

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs) TERHADAP
EKSPRESI *INTERFERON GAMMA* (IFN- γ) DAN
INTERLEUKIN-10 (IL-10)
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic*
Dermatitis like yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Tiara Naviera Putri Sivila

MBK2424010530

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG
SEMARANG
2025/2026**

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI *INTERFERON GAMMA* (IFN- γ) DAN *INTERLEUKIN-10* (IL-10)
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis Like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))**

disusun oleh

Tiara Naviera Putri Sivila

MBK.24.24.010530

Telah dipertahankan didepan Tim Penguji
pada tanggal 20 Febuari 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan,
Sp. DVE, Subsp. DKE, FINS DV,
FAAD


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

NIP. 210.109.110

Mengetahui,

Ketua program studi magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

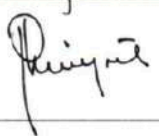
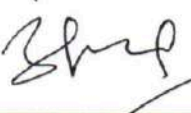



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes
NIP. 210.198.046

LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul “PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI *INTERFERON GAMMA* (IFN- γ) DAN *INTERLEUKIN-10* (IL-10) (Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))” ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada:

Hari : Jumat
Tanggal : 20 Febuari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1	Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes	Penguji I	
2	Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp.KF, SH, MH	Penguji II	
3	Dr. dr. Chodidjah, M.Kes	Penguji III	
4	Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. DVE, Subsp. DKE, FINS DV, FAAD	Pembimbing I	
5	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	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.

Semarang, Februari 2026

(Tiara Naviera Putri Sivila)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Tiara Naviera Putri Sivila
Tempat / tanggal lahir : Samarinda, 28 Juli 1997
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Islam Ihya Ulumuddin Samarinda : Lulus tahun 2004
2. SD Negeri 003 Samarinda : Lulus tahun 2006
3. SMP Negeri 1 Samarinda : Lulus tahun 2012
4. SMA Negeri 1 Samarinda : Lulus tahun 2014
5. Sarjana Kedokteran FK Trisakti : Lulus tahun 2018
6. Profesi Dokter FK Trisakti : Lulus tahun 2020
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Faris Ghiyats Perdana
2. Nama Anak : Tatjana Ruby Faris

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga Tesis dengan judul **“PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (EH-MSCs) TERHADAP EKSPRESI *INTERFERON GAMMA* (IFN- γ) DAN *INTERLEUKIN-10* (IL-10) (Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*))** ini dapat penulis selesaikan.

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

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

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS, juga selaku dosen pembimbing dua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Joko Wahyu Wibowo,

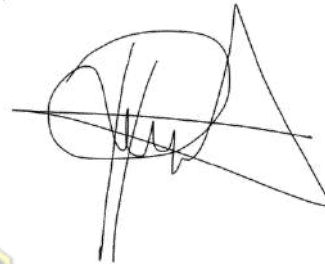
M.Kes, juga selaku ketua penguji atas waktu, perhatian, arahan serta masukan yang telah memberikan kontribusi dalam penyempurnaan tesis ini.

4. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. DVE, Subsp. DKE, FINS DV, FAAD, atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing satu.
5. Kepada Dr. dr. Chodidjah, M.Kes dan Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH., Sp.KF selaku penguji atas masukan, koreksi serta saran yang diberikan dalam meningkatkan kualitas dan kedalaman pembahasan karya ilmiah ini.
6. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
7. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
8. Kepada suami dan juga kedua orang tua serta seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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

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

Semarang, Februari 2026
Penulis,



Tiara Naviera Putri Sivila



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.4. Originalitas Penelitian	5
1.5. Manfaat penelitian	7
II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Dermatitis	8
2.2 Dermatitis Atopik	9
2.3 <i>Interferon-gamma</i> (IFN- γ).....	9
2.4 <i>Interleukin-10</i> (IL-10)	11

2.5 <i>Mesenchymal Stem Cell</i> (MSCs).....	13
2.6 Calcipotriol.....	14
2.7 <i>Exosome</i> MSCs	15
2.8 Induksi <i>Exosome</i> MSCs dengan Teknik Hipoksia.....	16
2.9 Efek Dermatitis terhadap <i>Interferon-gamma</i> (IFN- γ) dan <i>Interleukin-10</i> (IL-10).....	18
2.10 Efek <i>Exosome</i> MSCs Terhadap <i>Interferon-gamma</i> (IFN- γ) dan <i>Interleukin-10</i> (IL-10)	19
III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	21
3.1. Kerangka Teori	21
3.2. Kerangka Konsep	25
3.3. Hipotesis.....	25
IV METODE PENELITIAN	26
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	26
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	27
4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian.....	29
4.4. Alat dan Bahan	31
4.5. Cara Penelitian.....	32
4.6. Tempat dan Waktu Penelitian	39
4.7. Analisa Data	39
4.8. Alur Penelitian.....	41
V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
5.1. Hasil Penelitian.....	42

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian.....	52
5.3. Keterbatasan Penelitian	57
VI KESIMPULAN DAN SARAN	59
6.1 Kesimpulan.....	59
6.2 Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA.....	61
LAMPIRAN	70



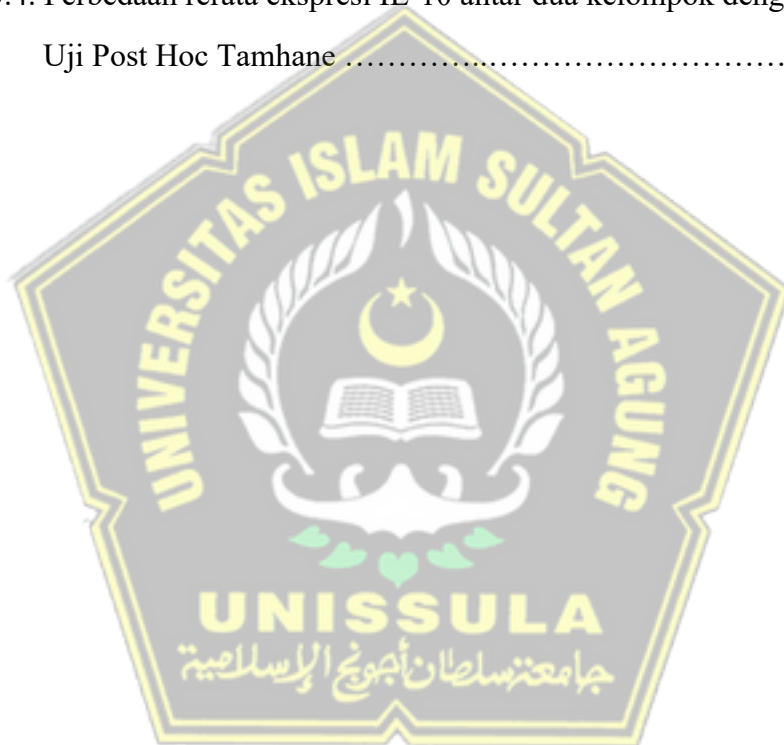
DAFTAR SINGKATAN



AD	: <i>Atopic Dermatitis</i>
ADSC-Exos	: <i>Adipose-Derived Stem Cell Exosomes</i>
ASC	: <i>Adipose Stem Cell</i>
BM-MSC	: <i>Bone Marrow-Mesenchymal Stem Cell</i>
CD54	: <i>Cluster of Differentiation 54</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
EH-MSCs	: <i>Exosome Hipoxia Mesenchymal Stem Cells</i>
IFN- γ	: <i>Interferon Gamma</i>
IL-10	: <i>Interleukin-10</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cells</i>
PCR	: <i>Polymerase Chain Reaction</i>
PEG	: <i>Polyethylene Glycol Regulated Kinase</i>
RIPA	: <i>Radioimmunoprecipitation Assay</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SOD1	: <i>Superoksida Dismutase 1</i>
SOD2	: <i>Superoksida Dismutase 2</i>
TFF	: <i>Tangential Flow Filtration</i>
TH1	: <i>Sel T Helper tipe 1</i>
TH2	: <i>Sel T Helper tipe 2</i>
Treg	: <i>Regulatory T cells</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi IFN- γ	48
Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi IFN- γ antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc LSD	48
Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-10.....	50
Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi IL-10 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane	51

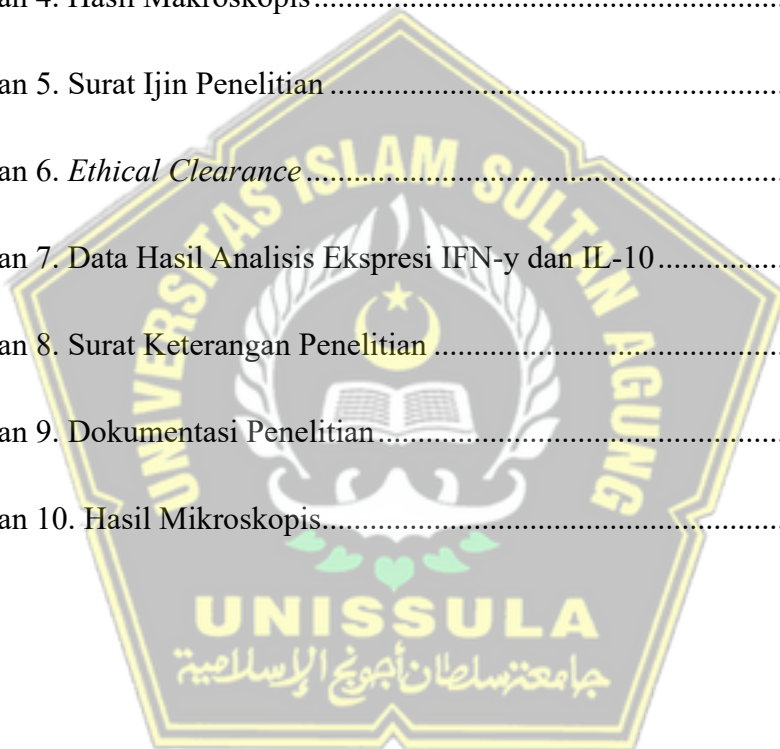


DAFTAR GAMBAR

Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	24
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	25
Gambar 4.1.	Alur Rancangan Penelitian	26
Gambar 4.2.	Alur Penelitian.....	41
Gambar 5.1.	Morfologi MSC. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31..	42
Gambar 5.2.	Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B) Chondrocyte pada pewarnaan alician blue (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 100x).....	43
Gambar 5.3.	Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i> menggunakan marker P291	44
Gambar 5.4.	Validasi Dermatitis atopik Mencit sehat.....	45
Gambar 5.5.	Hasil Makroskopis <i>Atopic Dermatitis-like</i> pada Mencit C57BL ..	46
Gambar 5.6.	Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x	47
Gambar 5.6.	Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x	47
Gambar 5.7.	Grafik ekspresi IFN- γ	49
Gambar 5.8.	Grafik ekspresi IL-10	52

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Pre-Study Atopic Dermatitis Timeline	70
Lampiran 2. Mencit C57BL model <i>Atopic Dermatitis like</i> yang diinduksi MC903 (<i>calcipotriol</i>)	71
Lampiran 3. Histologi <i>Atopic Dermatitis-like</i>	73
Lampiran 4. Hasil Makroskopis	74
Lampiran 5. Surat Ijin Penelitian	79
Lampiran 6. <i>Ethical Clearance</i>	80
Lampiran 7. Data Hasil Analisis Ekspresi IFN- γ dan IL-10.....	81
Lampiran 8. Surat Keterangan Penelitian	85
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	88
Lampiran 10. Hasil Mikroskopis.....	89



ABSTRAK

Latar Belakang: Dermatitis atopik merupakan penyakit inflamasi kulit kronis yang ditandai lesi gatal, eritematosa, dan bersisik, terutama pada area fleksural. Kondisi ini melibatkan disregulasi imun dengan perubahan ekspresi sitokin, termasuk *Interferon- γ* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10). *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) diketahui memiliki efek imunomodulator, mampu menekan respons inflamasi, meningkatkan regenerasi epitel, dan memperbaiki kondisi kulit. Namun, penelitian mengenai pengaruh EH-MSCs terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10 pada model dermatitis atopik masih terbatas.

Tujuan: Membuktikan pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10 pada mencit C57BL betina model dermatitis atopik-like yang diinduksi MC903 (calcipotriol).

Metode: Penelitian eksperimental in vivo dengan desain *randomized post test only control group*. Mencit dibagi menjadi lima kelompok: kontrol sehat, kontrol negatif, kontrol terapi dexamethason, serta dua kelompok terapi EH-MSCs dosis 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$. Ekspresi IFN- γ dan IL-10 dianalisis menggunakan qRT-PCR. Analisis statistik menggunakan One Way ANOVA dan uji lanjut LSD.

Hasil: Ekspresi IFN- γ tertinggi terdapat pada kelompok kontrol negatif ($1,97 \pm 0,17$) dan dexamethason ($1,36 \pm 0,40$). Ekspresi IL-10 tertinggi ditemukan pada kelompok EH-MSCs 200 $\mu\text{g/kgBB}$ ($1,83 \pm 0,41$) dan 100 $\mu\text{g/kgBB}$ ($1,38 \pm 0,37$). Pemberian EH-MSCs menunjukkan kecenderungan menurunkan ekspresi IFN- γ dibandingkan kontrol negatif serta meningkatkan ekspresi IL-10 dibandingkan kontrol.

Kesimpulan: EH-MSCs dosis 200 $\mu\text{g/kgBB}$ lebih efektif menurunkan ekspresi IFN- γ dibandingkan dosis 100 $\mu\text{g/kgBB}$. Selain itu, pemberian EH-MSCs dosis 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$ meningkatkan ekspresi IL-10 pada mencit model dermatitis atopik-like.

Kata Kunci: Atopic Dermatitis Like, IFN- γ , IL-10, dan EH-MSCs

ABSTRACT

Background: Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disease characterized by itchy, erythematous and scaly lesions, especially in the flexural areas. This condition involves immune dysregulation with altered expression of cytokines, including Interferon- γ (IFN- γ) and Interleukin-10 (IL-10). Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs) are known to have immunomodulatory effects, being able to suppress inflammatory responses, increase epithelial regeneration, and improve skin conditions. However, research on the effect of EH-MSCs on the expression of IFN- γ and IL-10 in atopic dermatitis models is still limited.

Objective: To prove the effect of giving EH-MSCs on the expression of IFN- γ and IL-10 in female C57BL mice model of atopic dermatitis-like induced by MC903 (calcipotriol)

Method: In vivo experimental research with a randomized post test only control group design. Mice were divided into five groups: healthy control, negative control, dexamethasone therapy control, and two EH-MSCs treatment groups at doses of 100 $\mu\text{g/kgBW}$ and 200 $\mu\text{g/kgBW}$. IFN- γ and IL-10 expression was analyzed using qRT-PCR. Statistical analysis used One Way ANOVA and further LSD test.

Results: The highest IFN- γ expression was in the negative control group (1.97 ± 0.17) and dexamethasone (1.36 ± 0.40). The highest IL-10 expression was found in the EH-MSCs 200 $\mu\text{g/kgBW}$ (1.83 ± 0.41) and 100 $\mu\text{g/kgBW}$ (1.38 ± 0.37) groups. Administration of EH-MSCs showed a tendency to reduce IFN- γ expression compared to negative controls and increase IL-10 expression compared to controls.

Conclusion: EH-MSCs at a dose of 200 $\mu\text{g/kgBW}$ is more effective in reducing IFN- γ expression than a dose of 100 $\mu\text{g/kgBW}$. In addition, administration of EH-MSCs at doses of 100 $\mu\text{g/kgBW}$ and 200 $\mu\text{g/kgBW}$ increased IL-10 expression in the atopic dermatitis-like model.

