Montero-Vílchez T, Fernández-González A, Arias-Santiago S. The Role of Exosomes Derived From Mesenchymal Stromal Cells in Dermatology. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Apr 7;9:647012. doi: 10.3389/fcell.2021.647012. PMID: 33898436; PMCID: PMC8058372. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8058372/>
11. Borade, S., Belgaumkar, V. A., Chavan, R. B., Bhatt, N., & Deshmukh, N. S. (2020). Evaluation of IHC Ki-67 with clinical correlation in psoriasis. *Serbian Journal of Dermatology and Venereology*, 12(2), 33–40. <https://doi.org/10.2478/sjdv-2020-0007>
12. Lun-Fei Liu, Ji-Su Chen, Ji-Yang Shen, Ting-Ting Dou, Jiong Zhou, Sui-Qing Cai, Min Zheng (2018). Ustekinumab treats psoriasis by suppressing RORC and T-box but its suppression of GATA restrains its efficacy. *Braz. J. Pharm. Sci.* 54 (04) 2018 <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000417349>
13. Dehghani P, Varshosaz J, Mirian M, Minaiyan M, Kazemi M, Bodaghi M. Keratinocyte Exosomes for Topical Delivery of Tofacitinib in Treatment of Psoriasis: an In Vitro/ In Vivo Study in Animal Model of Psoriasis. *Pharm Res*. 2024 Feb;41(2):263-279. doi: 10.1007/s11095-023-03648-0. Epub 2024 Jan 23. PMID: 38263341; PMCID: PMC10879239. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10879239/>
14. Indirubin combined with umbilical cord mesenchymal stem cells to relieve psoriasis-like skin lesions in BALB/c mice, ORIGINAL RESEARCH article, *Front. Immunol.*, 16 November 2022 Sec. Inflammation Volume 13 - 2022 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1033498>
15. Engel-Andreasen, N., Hallas, J., Jensen, P., Egeberg, A. and Reilev, M. (2024), Biologics Used for Psoriasis: A Drug Utilization Study Based on Two Nationwide Danish Data Sources. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 33: e70050. <https://doi.org/10.1002/pds.70050>
16. Bodnár K, Fehér P, Ujhelyi Z, Bácskay I, Józsa L. Recent Approaches for the Topical Treatment of Psoriasis Using Nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2024 Mar 25;16(4):449. doi: 10.3390/pharmaceutics16040449. PMID: 38675110;

PMCID: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/211054466/> PMC11054466.  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11054466/>

17. Sieminska, I., Pieniawska, M. & Grzywa, TM Immunologi Psoriasis—Konsep Terkini dalam Patogenesis. *Clinic Rev Allerg Immunol* 66 , 164–191 (2024). <https://doi.org/10.1007/s12016-024-08991-7>
18. Lazarevic V, Glimcher LH. T-bet in disease. *Nat Immunol.* 12 Desember 2018 :597-606. doi: 10.1038/ni.2059. PMID: 21685955; PMCID: PMC6290474. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6290474/>
19. Qu Y, Li D, Xiong H, Shi D. Transcriptional regulation on effector T cells in the pathogenesis of psoriasis. *Eur J Med Res.* 2023 Jun 3;28(1):182. doi: 10.1186/s40001-023-01144-0. PMID: 37270497; PMCID: PMC10239166. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10239166/>
20. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma.* 2018 Jun;127(2):175-186. doi: 10.1007/s00412-018-0659-8. Epub 2018 Jan 10. PMID: 29322240; PMCID: PMC5945335. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5945335/>
21. Ramezani M, Shamshiri A, Zavattaro E, Khazaei S, Rezaei M, Mahmoodi R, Sadeghi M. Immunohistochemical expression of P53, Ki-67, and CD34 in psoriasis and psoriasiform dermatitis. *Biomedicine (Taipei).* 2019 Dec;9(4):26. doi: 10.1051/bmdcn/2019090426. Epub 2019 Nov 14. PMID: 31724940; PMCID: PMC6855186. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6855186/>
22. Dairov, A.; Sekenova, A.; Alimbek, S.; Nurkina, A.; Shakhatbayev, M.; Kumasheva, V.; Kuanysh, S.; Adish, Z.; Issabekova, A.; Ogay, V. Psoriasis: Fleksibilitas Sel Induk Mesenkim dan Terapi Eksosom. *Biomolekul* 2024 , 14 , 1351. <https://doi.org/10.3390/biom14111351>
23. Timis TL, Orasan RI. Understanding psoriasis: Role of miRNAs. *Biomed Rep.* 2018 Nov;9(5):367-374. doi: 10.3892/br.2018.1146. Epub 2018 Sep 11. PMID: 30402223; PMCID: PMC6200992. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6200992/>
24. Marco Iuliano et.al, Extracellular vesicles in psoriasis: from pathogenesis to possible roles in therapy, Volume 15 – 2024 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1360618>
25. González-Cubero E, González-Fernández ML, Gutiérrez-Velasco L, Navarro-Ramírez E, Villar-Suárez V. Isolation and characterization of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J Anat.* 2021 May;238(5):1203-1217. doi: 10.1111/joa.13365. Epub 2020 Dec 29. PMID:

33372709;

PMCID:

PMC8053584.

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8053584/>

26. Walvekar, KP, Tirunavalli, SK, Eedara, AC dkk. Biochanin A Memperbaiki Peradangan Kulit Mirip Psoriasis yang Diinduksi Imiquimod pada Mencit dengan Modulasi Jalur Pensinyalan NF- $\kappa$ B dan MAPK. *Inflammation* 48 , 1125–1142 (2025). <https://doi.org/10.1007/s10753-024-02103-5>
27. Zheng, T., Deng, J., Wen, J. dkk., defisiensi p38 $\alpha$  memperbaiki perkembangan psoriasis dengan menurunkan proliferasi keratinosit dan produksi sitokin yang dimediasi STAT3. *Commun Biol* 7 , 999 (2024). <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06700-w>
28. Gangadevi, V., Thatikonda, S., Pooladanda, V. et al. Selenium nanoparticles produce a beneficial effect in psoriasis by reducing epidermal hyperproliferation and inflammation. *J Nanobiotechnol* 19, 101 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12951-021-00842-3>
29. Qu, Y., Li, D., Xiong, H. dkk. Regulasi transkripsi pada sel T efektor dalam patogenesis psoriasis. *Eur J Med Res* 28 , 182 (2023). <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01144-0>
30. Li S, Chik Z, Faruqu FN, Mohd Hashim N, Mohd Yusof NS, Fernandez Alarcon J, Ahmad N. miRNAs and exosomes in psoriasis: coordinating cytoskeleton dynamics and extracellular matrix remodeling. *Front Cell Dev Biol*. 2025 Jul 18;13:1608902. doi: 10.3389/fcell.2025.1608902. PMID: 40756258; PMCID: PMC12313695. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12313695/>
31. Kim SA, Ryu YW, Kwon JI, Choe MS, Jung JW, dan Cho JW: Perbedaan ekspresi siklin D1, Ki-67, pRb, dan p53 pada lesi kulit psoriasis dan kulit normal. *Mol Med Rep* 17: 735-742, 2018. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2017.8015>
32. Ma, C., Gu, C., Lian, P. dkk. Sulforaphane meringankan psoriasis dengan meningkatkan pertahanan antioksidan melalui aktivasi Jalur KEAP1-NRF2 dan melemahkan sinyal inflamasi. *Cell Death Dis* 14 , 768 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06234-9>
33. Jiang M, Ma W, Gao Y, Jia K, Zhang Y, Liu H, Sun Q. IL-22-induced miR-122-5p promotes keratinocyte proliferation by targeting Sprout2. *Exp Dermatol*. 2017 Apr;26(4):368-374. doi: 10.1111/exd.13270. PMID: 27943426.
34. Gupta S.dkk. Evaluation Of Ki-67 Expression In Psoriasis And Its Correlation With Disease Severity: A Cross-Sectional Study. 2025; 7 (4); 700-704.

International Journal of Academic Medicine and Pharmacy  
(www.academicmed.org) ISSN (O): 2687-5365; ISSN (P): 2753-6556