Keywords: *Atopic Dermatitis Like, IFN- γ , IL-10, dan EH-MSCs*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dermatitis atopik (*atopic dermatitis*, AD) merupakan penyakit kulit inflamasi kronis yang bersifat kambuh-ulang, ditandai oleh kulit yang sangat kering (*xerosis*), ruam eritematosa yang gatal (*pruritus*), serta inflamasi yang sering terjadi di lipatan tubuh dan disertai gangguan fungsi *barrier* kulit; penyakit ini tidak hanya menurunkan kualitas hidup penderita dan keluarganya tetapi juga menimbulkan beban ekonomi yang signifikan. Masalah utama dalam penanganannya adalah kontrol *flare* yang belum optimal karena terapi tradisional (emolien, kortikosteroid topikal, pengelolaan infeksi) seringkali tidak cukup untuk kasus sedang hingga berat, sementara terapi sistemik atau biologis bisa mahal, akses terbatas, dan memiliki risiko efek samping.¹ Sejumlah penelitian menunjukkan berkurangnya kapasitas sel T perifer untuk memproduksi IFN- γ dan berkurangnya keberadaan IFN- γ pada kulit yang terkena Dermatitis atopik. Penelitian membuktikan potensi IFN- γ untuk berkontribusi terhadap gangguan sawar kulit dengan menurunkan regulasi *tight junction* atau sintesis *ceramide*. IFN- γ memediasi apoptosis keratinosit yang bergantung pada Fas dan mendorong inflamasi, khususnya dalam konteks dermatitis atopik.² Adapun IL-10 adalah sitokin antiinflamasi terkenal yang menekan gejala pada berbagai gangguan imun.³ Cedera mekanis pada kulit akibat garukan merupakan ciri penting Dermatitis atopik dan telah terbukti menginduksi ekspresi lokal mRNA IL-10 pada kulit manusia.⁴ Pemberian Exosome MSCs pada mencit model

dermatitis tidak hanya menekan respons imun pro-inflamasi (IFN- γ), tetapi juga meningkatkan respon anti-inflamasi seperti IL-10, sehingga menciptakan keseimbangan imun yang mendukung perbaikan jaringan kulit dan penyembuhan luka.

Data epidemiologi di Indonesia memperlihatkan bahwa 97% dari 389 kasus penyakit kulit adalah dermatitis kontak, sebanyak 66,3% dari kasus tersebut adalah dermatitis kontak iritan dan 33,7% adalah dermatitis kontak alergi.⁵ Prevalensi dermatitis sebagian besar didominasi kelompok perempuan khususnya dalam periode reproduksi umur 15-49 tahun. Data pada kasus penyakit kulit di Indonesia mengalami peningkatan setiap tahunnya. Dimana angka kejadian dermatitis pada tahun 2019 mencapai 60,79%.^{6,7}

Kortikosteroid topikal tetap menjadi standar emas pengobatan Dermatitis atopik (AD) sebagai yang tercepat dan paling efektif dalam menenangkan dan mengendalikan peradangan kulit. Efek samping lain dari penggunaan jangka panjang termasuk atrofi kulit (penipisan), telangiectasia, folikulitis, striae, purpura, dan dermatitis kontak. Selain itu, penggunaan kortikosteroid topikal jangka panjang (terutama sediaan dengan potensi tinggi atau super tinggi) pada area yang luas dapat menyebabkan supresi adrenal.⁸

Penelitian terdahulu telah menunjukkan bahwa perkembangan alergi pada Dermatitis atopik dapat ditekan oleh sel punca mesenkimal (MSC) yang berasal dari darah tali pusat manusia (UCB-MSC), sumsum tulang (BM-MSC), atau jaringan adiposa (ASC) dengan memodulasi beberapa target.⁹ Exosome

adalah nanovesikel (30–200 nm) yang dilepaskan oleh hampir semua sel dan ditemukan di semua cairan tubuh. Exosome mengirimkan muatannya (protein, lipid, dan asam nukleat) dari sel asal ke sel penerima.¹⁰ Beberapa penelitian menunjukkan bahwa pemberian Exosome dari EH-MSCs dapat menurunkan ekspresi IFN- γ , sebuah sitokin yang biasa diproduksi oleh sel T helper 1 (Th1) dan terlibat dalam memperparah peradangan kulit. Penelitian yang dilakukan oleh Chen, *et al.* Exosome dari MSC yang dipaparkan pada hipoksia menunjukkan penurunan ekspresi IFN- γ pada model mencit dengan luka inflamasi, serta menghambat infiltrasi sel imun yang memproduksi IFN- γ . Penurunan IFN- γ ini berperan dalam meredakan peradangan yang kronik dan mencegah kerusakan jaringan lebih lanjut.¹¹ Sebaliknya, Exosome EH-MSCs juga berperan dalam meningkatkan ekspresi IL-10, sebuah sitokin anti-inflamasi penting yang dihasilkan oleh sel T regulator dan makrofag M2. IL-10 berfungsi menekan aktivasi sel T, produksi sitokin pro-inflamasi, serta mendorong resolusi peradangan. Dalam model dermatitis atopik pada mencit yang diteliti oleh Wu, *et al.*

Exosome dari MSC hipoksia secara signifikan meningkatkan ekspresi IL-10 baik di serum maupun di jaringan kulit, yang berkorelasi dengan perbaikan histologis dan penurunan skor dermatitis.¹² Maka dari itu penelitian ini bermaksud akan membuktikan efek dari *Exosome hypoxia mesenchymal stem cells* (MSCs) terhadap ekspresi *Interferon Gamma* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10) pada Mencit C57BL Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

1.2.Rumusan Masalah

Apakah terdapat Pengaruh Pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap Ekspresi *Interferon Gamma* (IFN- γ) dan Interleukin-10 (IL-10) pada Mencit C57BL Betina Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*)?

1.3.Tujuan Penelitian

a. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan Pengaruh Pemberian EH-MSCs terhadap Ekspresi IFN- γ dan IL-10 pada Mencit C57BL Betina Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

b. Tujuan khusus

1. Membuktikan perbedaan ekspresi IFN- γ antar kelompok EH-MSCs dosis 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dibandingkan dengan dosis 200 $\mu\text{g/kgBB}$ pada kelompok kontrol Mencit C57BL Betina Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).
2. Membuktikan perbedaan ekspresi IL-10 antar kelompok EH-MSCs dosis 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dibandingkan dengan dosis 200 $\mu\text{g/kgBB}$ pada kelompok kontrol Mencit C57BL Betina Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

1.4.Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Variabel Bebas	Hasil
1.	Xinyu Qiu, <i>et al</i> , 2020 ¹³	<i>Exosomes released from educated mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing via promoting angiogenesis.</i>	Pemberian Exosome yang dilepaskan dari sel punca mesenkimal (MSCs)	Exosome yang dilepaskan dari MSCs yang telah diedukasi mampu mempercepat penyembuhan luka kulit dengan cara meningkatkan angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru). Mekanismenya melibatkan aktivasi jalur AKT/eNOS pada sel endotel, yang berperan dalam proses angiogenesis.
2.	Hernán Gonzalez-King, <i>et al</i> , 2017 ¹⁴	<i>Hypoxia Inducible Factor-1α Potentiates Jagged 1-Mediated Angiogenesis by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes</i>	Pemberian Exosome yang dihasilkan dari sel punca mesenkimal (MSCs) overekspresi Hypoxia Inducible Factor-1α (HIF-1α)	Exosome yang berasal dari MSC yang secara stabil mengekspresikan HIF-1α memiliki peningkatan kapasitas angiogenik sebagian melalui peningkatan pengemasan Jagged1.
3.	Byong Seung Cho, <i>et al</i> , 2018 ¹⁵	<i>Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis</i>	Pemberian Exosome MSC yang berasal dari (ASC-exosomes)	Exosome ASC dapat menjadi modalitas terapi bebas sel yang menjanjikan untuk pengobatan Dermatitis Atopik

4.	Kyong-Oh Shin, <i>et al</i> , 2020 ¹⁶	<i>Exosomes from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Epidermal Barrier Repair by Inducing de Novo Synthesis of Ceramides in Atopic Dermatitis</i>	ASC-exosome dosis bervariasi vs kontrol di model dermatitis (oxazolone-induced atau antigen)	Perbaikan barier kulit: penurunan TEWL, peningkatan hidrasi SC, peningkatan ceramide & dihidroceramide, pengurangan berbagai sitokin inflamasi termasuk IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α .
5.	Byong Seung Cho, <i>et al</i> , 2023 ¹⁷	<i>Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis</i>	EV / exosome dari MSC adiposa anjing (cASC-EVs), diberikan ke model mencit AD yang diinduksi Biostir atau bisa juga pada hewan anjing model, dosis berbeda	Mengurangi IL-4 dan IFN- γ dalam serum (sitokin inflamasi), mengurangi ketebalan telinga / inflamasi, menurunkan IgE; menunjukkan efek imunomodulasi.

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi penyembuhan Dermatitis Atopik, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap ekspresi *Interferon Gamma* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10) pada Mencit Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*) sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

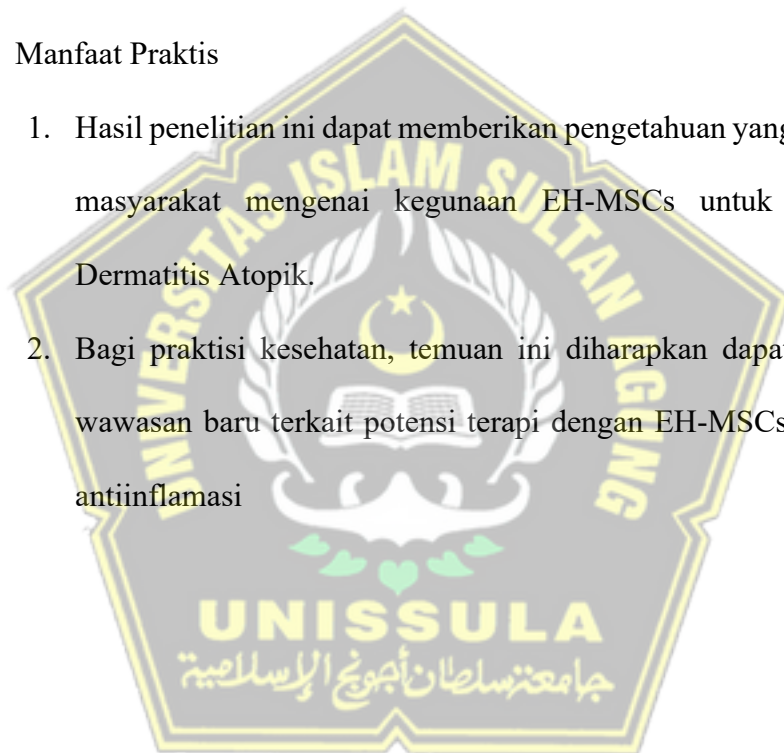
1.5. Manfaat penelitian

a. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *EH-MSCs* terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10 pada Mencit C57BL Betina Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

b. Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian ini dapat memberikan pengetahuan yang berguna bagi masyarakat mengenai kegunaan *EH-MSCs* untuk memperbaiki Dermatitis Atopik.
2. Bagi praktisi kesehatan, temuan ini diharapkan dapat memberikan wawasan baru terkait potensi terapi dengan *EH-MSCs* sebagai agen antiinflamasi



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Dermatitis

2.1.1 Definisi

Dermatitis merupakan peradangan pada kulit (epidermis dan dermis) sebagai respons terhadap berbagai faktor internal, yang menyebabkan perubahan klinis berupa lesi kulit polimorfik seperti kemerahan, pembengkakan, papula, vesikel, sisik, serta penebalan kulit, disertai rasa gatal. Lesi polimorfik ini tidak selalu muncul bersamaan, bahkan dalam beberapa kasus hanya sebagian tanda yang muncul (oligomorfik). Dermatitis cenderung berulang dan bisa berkembang menjadi kondisi kronis. Istilah dermatitis dan eksim sering digunakan secara bergantian untuk menggambarkan sekelompok kelainan kulit dengan tampilan klinis yang serupa.¹⁸

2.1.2 Etiologi Dermatitis

Penyebab dermatitis bisa berasal dari faktor eksternal (eksogen), seperti paparan bahan kimia (contohnya detergen, asam, basa, oli, semen), faktor fisik (seperti paparan sinar dan suhu), atau mikroorganisme (seperti bakteri dan jamur). Selain itu, dermatitis juga dapat dipicu oleh faktor internal (endogen), seperti pada kasus dermatitis atopik. Sebagian kasus lainnya tidak memiliki etiologi yang diketahui secara pasti.¹⁸

2.2 Dermatitis Atopik

2.2.1 Definisi

Dermatitis atopik adalah kelainan kulit inflamasi umum yang ditandai dengan lesi eksim berulang dan rasa gatal yang hebat. Kelainan ini memengaruhi orang-orang dari segala usia dan etnis, memiliki dampak psikososial yang substansial pada pasien dan kerabat, dan merupakan penyebab utama beban global akibat penyakit kulit. Dermatitis atopik dikaitkan dengan peningkatan risiko berbagai penyakit penyerta, termasuk alergi makanan, asma, rinitis alergi, dan gangguan kesehatan mental. Patofisiologinya kompleks dan melibatkan predisposisi genetik yang kuat, disfungsi epidermis, dan inflamasi yang didorong oleh sel-T. Meskipun mekanisme tipe-2 dominan, ada semakin banyak bukti bahwa kelainan ini melibatkan berbagai jalur imun.¹⁹

2.3 Interferon gamma (IFN- γ)

IFN- γ adalah sitokin Th1 yang representatif, dan terlibat tidak hanya dalam respons imun sistemik tetapi juga kutan seperti reaksi hipersensitivitas kontak. IFN- γ memiliki berbagai efek pada keratinosit untuk meningkatkan fungsi imunologi, misalnya, ekspresi CD54, produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1 α dan TNF- α , dan produksi kemokin terkait Th1 dan Th2. IFN- γ juga memodulasi fungsi sel Langerhans, termasuk ekspresi kompleks histokompatibilitas utama dan produksi sitokin dan kemokin. Dermatitis atopik (DA) adalah dermatosis kronis, gatal, dan inflamasi dengan gangguan penghalang permeabilitas epidermis. Pada lesi kronis pada pasien AD, IFN- γ

diekspresikan secara melimpah.²⁰ Fungsi protektif IFN- γ pada AD adalah mekanisme yang mapan dalam konteks respon antivirus dan antibakterinya.²¹

Interferon telah diklasifikasikan menjadi tiga kelas yaitu α , β , dan γ . Interferon- α dan - β adalah interferon tipe I, sedangkan interferon- γ ditetapkan sebagai interferon tipe II. Interferon memiliki efek pada berbagai komponen sistem kekebalan tubuh termasuk aktivitas antivirus, antiproliferatif, dan imunomodulator. Pada saat interferon pertama kali dieksplorasi sebagai agen terapeutik, dermatitis atopik dipandang sebagai penyakit yang dimediasi sel tipe 2 yang relatif murni dengan kekurangan sitokin tipe 1.²²

Secara fisiologis, IFN- γ diproduksi dalam kadar basal yang rendah pada individu sehat dan berperan dalam mempertahankan fungsi imun seluler normal, termasuk aktivasi makrofag dan peningkatan presentasi antigen. Pada dermatitis atopik fase akut, kadar IFN- γ umumnya mengalami penurunan karena dominasi respons imun Th2 yang menghasilkan sitokin seperti IL-4, IL-5, dan IL-13, yang dapat menghambat produksi IFN- γ . Sebaliknya, pada fase kronis dermatitis atopik, kadar IFN- γ mengalami peningkatan akibat aktivasi sel Th1 dan infiltrasi sel inflamasi kronis pada jaringan kulit. Peningkatan IFN- γ ini berperan dalam mempertahankan inflamasi kronis melalui stimulasi keratinosit dan peningkatan produksi mediator inflamasi. Dengan demikian, ekspresi IFN- γ cenderung menurun pada fase akut dan meningkat pada fase kronis dermatitis atopik.

2.4 *Interleukin-10* (IL-10)

Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin anti-inflamasi yang memainkan peran penting dalam mengatur respons imun tubuh. IL-10 diproduksi oleh berbagai jenis sel imun, termasuk monosit, makrofag, sel T regulator (Treg), dan sel B regulator (Breg). Fungsi utama IL-10 adalah menekan produksi sitokin pro-inflamasi seperti IFN- γ , IL-12, dan TNF- α , serta menghambat ekspresi molekul MHC kelas II dan molekul kostimulator pada sel penyaji antigen (APC). Melalui mekanisme ini, IL-10 membantu mencegah reaksi imun yang berlebihan dan kerusakan jaringan yang dapat terjadi akibat peradangan kronis.⁴⁸

Pada dermatitis atopik, IL-10 memiliki peran yang kompleks. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 yang rendah pada pasien dermatitis atopik dapat menyebabkan ketidakseimbangan antara respons Th1 dan Th2, yang berkontribusi pada peradangan kronis pada kulit. Selain itu, IL-10 diketahui dapat menghambat proliferasi sel T yang diinduksi oleh antigen dan produksi sitokin Th1 dan Th2, menunjukkan peran imunomodulatornya dalam patogenesis penyakit atopik.⁴⁹ IL-10 juga dapat mempengaruhi ekspresi peptida antimikroba (AMP) pada kulit. Penelitian oleh Howell, et al menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi IL-10 pada lesi kulit dermatitis atopik dapat menurunkan ekspresi peptida antimikroba. Penurunan AMP ini menyebabkan melemahnya sistem pertahanan kulit, sehingga meningkatkan kerentanan terhadap infeksi pada pasien dermatitis atopik. Peningkatan IL-10 berkontribusi terhadap penurunan kemampuan kulit dalam melawan

mikroorganisme, terutama *Staphylococcus aureus*, yang sering ditemukan pada lesi dermatitis atopik.⁵⁰

Sel T regulator (T-reg) merupakan komponen penting dalam menjaga toleransi imun dan mengendalikan inflamasi melalui produksi sitokin antiinflamasi, terutama *interleukin-10* (IL-10). Pada dermatitis atopik, fungsi dan jumlah T-reg dapat mengalami gangguan, yang menyebabkan penurunan produksi IL-10 dan berkontribusi terhadap disregulasi respons imun serta peningkatan inflamasi kulit. IL-10 yang diproduksi oleh T-reg berperan dalam menekan aktivasi sel T efektor, menghambat produksi sitokin proinflamasi seperti IFN- γ dan IL-4, serta mengurangi aktivitas sel dendritik dan infiltrasi sel inflamasi ke jaringan kulit. Selain itu, IL-10 juga membantu mempertahankan homeostasis imun kulit dan mencegah kerusakan jaringan akibat inflamasi kronis. Penurunan fungsi T-reg dan produksi IL-10 telah dikaitkan dengan peningkatan keparahan dermatitis atopik, sedangkan peningkatan aktivitas T-reg dapat mengurangi inflamasi dan memperbaiki kondisi lesi kulit, sehingga menunjukkan bahwa T-reg dan IL-10 memiliki peran penting sebagai regulator imun dan target potensial terapi pada dermatitis atopik.⁶⁸

Dalam kondisi normal, IL-10 diproduksi dalam kadar fisiologis rendah hingga sedang untuk menjaga keseimbangan sistem imun dan mencegah terjadinya inflamasi berlebihan. Pada fase akut dermatitis atopik, kadar IL-10 umumnya mengalami penurunan, sehingga kemampuan tubuh dalam mengendalikan respons inflamasi menjadi berkurang dan peradangan kulit semakin meningkat. Namun, pada fase kronis dermatitis atopik, kadar IL-10

dapat mengalami peningkatan sebagai mekanisme kompensasi untuk membatasi kerusakan jaringan akibat inflamasi yang berlangsung lama. Meskipun demikian, peningkatan IL-10 ini juga dapat menekan respons imun protektif kulit, termasuk menurunkan produksi peptida antimikroba, sehingga meningkatkan risiko infeksi kulit.

2.5 Mesenchymal Stem Cell (MSCs)

Sel punca/stroma mesenkimal (MSC) adalah sel punca dewasa multipotensi yang memiliki potensi proliferasi terbatas tetapi memiliki diferensiasi dan kapasitas pembaruan diri yang luas secara *in vitro* dan *in vivo*. Kemampuan MSC berupa multipotensi, kemampuan ekspansi, hip imunogenisitas, dan sifat imunoregulasi menjanjikan untuk regenerasi jaringan. Penelitian telah menunjukkan bahwa MSC memiliki kemampuan hebat untuk menjalani diferensiasi *trilineage* menjadi osteosit, kondrosit, dan adiposit. MSC dapat diperoleh dari berbagai jaringan seperti darah tali pusat, sumsum tulang, jaringan adiposa, atau jaringan ikat lainnya. Saat ini, MSC telah diidentifikasi sebagai sumber sel yang berharga untuk terapi termasuk karakteristik imunomodulasi, angiogenesis, anti-apoptosis, anti-fibrotik, dan aktivitas kemo-atraktif. Selain itu, faktor parakrin yang disekresikan dari MSC difasilitasi untuk mendukung pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel tetangga ke tempat ia ditransplantasikan.²³

Di antara sel punca, MSC dianggap memiliki berbagai macam aplikasi terapeutik. MSC memiliki beberapa kemampuan biologis yang unik karena potensi terapeutik imunomodulatori dan regeneratifnya. MSC juga memiliki

kemampuan untuk memodulasi respons humoral dan seluler. MSC memiliki potensi untuk mengeluarkan sitokin dan kemokin anti-inflamasi yang membuatnya cocok untuk mengobati gangguan autoimun.²³

2.6 Calcipotriol

Calcipotriol, juga dikenal sebagai calcipotriene atau MC903, merupakan analog sintetik vitamin D3 yang memiliki aktivitas biologis melalui ikatan dengan vitamin D *receptor* (VDR) pada berbagai sel, terutama keratinosit dan sel imun. Aktivasi reseptor ini mempengaruhi proliferasi, diferensiasi, dan fungsi imun sel kulit. Secara klinis, calcipotriol digunakan secara luas sebagai terapi topikal untuk psoriasis karena kemampuannya menghambat proliferasi keratinosit, menginduksi diferensiasi sel, serta menekan respons inflamasi. Selain itu, calcipotriol juga memodulasi sistem imun dengan mempengaruhi aktivitas sel T, sel dendritik, dan produksi sitokin, termasuk meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi tertentu pada kondisi tertentu. Efek imunomodulator ini menjadikan calcipotriol tidak hanya berperan sebagai agen antiproliferasi tetapi juga sebagai regulator respons imun kulit.

Dalam penelitian eksperimental, khususnya pada model hewan, calcipotriol (MC903) digunakan secara luas untuk menginduksi model dermatitis atopik-like. Pemberian topikal MC903 pada kulit mencit dapat mengaktifasi vitamin D *receptor* pada keratinosit, yang kemudian meningkatkan produksi sitokin epitelial seperti thymic stromal lymphopoietin (TSLP), IL-25, dan IL-33. Sitokin ini berperan penting dalam mengaktifasi respons imun tipe Th2, menyebabkan infiltrasi sel inflamasi, peningkatan IgE,

penebalan epidermis, dan gejala klinis menyerupai dermatitis atopik manusia. Oleh karena itu, model MC903 dianggap sebagai salah satu model eksperimental yang paling valid untuk mempelajari patogenesis dermatitis atopik dan mengevaluasi efektivitas terapi baru, termasuk terapi berbasis mesenchymal stem cell dan *exosome*.^{69,70}

2.7 *Exosome* MSCs

Exosome adalah vesikel berukuran nano, berkisar antara 30-200 nm, yang dilepaskan oleh setiap sel dalam tubuh manusia dan terdapat dalam semua cairan tubuh. *Exosome* menjalankan perannya dalam komunikasi antarsel karena membawa dan mengirimkan berbagai protein, asam nukleat, dan lipid tergantung pada jenis sel yang melepaskannya.²⁴

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

Alternatif bebas sel yang unik untuk terapi sel berbasis MSC, yang disebut *Exosome* yang diproduksi dari MSC, memainkan peran penting sebagai

perantara utama dalam tindakan pengobatan MSC. Jika dibandingkan dengan pengobatan transplantasi MSC, *Exosome* yang berasal dari MSC menunjukkan manfaat seperti keamanan yang lebih baik, stabilitas, dan kemudahan penyimpanan, pengangkutan, dan pemberian. *Exosome* yang dihasilkan dari MSC dapat membantu penyembuhan jaringan dengan memberikan banyak senyawa terapeutik, yang lebih penting, miRNA. Setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh, miRNA *Exosome* berpartisipasi dalam kontrol gen pasca-transkripsi. MiRNA *Exosome* adalah pemain kunci dalam regulasi pasca-transkripsi ekspresi gen setelah diambil oleh sel di dekat atau jauh. MiRNA *Exosome* memasuki sel target dan, menggunakan komplementaritas sekuens parsial, bergabung dengan mRNA gen target. Tujuh nukleotida (nukleotida 2–8) di ujung 5' miRNA mencakup daerah benih, yang penting untuk pengenalan mRNA. MiRISC mengontrol translasi mRNA target dengan mengarahkan miRNA untuk menempel pada mRNA target.²⁶

2.8 Induksi *Exosome* MSCs dengan teknik Hipoksia

MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan melepaskan berbagai molekul pro-regenerasi.²⁹⁻³¹ Hal ini memunculkan teori *hypoxic preactivated MSCs-induced soluble molecule* yaitu berbagai molekul terlarut dalam medium dilepas MSCs yang mengalami hipoksia. Kondisi hipoksia pada MSCs diketahui dapat meningkatkan sekresi sitokin anti-inflamasi seperti IL-10 dan ekspresi berbagai macam antioksidan, seperti GPX, *superoxide dysmutase* (SOD)1, SOD2, *catalase* (CAT) dan *sirtuin* (SIRT)1.²⁹⁻³¹ Produksi

IL-10 oleh MSCs dapat menghambat faktor transkripsi *nuclear factor kappa Beta* yang merupakan pemicu ROS.²⁷ Sisi lain, berbagai macam antioksidan yang diekspresikan secara langsung oleh MSCs melalui *Exosome*, seperti GPX mampu mengaktivasi faktor transkripsi NRF2 yang berujung pada peningkatan antioksidan.³²

Hipoksia menggambarkan adanya penurunan suplai oksigen akibat adanya ketidakseimbangan dari fungsi seluler seperti penurunan aliran darah yang dapat menyebabkan gangguan dari suplai nutrisi dan akumulasi metabolisme O₂, asam laktat, dan ammonia.³³ MSCs yang diinkubasi dalam keadaan hipoksia akan mensekresi berbagai molekul proregenerasi.

Hal tersebut memunculkan suatu teori *hypoxic-preactivated-MSCs-induced-soluble molecule* yaitu adanya berbagai macam molekul terlarut dalam medium yang akan dilepas oleh MSCs yang sedang mengalami hipoksia.³⁴⁻³⁶ Pada kondisi hipoksia, MSCs mengalami perubahan morfologi. Kemudian MSCs akan tumbuh lebih cepat dan juga dapat mempertahankan jumlah sel dengan memperbaharui diri. MSCs menghasilkan berbagai macam kemokin seperti CXCR4, CXCR7, CX3CR1, serta faktor pertumbuhan antara lain VEGF.³⁵ Berdasarkan hasil konsensus bersama Acta-Bionergetics Biokimia dan Biofisika (2008) disepakati bahwa kadar oksigen dalam kondisi hipoksia sekitar 3%-5% atau 30-50 μ M. Kadar oksigen terbaik dalam meningkatkan efek parakrin VEGF dan angiogenesis yaitu sekitar 5%.³⁶⁻³⁸

Kadar oksigen yang rendah memiliki efek pada sel yang berbeda pada berbagai jaringan. Hipoksia memiliki efek kuat seperti pada metabolisme,

angiogenesis, imunitas non spesifik dan induksi sel untuk sifat *stem cell*. Pada proses hipoksia kronis peningkatan intraseluler CA^{2+} yang berikatan dengan Calmodulin, sehingga mengaktivasi dari CaM kinase II mengalami fosforilasi (koaktivator p300) pada aktivitas transkripsi HIF-1. Jalur sinyal respons hipoksia diaktifkan HIF-1, dimulai dari sebuah rangkaian kejadian transkripsional yang menghasilkan peningkatan ekspresi protein seperti VEGF dan eritropoietin. Sel memiliki *Factor Inhibiting HIF-1* (FIH-1) yang terdapat pada asparagine residu di aktivasi transkripsi C- terminal untuk mencegah interaksi antara transkripsi co-aktivator CBP/p300 sehingga menghambat ekspresi dari HIF-1. Pada kondisi hipoksia, FIH-1 menjadi non aktif sehingga aktivasi dari transkripsi HIF-1.³⁹⁻⁴⁰

2.9 Efek Dermatitis terhadap *Interferon gamma* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10)

Dermatitis, khususnya dermatitis atopik, memengaruhi keseimbangan sitokin dalam sistem imun, termasuk *interferon gamma* (IFN- γ) dan interleukin-10 (IL-10). Penelitian menunjukkan bahwa IL-10, yang dikenal sebagai sitokin anti-inflamasi, justru dapat memperkuat produksi TARC (*Thymus and Activation-Regulated Chemokine*) yang diinduksi oleh IFN- γ dan TNF- α pada sel keratinosit HaCaT. TARC berperan dalam merekrut sel T tipe Th2 ke area kulit yang meradang, sehingga memperparah peradangan pada dermatitis atopik.⁴¹

Selain itu, studi pada model mencit menunjukkan bahwa IL-10 penting untuk respons Th2 dalam dermatitis alergi. Mencit yang kekurangan IL-10 menunjukkan penurunan infiltrasi eosinofil dan ekspresi mRNA IL-4 serta IL-5, namun peningkatan produksi IFN- γ . Hal ini menunjukkan bahwa IL-10 berperan dalam mendorong respons imun Th2 dan menghambat respons Th1, yang dapat memperburuk kondisi dermatitis.⁴² Selain itu, IFN- γ dapat memperburuk fungsi penghalang kulit dengan menurunkan ekspresi enzim yang penting untuk sintesis ceramide, seperti ELOVL dan CerS. Penurunan ceramide ini mengganggu integritas stratum korneum, lapisan terluar kulit, sehingga meningkatkan kehilangan air dan mempermudah penetrasi alergen serta mikroorganisme, yang memperparah gejala dermatitis.⁴³ IL-10 dikenal sebagai sitokin anti-inflamasi, pada dermatitis atopik, perannya lebih kompleks. IL-10 dapat memperkuat peradangan dengan meningkatkan produksi TARC, yang menarik lebih banyak sel Th2 ke kulit. Ini menunjukkan bahwa IL-10 tidak selalu bersifat protektif dalam kondisi peradangan kronis seperti dermatitis atopik.^{41, 44}

2.10 Efek *Exosome* MSCs terhadap *Interferon gamma* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10)

Exosome yang berasal dari *Mesenchymal Stem Cells* (MSCs) menunjukkan potensi besar dalam mengatur respons imun, khususnya terhadap sitokin pro-inflamasi seperti interferon gamma (IFN- γ) dan sitokin anti-inflamasi seperti interleukin-10 (IL-10). Penelitian oleh Yang, *et al*

menunjukkan bahwa Exosome dari MSC yang diperlakukan dengan IFN- γ dapat meningkatkan kadar miR-125a dan miR-125b, yang menargetkan STAT3, sehingga menghambat diferensiasi sel Th17 dan meningkatkan proporsi sel T regulator (Treg). Hal ini berkontribusi pada peningkatan produksi IL-10 dan penurunan IFN- γ , yang penting dalam pengobatan kolitis eksperimental.⁴⁵ Studi lain oleh Wang, *et al* menunjukkan bahwa Exosome dari MSC yang dirangsang dengan TGF- β dan IFN- γ dapat meningkatkan transformasi sel mononuklear menjadi sel Treg, dengan peningkatan ekspresi IL-10 dalam Exosome. Ini menunjukkan bahwa Exosome MSC dapat memodulasi keseimbangan antara sel Th1/Th17 dan Treg, yang penting dalam pengobatan penyakit autoimun dan inflamasi.⁴⁶ Selain itu, penelitian oleh Zhang, *et al* menunjukkan bahwa Exosome MSC dapat meningkatkan produksi IL-10 dalam kultur sel mononuklear darah perifer (PBMC), yang berkontribusi pada efek imunomodulator Exosome tersebut. Ini menunjukkan bahwa Exosome MSC dapat digunakan sebagai terapi untuk penyakit inflamasi kronis dengan meningkatkan produksi IL-10.⁴⁷

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Dermatitis Atopik adalah penyakit heterogen yang diduga dipicu oleh faktor lingkungan pada individu yang rentan secara genetik. Efek gen-gen dan gen-lingkungan dianggap menjelaskan mekanisme patologis yang mendasari kelainan penghalang epidermis dan peradangan kulit yang didorong oleh sel T. Disbiosis mikrobiota kulit juga dapat berperan dalam patogenesis dermatitis atopik, dan pengaruh relatif dan temporal dari semua mekanisme ini dapat menjelaskan heterogenitas klinis yang diamati di antara pasien dengan dermatitis atopik.⁵¹ Pada kulit atopik, terjadi penurunan bakteri komensal dari genus *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium* dan jenis *Proteobacteria* dengan peningkatan ke arah genus *Staphylococcus* secara umum (khususnya *S. aureus*).⁵³

Dermatitis atopik merupakan penyakit inflamasi kronis pada kulit yang ditandai dengan disregulasi imun, khususnya ketidakseimbangan antara sel Th1 dan Th2. Pada DA, dominasi Th2 mendorong peningkatan produksi IgE yang berperan dalam hipersensitivitas alergi. Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) akibat stres oksidatif menyebabkan gangguan pada ekspresi filaggrin, yaitu protein penting dalam mempertahankan sawar kulit. Kekurangan filaggrin memperburuk disfungsi sawar kulit sehingga mempermudah masuknya alergen dan mikroorganisme.⁵⁴⁻⁵⁵

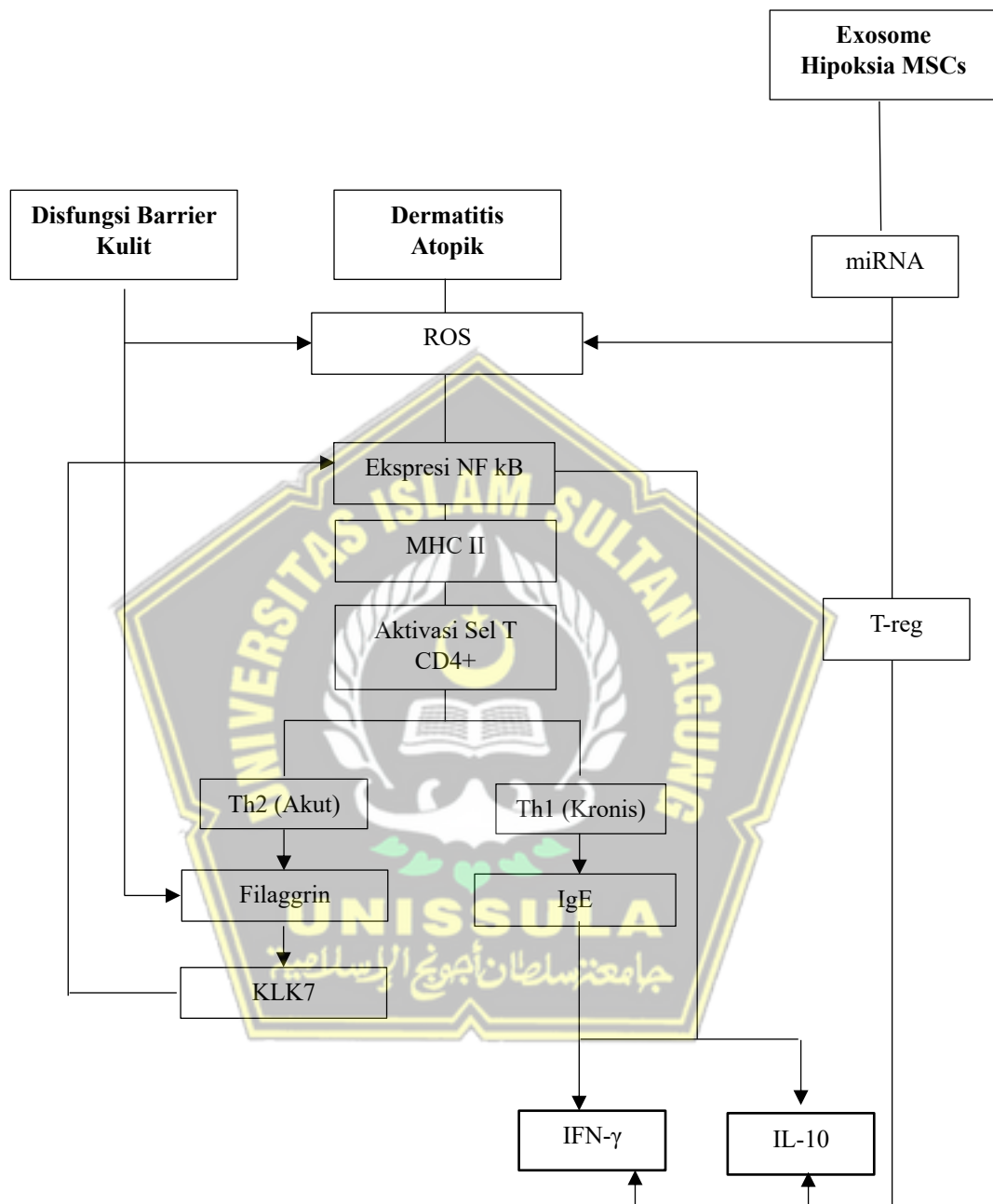
Aktivasi jalur imun pada dermatitis atopik ditandai dengan peningkatan kadar IgE yang merangsang aktivasi sel T helper CD4⁺. Aktivasi sel ini memicu pelepasan berbagai sitokin yang berperan dalam respons inflamasi dan berkontribusi terhadap gangguan integritas skin barrier. Ketidakseimbangan respons imun tersebut juga menyebabkan peningkatan produksi IFN- γ sebagai sitokin proinflamasi yang berperan dalam mempertahankan dan memperburuk inflamasi kronis. Dengan demikian, mekanisme ini membentuk suatu lingkaran patologis yang berkelanjutan, sehingga peradangan kulit pada dermatitis atopik terus berlangsung dan sulit mengalami resolusi.⁵⁶⁻⁵⁹

Molekul *Major Histocompatibility Complex* kelas II (MHC II) diekspresikan oleh sel penyaji antigen seperti sel dendritik dan makrofag, dan berfungsi menyajikan antigen kepada sel T helper CD4⁺, sehingga mengaktifkan sel tersebut untuk memproduksi sitokin, termasuk IFN- γ . IFN- γ selanjutnya meningkatkan ekspresi MHC II pada sel penyaji antigen sehingga memperkuat presentasi antigen dan respons imun seluler. Sebaliknya, IL-10 berperan sebagai sitokin antiinflamasi yang menghambat ekspresi MHC II dan molekul kostimulator pada sel penyaji antigen, sehingga menurunkan aktivasi sel T CD4⁺ dan produksi sitokin proinflamasi. Dengan demikian, IFN- γ meningkatkan, sedangkan IL-10 menekan ekspresi MHC II dan aktivasi sel T CD4⁺ dalam regulasi respons imun.

Exosome yang dilepaskan dari sel, termasuk *mesenchymal stem cells* (MSC), memiliki efek imunomodulator melalui muatan molekuler seperti

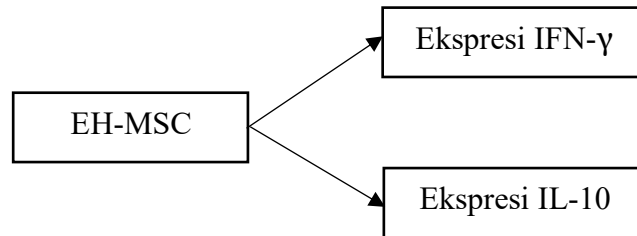
miRNA dan sitokin. Pada dermatitis atopik, *exosome* berperan penting karena membawa IL-10, suatu sitokin anti-inflamasi yang mampu menekan aktivasi Th1/Th2 serta menghambat produksi IFN- γ . Dengan demikian, *exosome* berpotensi menjadi terapi biologis yang menargetkan peradangan dan kerusakan sawar kulit pada dermatitis atopik.⁶⁰⁻⁶¹





Gambar 3.1 Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

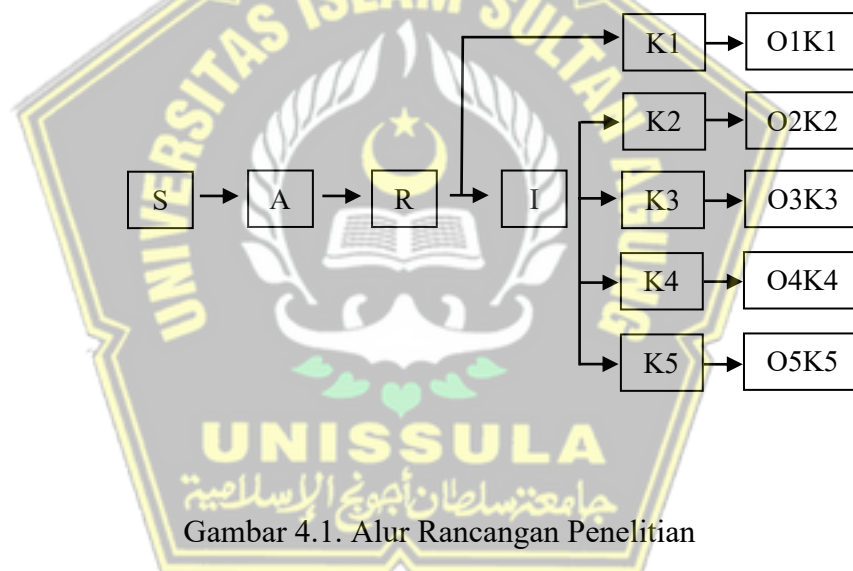
- 3.3.1. Terdapat pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap ekspresi *Interferon Gamma* (IFN- γ) dan *Interleukin-10* (IL-10) pada Mencit C57BL Model *Atopic Dermatitis like* yang diinduksi MC903 (*calcipotriol*).

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

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



Gambar 4.1. Alur Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

A : Aklimatisasi

R : Randomisasi

I : Induksi MC903 (calcipotriol)

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

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

K3: Kontrol Positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dan di terapi dengan injeksi Dexamethason 200 µl)

K4: Perlakuan 2 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* dosis 100 µg).

K5: Perlakuan 3 (Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* dosis 200 µg)

O1K1 : Observasi ekspresi IFN-γ dan IL-10 kelompok K1

O2K2 : Observasi ekspresi IFN-γ dan IL-10 kelompok K2

O3K3 : Observasi ekspresi IFN-γ dan IL-10 kelompok K3

O4K4 : Observasi ekspresi IFN-γ dan IL-10 kelompok K4

O5K5 : Observasi ekspresi IFN-γ dan IL-10 kelompok K5

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah EH-MSCs
- b. Variabel Terikat penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ekspresi IFN-γ dan IL-10
- c. Variabel Prakondisi pemberian MC903 (calcipotriol) secara topical

4.2.2 Definisi Operasional

a. EH-MSC

Exosome MSC adalah mirkovesivle berukuran 100-150 nm yang disekresikan oleh MSC ke dalam medium kultur dan kemudian diisolasi menggunakan metode *tangential flow filtrastion* dengan filter 100 kda dan 500 kda. *Exosome* MSC dibuat dalam sediaan injeksi isohidris dan isotonis *single dose*. Injeksi *exosome* terbagi dalam beberapa kelompok yaitu dosis EH-MSC 100 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik, dosis EH-MSC 200 µg/mL secara subkutan dibagi menjadi 4 titik.

Satuan : ug (mikrogram protein)

Skala : Ordinal

b. Ekspresi IFN-γ

Ekspresi IFN-γ adalah ekspresi IFN-γ yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. IFN-γ dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit mencit setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-9. Nilai normal ekspresi IFN-γ pada mencit normal 0 – 20 pg/mL

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

c. Ekspresi IL-10

Ekspresi IL-10 adalah konsentrasi yang diproduksi oleh jaringan kulit pada sampel penelitian. IL-10 dianalisis menggunakan qRT-PCR dari sampel kulit mencit setelah perlakuan dengan *exosome* MSC pada hari ke-9. Nilai normal ekspresi IL-10 pada mencit normal 0 – 10 pg/mL

Satuan : *fold change*

Skala: rasio

4.3. Subjek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1 Subyek penelitian

4.3.2 Kriteria inklusi

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

4.3.3 Kriteria Eksklusi

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

4.3.4 Kriteria *drop out*

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

4.3.5 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan adalah Spesifik-opportunistik-patogen-bebas (SOPF) C57BL (8 minggu, betina) diaklimatisasi selama tiga hari, (suhu: 22 ± 2 °C; kelembaban: $55 \pm 10\%$; siklus terang-gelap 12:12 jam) yang termasuk kriteria inklusi. Semua sampel Mencit C57BL Betina yang dipilih untuk penelitian ini setelah dinyatakan sehat dan layak oleh dokter hewan

dari Laboratorium SCCR (*Stem Cell And Cancer Research*) Semarang. Mencit C57BL Betina dipelihara di lab berventilasi cukup dan suhu ruangan 20-28°C dengan makanan dan minuman diberikan secara *ad libitum*.

4.3.6 Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *Randomized Sampling*. Mencit C57BL Betina dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok 1 Mencit C57BL Betina sehat tanpa diberi perlakuan, Kelompok 2 kontrol negatif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dengan dosis 20 mg, kelompok 3 perlakuan Mencit C57BL Betina positif (Mencit C57BL Betina diinduksi MC903 (calcipotriol) dan diterapi dengan injeksi Dexamethason), kelompok 4 perlakuan perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* 100 µg, kelompok 5 perlakuan Mencit C57BL Betina dengan paparan Dermatitis Atopik dan perlakuan injeksi *exosome* 200 µg.

4.3.7 Besar Sampel

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

C57BL Betina ditambah cadangan 5 ekor menjadi total 30 ekor.

4.4. Alat dan Bahan

4.4.1 Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan untuk membuat hewan model antara lain, UV chamber. Peralatan yang digunakan dalam kultur MSC dan isolasi *exosome* antara lain meliputi BSC, CO2 inkubator, sentrifuge, *uPulse tangential flow filtration* dan membran filtrasi TFF (*Tangential Flow Filtration*) berukuran 100 kda dan 500 kda digunakan untuk isolasi *exosome* dari medium kultur MSC. Alat yang digunakan untuk validasi MSC dan *Exosome hypoxia* MSC antara lain *Flowcytometer*, mikroskop *inverted*, *incubator*. Peralatan lain yang digunakan antara lain mikropipet, tabung sentrifuge, pelat kultur sel, botol beher, shaker, pH meter, *autoclave*, lampu UV, aluminium Foil, NBF 10%, pot sampel, masker, handscoon, alkohol 70%, *povidine iodine* 10% 60ml dan kasa steril.

4.4.2 Bahan

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

4.5 Cara Penelitian

4.5.1 Perolehan *Ethical Clearance*

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

4.5.2 Prosedur Isolasi *Mesenchymal Stem Cell* dari *Umbilical Cord*

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety cabinet class 2*, menggunakan peralatan yang steril dan dikerjakan dengan teknik sterilitas yang tinggi.

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

- i. Pemeliharaan sel berlanjut hingga 80% sel konfluensi.

4.5.3 Proses *Hypoxia*

- a. MSCs dengan konfluensi 80% dimasukkan, dan ditambahkan hingga 10 mL media penuh
- b. Selanjutnya *flask* yang mengandung MSCs ditempatkan di dalam ruang hipoksia
- c. Dalam mengukur jumlah oksigen dalam ruangan, gas nitrogen dialirkan melalui katup inlet dan pengukur oksigen ditempatkan pada lubang sensor
- d. Nitrogen disuntikkan sampai oksigen 5% ditunjukkan oleh jarum indikator
- e. *Chamber* yang telah diisi flask diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- f. Media kultur dikeluarkan setelah 24 jam dan diisolasi dengan metode TFF untuk menghasilkan EH-MSCs.

4.5.4 Pembuatan *Exosome* Hipoksia MSCs

Exosome MSC diisolasi menggunakan metode TFF. Langkah yang dilakukan antara lain media kultur MSC dikumpulkan dalam botol steril dan kemudian disaring menggunakan alat uPulse TFF dengan filter 100 kDa dan 500 kDa untuk menyisihkan partikel besar. Hasil filtrasi kemudian dilakukan validasi kandungan *Exosome hypoxia* MSC menggunakan *flowcytometri* dengan penanda permukaan berupa CD81, CD63, dan CD9.

Hasil yang telah tervalidasi mengandung *Exosome hypoxia* MSC disimpan dalam tabung 2,5 mL dan disimpan dalam suhu 2-8 °C.

4.5.5 Pemaparan Dermatitis Atopik dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Penelitian

a. Hari 0-14: Induksi dermatitis

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

5. Setelah perawatan, letakkan hewan di atas bantalan pemanas Mencit C57BL Betina bersuhu 37°C untuk menjaga suhu tubuh tetap konstan selama pemulihan, lalu kembalikan ke kandang.
 6. Selama 1 minggu berikutnya ulangi pengukuran sebelum aplikasi topikal MC903 atau EtOH (langkah 2-5). Sebanyak 7 aplikasi MC903 atau EtOH akan diterapkan, dengan aplikasi topikal terakhir pada hari ke-14.
- b. Hari ke-14: Penilaian gatal
1. Pada hari ke-14, 24 jam sebelum diberikan perlakuan, rekam video Mencit C57BL Betina dan ukur kejadian gatal melalui videografi selang waktu. Tentukan dan ukur kejadian gatal selama 30 menit
- c. Hari ke-15 & 19: Perlakuan Terapi
1. Pada hari ke-15 dan 19, Mencit C57BL Betina diberikan perlakuan sesuai dengan kelompoknya. Mencit C57BL Betina kelompok K2 diberikan injeksi perlakuan injeksi NaCl 200 µl, kelompok K3 diberikan terapi dengan injeksi Dexamethason 200 µl, Kelompok K4 diberikan injeksi *exosome* dosis 100 µg subkutan dan kelompok K5 diberikan perlakuan injeksi *exosome* dosis 200 µg subkutan.
- d. Hari ke-22: Titik akhir eksperimen
1. Pada titik akhir percobaan (hari ke 22), eutanasia Mencit C57BL Betina dengan CO₂ sesak napas, ulangi pengukuran (langkah 3), dan ambil jaringan kulit telinga menggunakan gunting tajam dan forcep steril. Untuk kelenjar getah bening yang mengalirkan cairan dari

telinga, potong kulit dengan hati-hati di daerah leher yang sesuai dan bedah kelenjar getah bening aurikular.

4.5.6 Terminasi dan Pengambilan Jaringan

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

4.5.7 Ekstraksi RNA dan Sintesis cDNA

- a. Sampel kulit difiksasi dalam formalin 10 % dan dibuat menjadi blok paraffin.
- b. Sampel kulit sebanyak 100 mg diambil dari RNA later kemudian dipotong menjadi bagian – bagian kecil dimasukkan ke dalam tube yang telah terisi 50 ml RNA Iso Plus.
- c. Potongan kulit ditumbuk menggunakan *micopastle* dan ditambahkan lagi RNA Iso Plus sebanyak 50 ml dan disimpan di suhu ruang selama 5 menit.
- d. Ditambahkan 20 ml *chloroform* dan *divortex* hingga larutan menjadi putih susu.
- e. Inkubasi pada suhu ruang selama 2-3 menit, serta disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 15 menit pada suhu 40°C hingga larutan dalam tube

terlibat memiliki 3 lapisan. Lapisan yang paling atas berupa RNA (*fase liquid*), lapisan kedua berupa DNA (*fase semisolid*) dan lapisan bawah mengandung debris-debris sel.

- f. Lapisan paling atas dipindahkan ke tabung sentrifuge baru dan volumenya diukur, dan ditambahkan isopropanolol dengan volume yang sama dengan RNA yang diambil dari lapisan paling atas.
- g. Tabung *Eppendorf* digoyang-goyangkan hingga muncul benang-benang putih, kemudian disentrifugasi pada 15.000 rpm selama 10 menit pada suhu 40°C. Supernatan dibuang sampai terlihat pellet berwarna putih didasar tabung.
- h. Setelah kering ditambahkan 100 ml etanol 70 % dalam larutan (*diethyl pyrocarbonat*) DEPC lalu bolak balikkan berulang kali serta disentrifugasi kembali 15.000 rpm selama 5 menit pada suhu 40°C.
- i. Supernatan dibuang dan ditambahkan DEPC sebanyak 30-50 µm. campuran pada suhu 55°C selama 10 menit. Selanjutnya didapatkan total RNA *solution* dan disimpan pada suhu -80°C RNA dikuantifikasi dengan nanodrop. Hasil kuantifikasi dihitung dijadikan 3000 ng.
- j. Sintesis cDNA dengan membuat campuran A dengan mencampurkan sampel RNA yang telah dihitung, 1 µl oligoDT serta PCR water hingga mencapai volume 10 µl, kemudian diinkubasi selama 5 menit dalam suhu 70°C.
- k. Campuran A ditambah dengan campuran B yang terdiri dari 5 X buffer 4 µl, DEPC-Treated H₂O 5 µl, revertraAce 1 µl. Campuran tersebut

diinkubasi pada suhu 25°C selama 5 menit, 42°C selama 50 menit dan 85°C selama 5 menit.

4.5.8 Prosedur Pewarnaan Histologi dan Imunohistologi

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

4.5.9 Prosedur Pembacaan Ekspresi IFN-γ dan IL-10 dengan *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)

- a. Ekspresi mRNA dari IFN-γ dianalisis menggunakan RT-PCR. Campuran dari 3 µl cDNA sampel, *Taq master mix* (dNTPs, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and MgCl₂) sebanyak 12,5 µl, primer spesifik pada gen IFN-γ target sebanyak 0,6 µl untuk primer forward 5'-ATGACAGACCTTCCTGAGCA-3' dan reverse 5'-CTCCTTGGGACTTGGCTTTG-3' dan 8,3 µl *Nuclease Free Water*.

- b. Ekspresi mRNA dari IL-10 dianalisis menggunakan RT-PCR. Campuran dari 3 µl cDNA sampel, *Taq master mix* (dNTPs, *Taq DNA polymerase*, *reaction buffer* and $MgCl_2$) sebanyak 12,5 µl, primer spesifik pada gen IL-10 target sebanyak 0,6 µl untuk *primer forward* 5'-G TTCAGAGCGGAGAAAGCATT-TG-3' dan *reverse* 5'-CACATCTGCAAG-TACGTTTCGTTT-3' dan 8,3µl *Nuclease Free Water*.
- c. Ekspresi gen *housekeeping GAPDH* digunakan sebagai baseline dengan *primer forward* 5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3' dan *reverse* 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'.
- d. PCR produk dianalisis menggunakan qRT-PCR illumina.
- e. Peningkatan ekspresi gen dianalisis dalam ratio peningkatan terhadap *housekeeping* gen menggunakan software *EcoStudy*

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan November 2025 - Januari 2026 di laboratorium *Animal Model Research Center SCCR* Indonesia.

4.7. Analisa Data

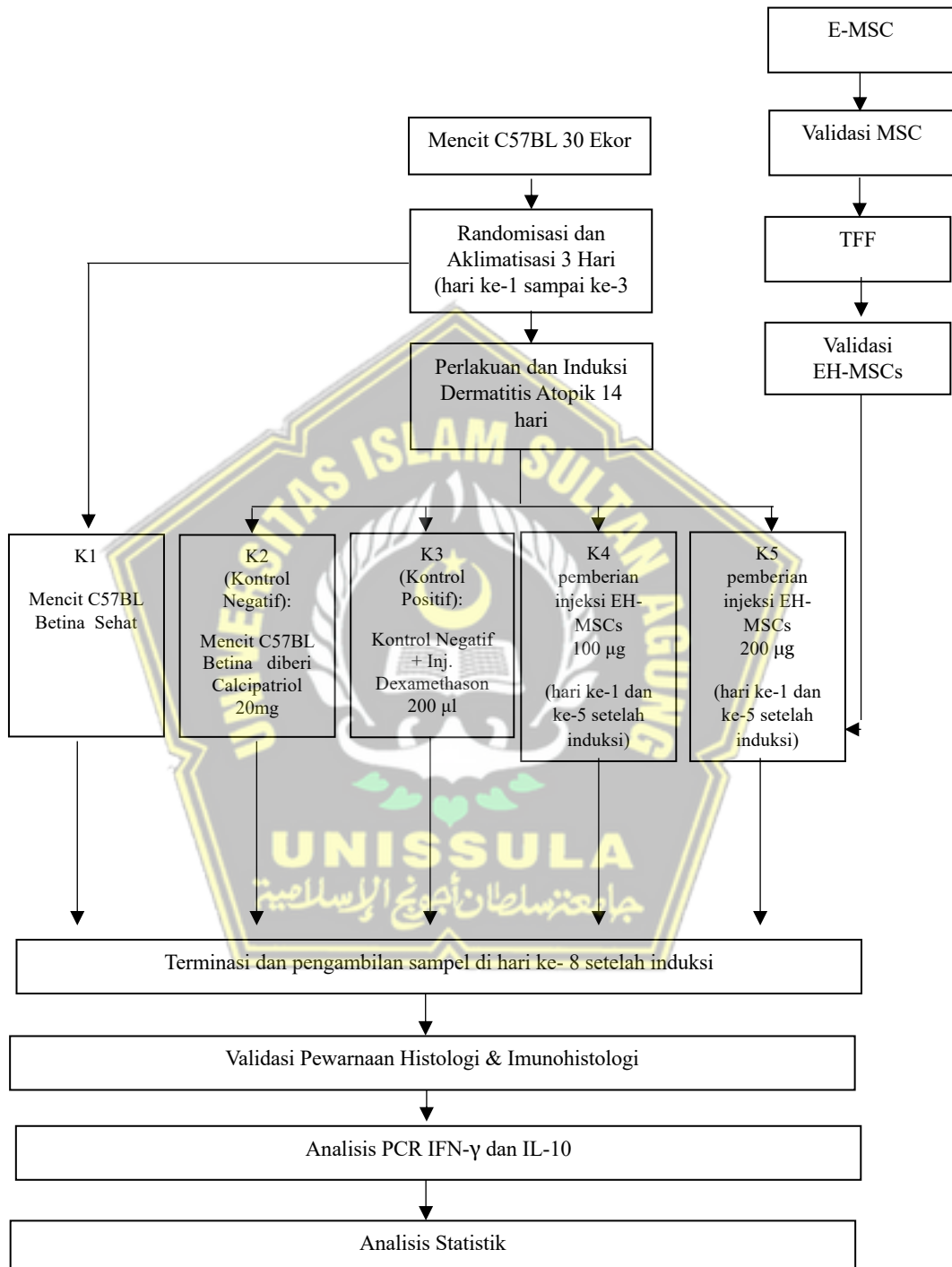
Selanjutnya, dilakukan analisis normalitas dan variasi data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan *Levene's Test*. Hasil yang menunjukkan distribusi data normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji *One-Way ANOVA* akan dilaksanakan. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$)

di antara semua kelompok penelitian setelah uji *One-Way* ANOVA, maka uji Post Hoc LSD akan diterapkan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok penelitian. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

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

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

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

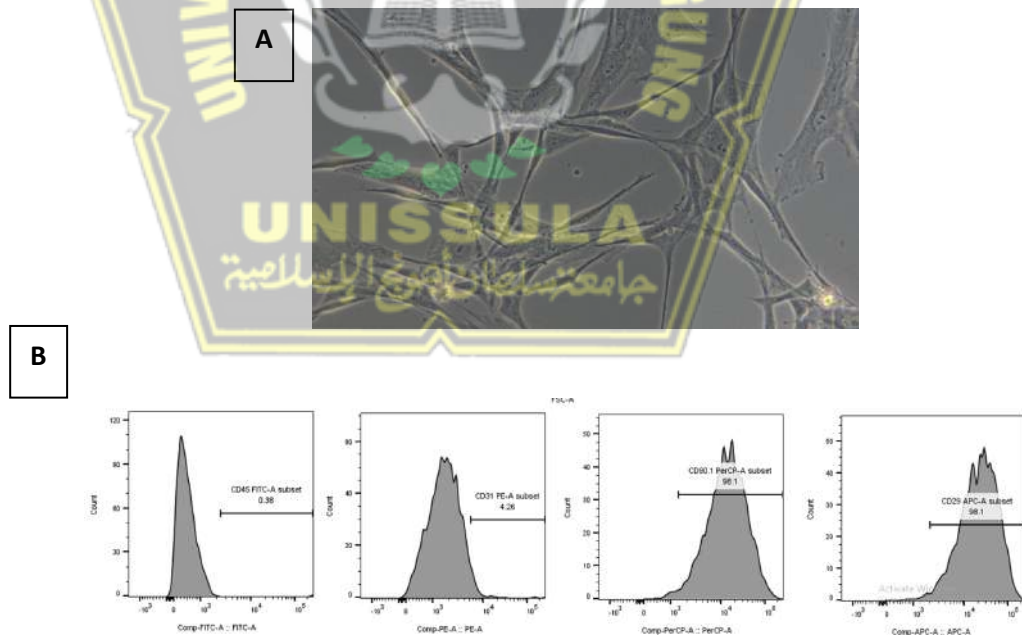
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

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

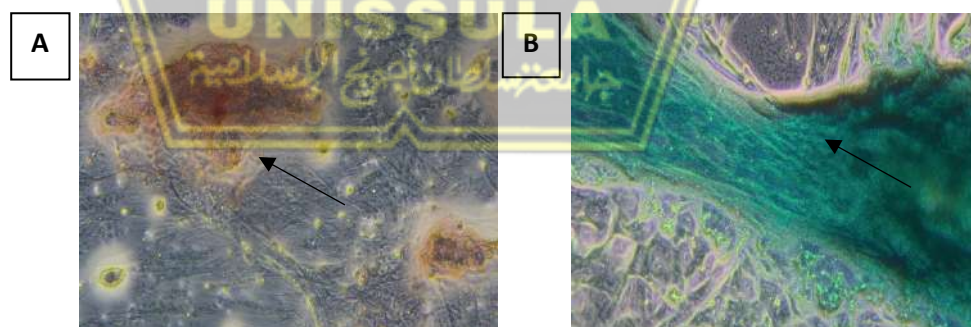
Mesenchymal stem cell diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat mencit pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media DMEM. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi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



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

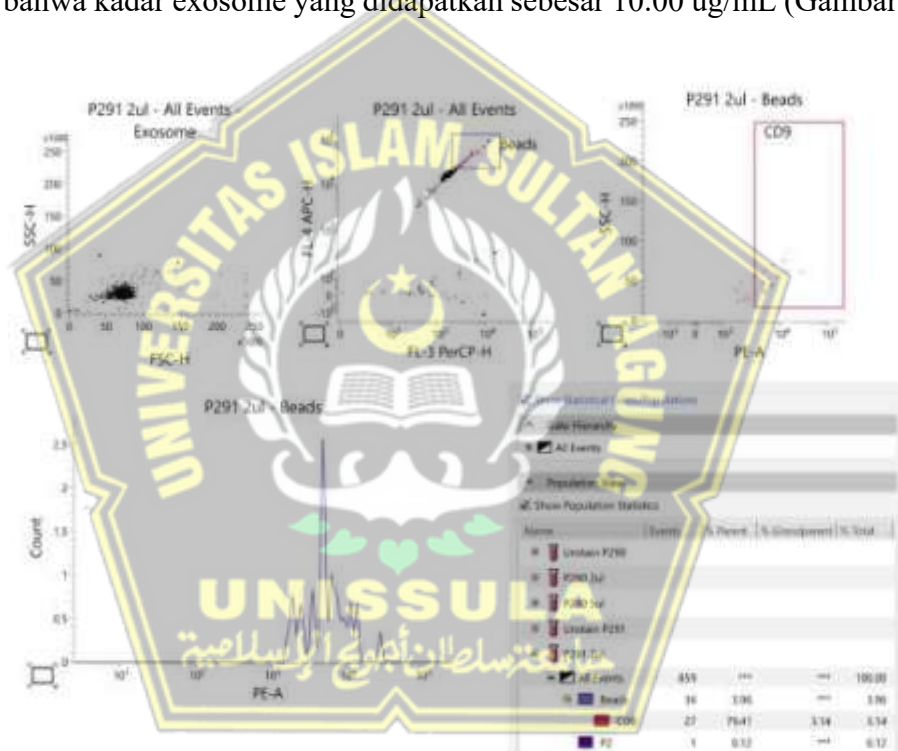
Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (98,1%) dan CD29 (98,1%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,38%) dan CD31 (4,26%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

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



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

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



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

5.1.2. Hasil Validasi Dermatitis-like

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



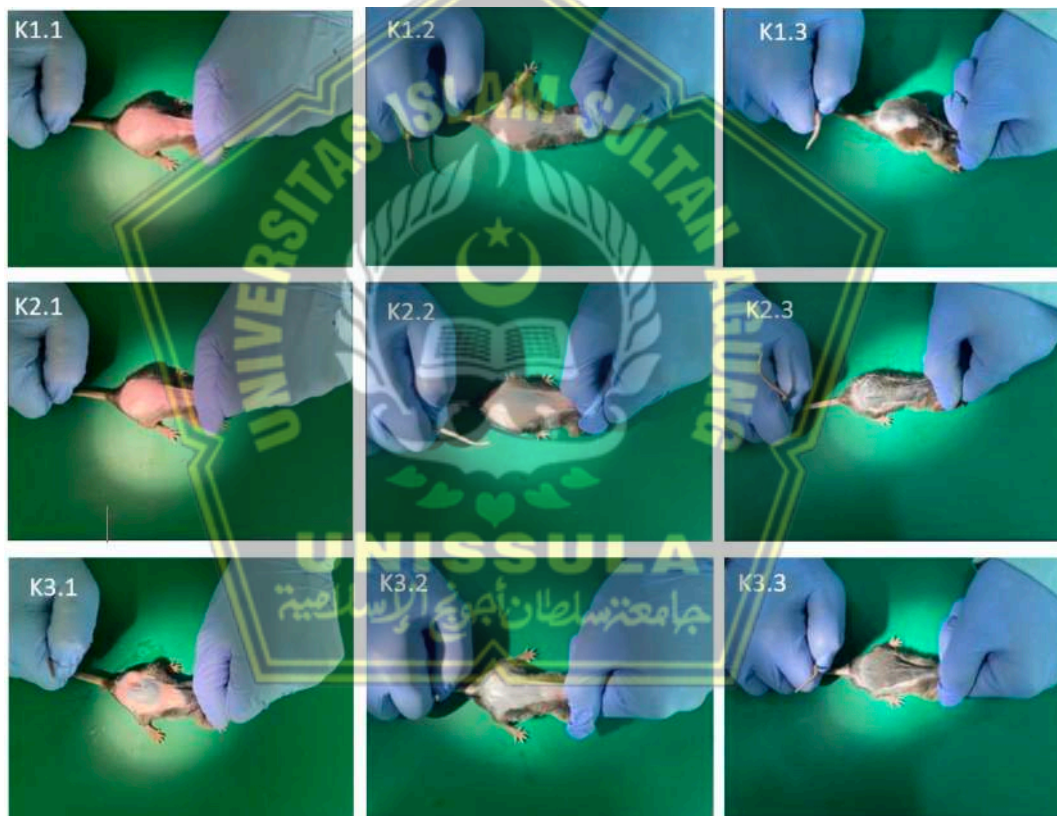
Gambar 5.4. Validasi Dermatitis atopik Mencit sehat

K1: Sehat

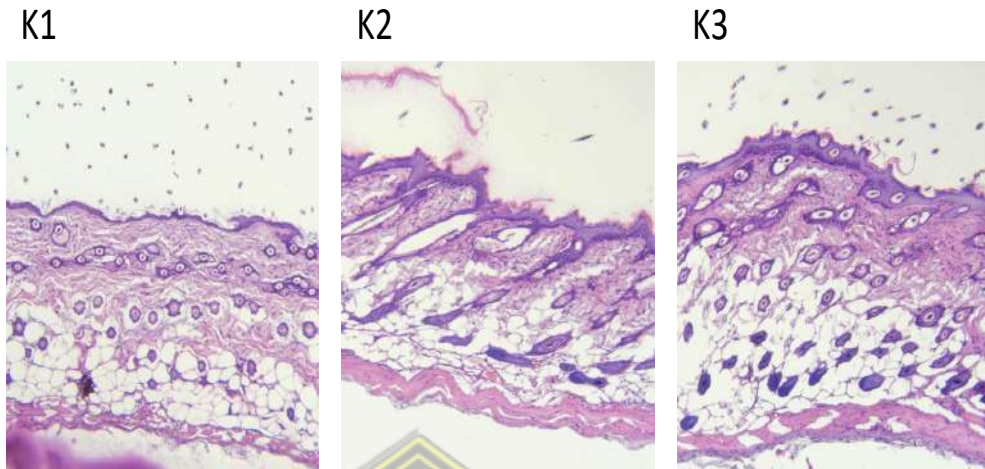
K2: Dosis 10mg (Calcipotriol 50 mcg/g)

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

Secara makroskopis, mencit C57BL yang diinduksi dermatitis atopik dengan Calcipotriol menunjukkan gambaran klasik peradangan kulit akut hingga kronis yang ditandai dengan: pembengkakan (edema), kemerahan (erythema), dan kekeringan bersisik. Fenotip ini sangat menyerupai gejala yang terlihat pada manusia dengan kondisi dermatitis atopik. Foto hari ke-14 kelompok K3 ditemukan edema, erythema dan kekeringan bersisik ditunjukkan dengan tanda anak panah berwarna merah.



Gambar 5.5. Hasil Makroskopis *Atopic Dermatitis-like* pada Mencit C57BL



Gambar 5.6. Hasil mikroskopis Preparat kulit perbesaran 100x

K1: Sehat (epidermis tampak relatif tipis, struktur lapisan epidermis masih teratur, infiltrasi sel radang minimal atau tidak menonjol. dermis menunjukkan struktur jaringan ikat yang masih tersusun baik, rongga-rongga lemak/subkutis tampak tanpa perubahan inflamasi signifikan.)

K2: Dosis 10mg Calcipotriol (epidermis mulai menunjukkan penebalan (akantosis ringan-sedang), terdapat spongiosis, infiltrasi sel radang pada dermis lebih jelas dibanding K1, tampak kongesti pembuluh darah dermal, struktur folikel dan jaringan sekitar mulai menunjukkan respons inflamasi)

K3: Dosis 20mg Calcipotriol (epidermis tampak lebih menebal (akantosis jelas, spongiosis lebih nyata, infiltrasi sel radang padat pada dermis, terlihat area edema dermal yang lebih luas, peningkatan sel inflamasi (kemungkinan limfosit, neutrofil, atau sel mononuclear), struktur jaringan lebih padat dan tidak seragam)Kelompok K2 dan K3 nampak penebalan lapisan korneum, epidermis, dan dermis. Infiltrat mononuklear terutama diamati di dermis.

5.1.3. Ekspresi IFN- γ

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah normal ($p>0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test mengonfirmasi bahwa data ekspresi IFN- γ pada kelima kelompok memiliki varian yang homogen ($p>0,05$).

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Ekspresi IFN- γ

Variabel	Kelompok					P
	K1 (RE) Rerata $\pm$ SD	K2 (RE) Rerata $\pm$ SD	K3 (RE) Rerata $\pm$ SD	K4 (RE) Rerata $\pm$ SD	K5 (RE) Rerata $\pm$ SD	
IFN- γ	1,00 $\pm$ 0,00	1,97 $\pm$ 0,17	1,36 $\pm$ 0,40	1,24 $\pm$ 0,19	1,03 $\pm$ 0,48	
Shapiro Wilk	0,00	0,13	0,83	0,53	0,15	
Lavene test						0,06
One Way Anova						0,001

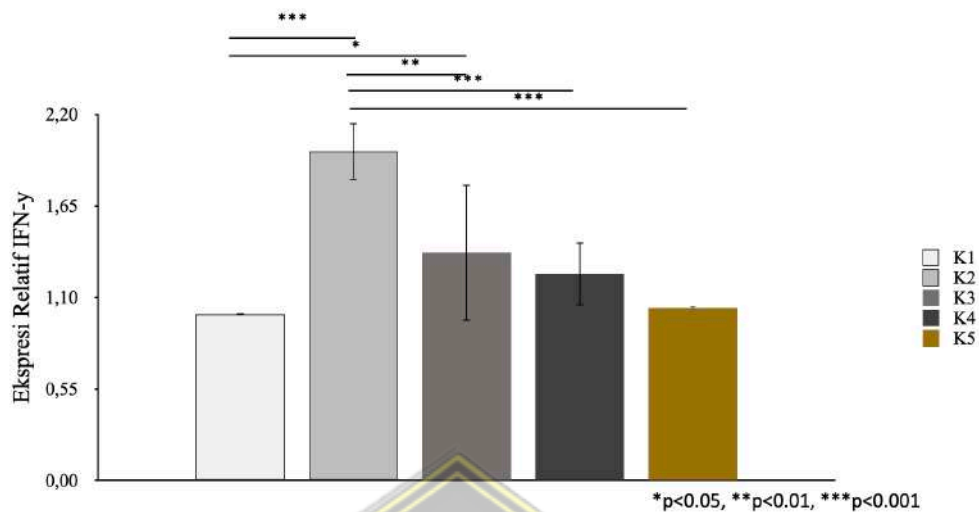
Data ekspresi IFN- γ dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasi. Dari kelompok K1 (sehat), Kelompok K2 (kelompok sakit) memiliki peningkatan yang signifikan pada relatif ekspresi IFN- γ , yaitu 1,97 $\pm$ 0,17, diikuti oleh K3-K5 yang relatif mengalami penurunan dengan nilai K3 dengan 1,36 $\pm$ 0,40, K4 dengan 1,24 $\pm$ 0,19, dan kelompok K5 memiliki kadar yang lebih rendah sebesar 1,03 $\pm$ 0,48.

Analisis perbedaan ekspresi IFN- γ antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai signifikan secara statistik ($p<0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Dengan kata lain, perlakuan atau kondisi pada setiap kelompok memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi IFN- γ .

Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi IFN- γ antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc LSD

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,001
	K3	0,046
	K4	0,181
	K5	0,831
K2	K3	0,002
	K4	0,001
	K5	0,001
K3	K4	0,476
	K5	0,257
K4	K5	0,257

Berdasarkan data ekspresi IFN- γ yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji post hoc LSD, karena data bersifat normal dan homogen. Data hasil uji post hoc LSD tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.2. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dibanding dengan seluruh ($p < 0,05$), sedangkan K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2, K3, dan K4 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 ($p > 0,05$). Data juga menunjukkan data ekspresi IFN- γ K5 lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya hingga ke ekspresi IFN- γ yang sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.7. Grafik Ekspresi IFN- γ .

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

5.1.4 Ekspresi IL-10

Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data ekspresi IL-10 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 IL-10 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 IL-10 antar kelompok.

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-10

Variabel	Kelompok					P
	K1 (RE) Rerata $\pm$ SD	K2 (RE) Rerata $\pm$ SD	K3 (RE) Rerata $\pm$ SD	K4 (RE) Rerata $\pm$ SD	K5 (RE) Rerata $\pm$ SD	

IL-10	1,00±0,00	0,59±0,61	0,98±0,37	1,38±0,37	1,83±0,41	
Shapiro Wilk	0,00	0,83	0,21	0,56	0,68	
Lavene test						0,003
One Way						0,001
Anova						

Data ekspresi IL-10 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5)

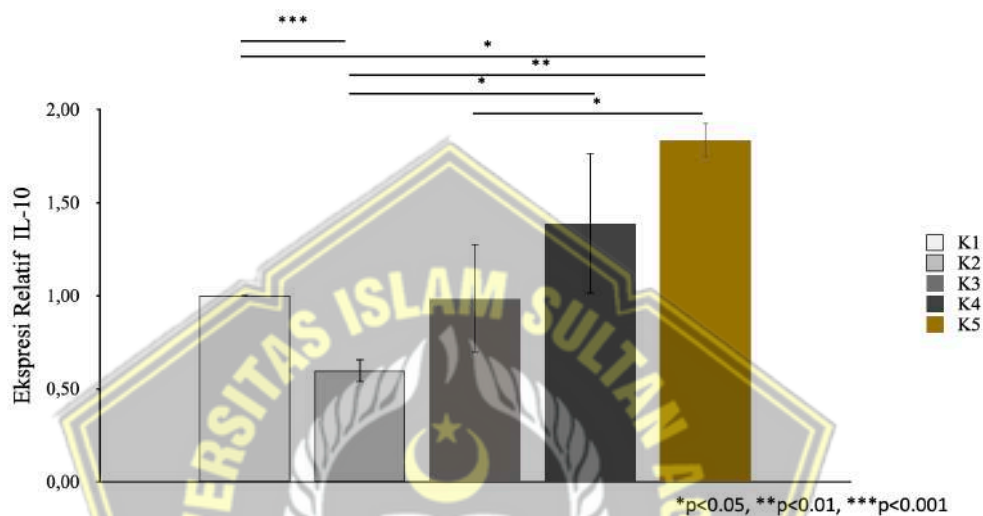
menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasinya. Kelompok K5 memiliki ekspresi IL-10 tertinggi, yaitu 1,83±0,4, diikuti oleh K4 dengan 1,38±0,37, dan K1 dengan 1,00±0,00. Kelompok K3 memiliki kadar yang lebih rendah, yaitu 0,98±0,37, sedangkan ekspresi IL-10 terendah ditemukan pada kelompok K2 dengan 0,59±0,61.

Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi IL-10 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,001
	K3	1,000
	K4	0,426
	K5	0,043
K2	K3	0,195
	K4	0,034
	K5	0,027
K3	K4	0,508
	K5	0,027
K4	K5	0,569

Berdasarkan data ekspresi IL-10 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. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dibanding dengan K1, K2, dan K3 ($p < 0,05$) dan tidak berbeda signifikan dibanding dengan K5 ($p > 0,05$), sedangkan K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2

dan K3 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 dan K4 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-10 K4 dan K5 tidak berbeda, namun hanya kelompok K5 yang memiliki ekspresi IL-10 yang sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.8. Grafik Ekspresi IL-10

Terdapat pola peningkatan yang ditunjukkan adalah *dose dependent manner* dimana dosis tertinggi menghasilkan kenaikan ekspresi IL-10 yang signifikan.

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Sel punca mesenkimal (MSC) dengan metode telah terbukti memberikan efek terapeutik pada berbagai penyakit terkait imun dengan mengeluarkan vesikel ekstraseluler kecil (sEV) karena fungsi imunomodulatorinya yang sangat baik sEV yang berasal dari MSC telah digunakan untuk memuat protein target melalui modifikasi genetik, dan membungkus obat untuk meringankan penyakit autoimun tanpa efek samping.²⁵ Selama perkembangan dan progresi AD, aktivasi respons imun

yang abnormal umumnya dicirikan sebagai akibat dari proliferasi keratinosit yang tidak normal, aktivasi dan infiltrasi masif sel imun inflamasi, dan akumulasi sitokin proinflamasi yang melimpah di dermis dan epidermis yang melibatkan sistem imun bawaan dan adaptif.

Pada penelitian ini, MSC dipaparkan pada kondisi hipoksia 5% O₂ selama 24 jam sebelum isolasi *exosome*. Strategi *hypoxia preconditioning* terbukti meningkatkan aktivitas biologis MSC dan *exosome* yang dihasilkan, terutama dalam konteks modulasi imun dan inflamasi. Hipoksia mengaktifkan jalur HIF-1 α , yang mengubah ekspresi gen, protein, dan miRNA yang dikemas ke dalam *exosome*, sehingga memperkuat efek anti-inflamasi dan imunoregulator.⁶²

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

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok dermatitis tanpa terapi memiliki ekspresi IFN- γ tertinggi, yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol sehat. Penelitian ini konsisten dengan patogenesis atopik dermatitis kronik, di mana IFN- γ berperan sebagai sitokin pro-inflamasi utama yang diproduksi oleh sel Th1 dan berkontribusi terhadap inflamasi kulit persisten serta kerusakan barrier epidermis. Pemberian EH-

MSC pada kelompok perlakuan (K3–K5) menunjukkan penurunan ekspresi IFN- γ secara dosis-dependent, dengan kelompok dosis tertinggi (K5) memiliki ekspresi IFN- γ yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok sehat. Hal ini menunjukkan bahwa EH-MSC mampu menekan aktivasi jalur inflamasi Th1 secara efektif. Secara mekanistik, exosome MSC diketahui menghambat aktivasi sel T efektor dan menekan produksi IFN- γ melalui modulasi jalur STAT1 dan NF- κ B, serta induksi sel T regulator.⁶³

Berbeda dengan IFN- γ , ekspresi IL-10 menunjukkan pola peningkatan signifikan seiring peningkatan dosis EH-MSC. Kelompok dermatitis (K2) memiliki ekspresi IL-10 terendah, yang mencerminkan kondisi inflamasi aktif dan kegagalan mekanisme resolusi inflamasi. IL-10 merupakan sitokin anti-inflamasi utama yang berfungsi menekan aktivitas sel T efektor, menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, serta meningkatkan diferensiasi makrofag ke fenotipe M2.⁶⁴

Peningkatan signifikan IL-10 pada kelompok K4 dan K5 menunjukkan bahwa EH-MSC mampu menginduksi lingkungan imun tolerogenik, yang sangat penting dalam penyembuhan dermatitis atopik. Kelompok dosis tertinggi (K5) menunjukkan ekspresi IL-10 yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok sehat, menandakan pemulihan keseimbangan imun. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa exosome MSC meningkatkan ekspresi IL-10 melalui aktivasi sel T regulator dan makrofag M2, serta penghambatan jalur inflamasi kronik.⁶⁵

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya hubungan yang jelas antara IFN- γ dan IL-10, di mana penurunan IFN- γ diikuti oleh peningkatan IL-10 seiring peningkatan dosis EH-MSC. Pola ini mencerminkan pergeseran respons imun dari dominasi inflamasi menuju fase resolusi dan regulasi imun.⁶⁶

Model MC903-*induced atopic dermatitis-like* yang digunakan dalam penelitian ini terbukti mampu mereplikasi karakteristik imunologis dermatitis atopik manusia, termasuk peningkatan IFN- γ dan penurunan IL-10. Oleh karena itu, keberhasilan EH-MSC dalam menekan IFN- γ dan meningkatkan IL-10 pada model ini memberikan dasar ilmiah yang kuat bagi pengembangan terapi berbasis exosome MSC pada dermatitis atopik. Beberapa penelitian preklinik menunjukkan bahwa exosome MSC memiliki keunggulan dibandingkan terapi sel langsung karena lebih aman, stabil, dan minim risiko imunogenisitas.⁶⁷

Pada penelitian ini, pemberian EH-MSC dengan dosis 100 μ g dan 200 μ g pada mencit model Dermatitis-like bertujuan untuk mengevaluasi efeknya terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10 serta hubungan kedua parameter ini dengan regulasi imun dan perkembangan Dermatitis atopik. Pemberian EH-MSC pada dosis 100 μ g dan 200 μ g juga dapat mempengaruhi keseimbangan Treg (*Regulatory T cells*), yang memainkan peran penting dalam mengontrol respons imun tubuh. Peningkatan aktivitas Treg dapat berkontribusi pada pengaturan sistem imun untuk menghindari serangan terhadap kulit, yang sangat relevan dalam pengobatan Dermatitis atopik, yang merupakan

gangguan autoimun. Dengan meningkatkan jumlah Treg, EH-MSc berpotensi memperbaiki gangguan autoimun pada Dermatitis atopik dengan mengurangi reaksi imun yang merusak kulit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 100 µg EH-MSc lebih efektif dalam memperbaiki lesi kulit Dermatitis atopik dibandingkan dengan dosis 200 µg, dosis 200 µg hanya ada perubahan yang setara dengan mencit sehat dalam peningkatan ekspresi IFN-γ, yang mengindikasikan bahwa dosis 200 µg dapat juga digunakan untuk efek terapeutik. Berbagai molekul bioaktif seperti miR-122 dan miR-221. Molekul-molekul ini berperan penting dalam merangsang ekspresi gen yang mengatur regenerasi jaringan dan pengendalian peradangan. MiR-122 berperan dalam meningkatkan produksi IFN-γ, yang mengurangi peradangan dengan menurunkan aktivitas sel imun pro-inflamasi, sementara miR-221 berfungsi dalam merangsang produksi IL-10, yang berperan dalam perbaikan kulit. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Phinney dan Pittenger yang menyatakan bahwa *exosome* mesenchymal stem cell mengandung berbagai microRNA imunomodulator yang mampu mengatur ekspresi sitokin proinflamasi dan antiinflamasi serta mempercepat perbaikan jaringan melalui mekanisme parakrin.⁷¹

Dosis 200 µg EH-MSc yang lebih tinggi meningkatkan produksi IL-10 lebih signifikan, yang mempercepat proses regenerasi kulit pada model Dermatitis-like. Dosis 200 µg EH-MSc dapat meningkatkan ekspresi IL-10 secara signifikan hingga mencapai ekspresi yang lebih tinggi dengan mencit sehat. Peningkatan ekspresi protein ini membantu menurunkan kerusakan lesi

kulit, memperbaiki suplai darah dan merangsang perbaikan jaringan kulit. Selain itu, dosis yang lebih tinggi juga dapat meningkatkan jumlah sel Treg yang mengendalikan respons imun, mengurangi kerusakan kulit akibat peradangan. Oleh karena itu, dosis 200 µg EH-MSC lebih efektif dalam mengatasi *Dermatitis-like* dengan meningkatkan ekspresi IL-10 secara signifikan. Hal ini didukung oleh penelitian Cho et al. yang menunjukkan bahwa pemberian *exosome* mesenchymal stem cell pada model dermatitis atopik mencit secara signifikan meningkatkan ekspresi IL-10, meningkatkan jumlah sel T regulator, serta memperbaiki struktur kulit dan mengurangi inflamasi. Selain itu, *exosome* juga meningkatkan angiogenesis dan regenerasi jaringan melalui regulasi sitokin antiinflamasi.⁷²

5.2 Keterbatasan Penelitian

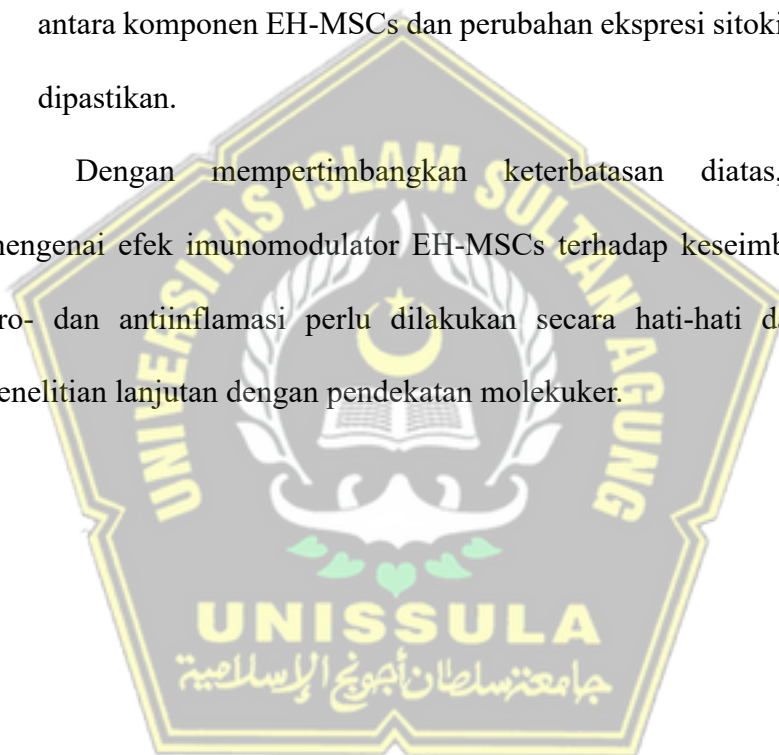
Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan dalam mengevaluasi pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap ekspresi IFN-γ dan IL-10.

1. Pengukuran ekspresi sitokin terbatas pada dua parameter imunologis saja, yaitu IFN-γ sebagai penanda proinflamasi dan IL-10 sebagai penanda anti-inflamasi, sehingga belum sepenuhnya menggambarkan kompleksitas respons imun yang terlibat dalam proses inflamasi *dermatitis-like*.
2. Penelitian ini menilai ekspresi sitokin pada satu titik waktu observasi, sehingga perubahan kadar IFN-γ dan IL-10 pasca pemberian EH-MSCs tidak dapat diamati secara longitudinal. Padahal, respon imun terhadap

terapi berbasis exosome pada dermatitis atopik bersifat dinamis dan dapat berubah sesuai fase inflamasi.

3. Mekanisme molekuler yang mendasari perubahan IFN- γ dan IL-10 oleh EH-MSCs belum dianalisis secara mendalam, seperti kandungan miRNA atau protein bioaktif dalam exosome yang berperan dalam regulasi jalur sinyal imun. Dengan demikian hubungan kausal yang lebih spesifik antara komponen EH-MSCs dan perubahan ekspresi sitokin belum dapat dipastikan.

Dengan mempertimbangkan keterbatasan diatas, interpretasi mengenai efek imunomodulator EH-MSCs terhadap keseimbangan sitokin pro- dan antiinflamasi perlu dilakukan secara hati-hati dan diperlukan penelitian lanjutan dengan pendekatan molekuler.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi EH-MSC secara subcutan terhadap ekspresi IFN- γ dan IL-10 pada mencit C57BL model *Atopic Dermatitis like* menunjukkan hal-hal berikut:

- a. Pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dengan dosis 100 μg menunjukkan peningkatan ekspresi IFN- γ yang lebih tinggi dibandingkan dengan pemberian dosis 200 μg pada mencit model *Atopic Dermatitis like*, jika dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC baik pada dosis 100 μg dan 200 μg berkontribusi terhadap peningkatan ekspresi IL-10 pada mencit model *Atopic Dermatitis like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

- a. Studi yang akan datang diharapkan untuk melakukan analisis lebih mendalam terhadap ekspresi sitokin yang lain dan kandungan miRNA IL-10 setelah dilakukan injeksi EH-MSC pada mencit model *Atopic Dermatitis like*.
- b. Penelitian lanjutan perlu menganalisis pengaruh exosome terhadap keseimbangan Th1/Th2/Treg dengan pendekatan flow cytometry. Hal

ini penting untuk menentukan apakah perubahan ekspresi IFN- γ dan IL-10 berkaitan dengan pergeseran diferensiasi sel imun secara spesifik.

- c. Perlu dilakukan uji klinis awal fase 1 pada manusia guna mengkaji keamanan penggunaan, tingkat tolerabilitas, kisaran dosis yang optimal serta respon farmakokinetik dan farmakodinamik dari EH-MSCs.



DAFTAR PUSTAKA

1. Carr S, Pratt R, White F, Watson W. Atopic dermatitis. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2024 Dec 9;20(Suppl 3):63. doi: 10.1186/s13223-024-00927-2. PMID: 39654051; PMCID: PMC11629513.
2. Wasserer, S.; Jargosch, M.; Mayer, K.E.; Eigemann, J.; Raunegger, T.; Aydin, G.; Eyerich, S.; Biedermann, T.; Eyerich, K.; Laufer, F. Characterization of High and Low IFNG-Expressing Subgroups in Atopic Dermatitis. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 6158. <https://doi.org/10.3390/ijms25116158>
3. Lee, D., Jo, M.G., Min, K.Y. et al. IL-10+ regulatory B cells mitigate atopic dermatitis by suppressing eosinophil activation. *Sci Rep* 14, 18164 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-68660-9>
4. Laouini D, Alenius H, Bryce P, Oettgen H, Tsitsikov E, Geha RS. IL-10 is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest.* 2003 Oct;112(7):1058-66. doi: 10.1172/JCI18246. PMID: 14523043; PMCID: PMC198527.
5. Kemenkes RI. 2020. Pola Pembinaan Narapidana/Tahanan, Departemen Pertahanan. Republik Indonesia. Jakarta. <https://www.kemhan.go.id>
6. Nurfaqhiha, D. 2021. Hubungan Personal Hygiene dan Sanitasi Lingkungan dengan Keluhan Dermatitis di Wilayah Kerja Puskesmas Indrapura Kabupaten Batubara. Universitas Islam Negeri Sumatera Utara. <http://repository.uinsu.ac.id/id/eprint/13261>
7. Soegiarto, G., Abdullah, M. S., Damayanti, L. A., Suseno, A., & Effendi, C. 2019. The Prevalence of Allergic Diseases in School Children of Metropolitan City in Indonesia Shows a Similar Pattern to That of Developed Countries. *Asia Pacific Allergy*, 9(2), e17. <https://doi.org/10.5415/apallergy.2019.9.e17>
8. Lugović-Mihić L, Meštrović-Štefekov J, Potočnjak I, Cindrić T, Ilić I, Lovrić I, Skalicki L, Bešlić I, Pondeljak N. Atopic Dermatitis: Disease Features, Therapeutic Options, and a Multidisciplinary Approach. *Life (Basel)*. 2023 Jun 20;13(6):1419. doi: 10.3390/life13061419. PMID: 37374201; PMCID: PMC10305021.
9. Shin TH, Kim HS, Cho SW, Kang KS. Mesenchymal stem cell therapy for

- inflammatory skin diseases: clinical potential and mode of action. *Int J Mol Sci.* 2017;18:244.
10. Lou G, Chen Z, Zheng M, Liu Y. Mesenchymal stem cell-derived exosomes as a new therapeutic strategy for liver diseases. *Exp Mol Med.* 2017;49:e346.
 11. Chen, L. et al. (2020). Hypoxia-conditioned exosomes from MSCs suppress inflammation via the STAT1 pathway. *Journal of Inflammation Research*, 13, 887–897.
 12. K. H. et al. (2021). Hypoxia-enhanced exosomes from MSCs improve skin inflammation via upregulation of IL-10. *Stem Cell Research & Therapy*, 12(1), 78.
 13. QIU, X. et al. Exosomes released from educated mesenchymal stem cells accelerate cutaneous wound healing via promoting angiogenesis. *Cell proliferation*, [s. l.], v. 53, n. 8, p. e12830, 2020. DOI 10.1111/cpr.12830.
 14. Hernán Gonzalez-King, Nahuel A. García, Imelda Ontoria-Oviedo, María Ciria, José Anastasio Montero, Pilar Sepúlveda, Hypoxia Inducible Factor-1 α Potentiates Jagged 1-Mediated Angiogenesis by Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes, *Stem Cells*, Volume 35, Issue 7, July 2017, Pages 1747–1759
 15. Cho, B. S., Kim, J. O., Ha, D. H., & Yong, W. Y. (2018). Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Research & Therapy*, 9 doi:https://doi.org/10.1186/s13287-018-0939-5
 16. Shin KO, Ha DH, Kim JO, Crumrine DA, Meyer JM, Wakefield JS, Lee Y, Kim B, Kim S, Kim HK, Lee J, Kwon HH, Park GH, Lee JH, Lim J, Park S, Elias PM, Park K, Yi YW, Cho BS. Exosomes from Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Epidermal Barrier Repair by Inducing de Novo Synthesis of Ceramides in Atopic Dermatitis. *Cells*. 2020 Mar 10;9(3):680. doi: 10.3390/cells9030680. PMID: 32164386; PMCID: PMC7140723.
 17. Cho BS, Kim SB, Kim S, Rhee B, Yoon J, Lee JW. Canine Mesenchymal-Stem-Cell-Derived Extracellular Vesicles Attenuate Atopic Dermatitis. *Animals*

- (Basel). 2023 Jul 6;13(13):2215. doi: 10.3390/ani13132215. PMID: 37444013; PMCID: PMC10339941.
18. Atjo W, Ummu S, Rifkah F, Mayang AA, Syamsiar R. Faktor Dominan Yang Mempengaruhi Kejadian Dermatitis Kontak Dan Dampaknya Terhadap Kualitas Hidup Pada Petani Rumput Laut Di Dusun Puntondo Takalar. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Hasanuddin. 2019
 19. Langan SM, Irvine AD, Weidinger S. Atopic dermatitis. *Lancet*. 2020 Aug 1;396(10247):345-360. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31286-1. Erratum in: *Lancet*. 2020 Sep 12;396(10253):758. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31825-0. PMID: 32738956.
 20. Kanoh H, Ishitsuka A, Fujine E, Matsuhaba S, Nakamura M, Ito H, Inagaki N, Banno Y, Seishima M. IFN- γ Reduces Epidermal Barrier Function by Affecting Fatty Acid Composition of Ceramide in a Mouse Atopic Dermatitis Model. *J Immunol Res*. 2019 Jan 29;2019:3030268. doi: 10.1155/2019/3030268. PMID: 30838224; PMCID: PMC6374817.
 21. Wasserer, S.; Jargosch, M.; Mayer, K.E.; Eigemann, J.; Raunegger, T.; Aydin, G.; Eyerich, S.; Biedermann, T.; Eyerich, K.; Lauffer, F. Characterization of High and Low IFNG-Expressing Subgroups in Atopic Dermatitis. *Int. J. Mol. Sci*. 2024, 25, 6158.
 22. Chang, T.T., Stevens, S.R. Atopic Dermatitis. *Am J Clin Dermatol* 3, 175–183 (2002). <https://doi.org/10.2165/00128071-200203030-00004>
 23. Rajasingh S, Sigamani V, Selvam V, et al. Comparative analysis of human induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells and umbilical cord mesenchymal stem cells. *J Cell Mol Med*. 2021; 25: 8904–8919.
 24. The effect of exosomes from mesenchymal stem cells on atopic dermatitis in a mouse model. 2018 doi: 10.1016/j.jaad.2018.05.1122 10.1016 / j.jaad.2018.05.1122. *Journal of the American Academy of Dermatology*.
 25. Huang, R., Jia, B., Su, D., Li, M., Xu, Z., He, C., Huang, Y., Fan, H., Chen, H., & Cheng, F. (2023). Plant exosomes fused with engineered mesenchymal stem cell-derived nanovesicles for synergistic therapy of autoimmune skin disorders.

Journal of Extracellular Vesicles, 12, e12361.

26. Aiman Mohammed Baqir Al-Dhalimy, Haitham Mukhlif Salim, A.H. Shather, Israa Habeeb Naser, Manar Mohammed Hizam, Mohannad Kadhim Alshujery, The pathological and therapeutically role of mesenchymal stem cell (MSC)-derived exosome in degenerative diseases; Particular focus on LncRNA and microRNA, Pathology - Research and Practice, Volume 250, 2023, 154778, ISSN 0344-0338.
27. Wang W, Li P, Li W, Jiang J, Cui Y, Li S, et al. Osteopontin activates mesenchymal stem cells to repair skin wound. PLoS One. 2017;12(9).
28. Yoon J, Lee SK, Park A, Lee J, Jung I, Song KB, et al. Exosome from IFN- γ -Primed Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Improved Skin Inflammation and Barrier Function. Int J Mol Sci. 2023;24(14).
29. Zhang W, Liu L, Huo Y, Yang Y, Wang Y. Hypoxia-Pretreated Human MSCs Attenuate Acute Kidney Injury through Enhanced Angiogenic and Antioxidative Capacities. Biomed Res Int. 2014;2014.
30. Kadle RL, Abdou SA, Villarreal-Ponce AP, Soares MA, Sultan DL, David JA, et al. Microenvironmental cues enhance mesenchymal stem cell- mediated immunomodulation and regulatory T-cell expansion. PLoS One. 2018;13(3).
31. Braga CL, Santos RT, da Silva CM, de Novaes Rocha N, Felix NS, Medeiros M, et al. Therapeutic effects of hypoxia-preconditioned bone marrow-derived mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles in experimental pulmonary arterial hypertension. Life Sci. 2023;329.
32. Zhang G, Zou X, Huang Y, Wang F, Miao S, Liu G, et al. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles protect against acute kidney injury through anti-oxidation by enhancing Nrf2/ARE activation in rats. Kidney Blood Press Res. 2016;41(2):119–28.
33. Toh WS, Lai RC, Zhang B, Lim SK. MSC exosome works through a protein-based mechanism of action. Vol. 46, Biochemical Society Transactions. 2018. p. 843–53.
34. Yang Y, Wu Y, Yang D, Neo SH, Kadir ND, Goh D, et al. Secretive derived from hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells promote cartilage

- regeneration and mitigate joint inflammation via extracellular vesicles. *Bioact Mater.* 2023;27:98–112.
35. Antebi B, Rodriguez LA, Walker KP, Asher AM, Kamucheka RM, Alvarado L, et al. Short-term physiological hypoxia potentiates the therapeutic function of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1).
 36. Jensen CC, Warfel NA. Hypoxia. In: *Comprehensive Pharmacology.* 2022. p. 438–68.
 37. Bieńko K, Leszcz M, Więckowska M, Białek J, Petniak A, Szymanowski R, et al. VEGF Expression in Umbilical Cord MSC Depends on the Patient's Health, the Week of Pregnancy in Which the Delivery Took Place, and the Body Weight of the Newborn – Preliminary Report. *Stem Cells Cloning Adv Appl.* 2023;16:5–18.
 38. Pan Q, Wang Y, Lan Q, Wu W, Li Z, Ma X, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorate hypoxia/reoxygenation-injured ECs via transferring MicroRNA-126. *Stem Cells Int.* 2019;2019.
 39. Minoves M, Hazane-Puch F, Moriondo G, Boutin-Paradis A, Lemarié E, Pépin JL, et al. Differential Impact of Intermittent vs. Sustained Hypoxia on HIF-1, VEGF and Proliferation of HepG2 Cells. *Int J Mol Sci.* 2023;24(8).
 40. Gurler B, Gencay G, Baloglu E. Hypoxia and HIF-1 α Regulate the Activity and Expression of Na,K-ATPase Subunits in H9c2 Cardiomyoblasts. *Curr Issues Mol Biol.* 2023;45(10):8277–88.
 41. Vestergaard C, Kirstejn N, Gesser B, Mortensen JT, Matsushima K, Larsen CG. IL-10 augments the IFN-gamma and TNF-alpha induced TARC production in HaCaT cells: a possible mechanism in the inflammatory reaction of atopic dermatitis. *J Dermatol Sci.* 2001 May;26(1):46-54. doi: 10.1016/s0923-1811(00)00160-2. PMID: 11323220.
 42. Laouini D, Alenius H, Bryce P, Oettgen H, Tsitsikov E, Geha RS. IL-10 is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest.* 2003 Oct;112(7):1058-66. doi: 10.1172/JCI18246. PMID: 14523043; PMCID: PMC198527.
 43. Feingold KR. The adverse effect of IFN gamma on stratum corneum structure

- and function in psoriasis and atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2014 Mar;134(3):597-600. doi: 10.1038/jid.2013.440. Erratum in: *J Invest Dermatol*. 2014 Nov;134(11):2851. PMID: 24518112.
44. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ, Rea TH, Wyzykowski R, Kim J, Jullien D, McHugh T, Nassif AS, Chan SC, et al. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. *J Immunol*. 1995 Feb 15;154(4):1956-63. PMID: 7836775.
 45. Yang, R., Huang, H., Cui, S. et al. IFN- γ promoted exosomes from mesenchymal stem cells to attenuate colitis via miR-125a and miR-125b. *Cell Death Dis* 11, 603. 2020.
 46. Zhang Q, Fu L, Liang Y, Guo Z, Wang L, Ma C, Wang H. Exosomes originating from MSCs stimulated with TGF- β and IFN- γ promote Treg differentiation. *J Cell Physiol*. 2018 Sep;233(9):6832-6840. doi: 10.1002/jcp.26436. Epub 2018 Apr 11. PMID: 29336475.
 47. Ma C, Zang QY, Guo ZK, Wang HX. [Effect of TGF- β 1 and IL-10 on the Immunoregulatory Function of Extracellular Vesicles Derived from Mesenchymal Stem Cells]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2018 Dec;26(6):1785-1792. Chinese. doi: 10.7534/j.issn.1009-2137.2018.06.034. PMID: 30501721.
 48. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2010 Oct;21(5):331-44. doi: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002. Epub 2010 Nov 5. PMID: 21115385.
 49. Kawamoto M, Matsui E, Kaneko H, Fukao T, Teramoto T, Kasahara K, Kondo N. IL-10 plays an important role as an immune-modulator in the pathogenesis of atopic diseases. *Mol Med Rep*. 2008 Nov-Dec;1(6):837-42. doi: 10.3892/mmr_00000037. PMID: 21479493.
 50. Howell MD, Novak N, Bieber T, Pastore S, Girolomoni G, Boguniewicz M, Streib J, Wong C, Gallo RL, Leung DY. Interleukin-10 downregulates antimicrobial peptide expression in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol*. 2005 Oct;125(4):738-45. doi: 10.1111/j.0022-202X.2005.23776.x. Erratum in: *J Invest Dermatol*. 2005 Dec;125(6):1320. PMID: 16185274.

51. Stephan Weidinger, Natalija Novak, Atopic dermatitis, *The Lancet*, Volume 387, Issue 10023, 2016, Pages 1109-1122, ISSN 0140-6736.
52. Morizane S, Yamasaki K, Kajita A, Ikeda K, Zhan M, Aoyama Y, Gallo RL, Iwatsuki K. TH2 cytokines increase kallikrein 7 expression and function in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Jul;130(1):259-61.e1. doi: 10.1016/j.jaci.2012.03.006. Epub 2012 Apr 21. PMID: 22521249; PMCID: PMC3387356.
53. Sroka-Tomaszewska J, Trzeciak M. Molecular Mechanisms of Atopic Dermatitis Pathogenesis. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 16;22(8):4130. doi: 10.3390/ijms22084130. PMID: 33923629; PMCID: PMC8074061.
54. Kim J, Kim BE, Leung DYM. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical implications. *Allergy Asthma Proc*. 2019 Mar 1;40(2):84-92. doi: 10.2500/aap.2019.40.4202. PMID: 30819278; PMCID: PMC6399565. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6399565/>
55. Sivaranjani N, Rao SV, Rajeev G. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis. *J Clin Diagn Res*. 2013 Dec;7(12):2683-5. doi: 10.7860/JCDR/2013/6635.3732. Epub 2013 Dec 15. PMID: 24551611; PMCID: PMC3919411. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3919411/>
56. Brandt EB, Sivaprasad U. Th2 Cytokines and Atopic Dermatitis. *J Clin Cell Immunol*. 2011 Aug 10;2(3):110. doi: 10.4172/2155-9899.1000110. PMID: 21994899; PMCID: PMC3189506. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3189506/>
57. Kishibe M. Physiological and pathological roles of kallikrein-related peptidases in the epidermis. *J Dermatol Sci*. 2019 Aug;95(2):50-55. doi: 10.1016/j.jdermsci.2019.06.007. Epub 2019 Jun 27. PMID: 31279501. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31279501/>
58. Torres T, Mendes-Bastos P, Cruz MJ, Duarte B, Filipe P, Lopes MJP, Gonçalves M. Interleukin-4 and Atopic Dermatitis: Why Does it Matter? A Narrative Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2025 Mar;15(3):579-597. doi: 10.1007/s13555-025-01352-y. Epub 2025 Feb 10. PMID: 39930311; PMCID: PMC11909353. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11909353/>

59. Choi, S. et al. CTLA-4 expression in T cells in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Volume 113, Issue 2, S250
[https://www.jacionline.org/article/S0091-6749\(04\)00369-0/fulltext](https://www.jacionline.org/article/S0091-6749(04)00369-0/fulltext)
60. Shin, K.-O.; Ha, DH; Kim, JO; Crumrine, DA; Meyer, JM; Wakefield, JS; Lee, Y.; Kim, B.; Kim, S.; Kim, H.-k.; dkk. Eksosom dari Sel Punca Mesenkimal yang Berasal dari Jaringan Adiposa Manusia Meningkatkan Perbaikan Barrier Epidermal dengan Menginduksi Sintesis Seramida De Novo pada Dermatitis Atopik. *Cells* 2020 , 9 , 680. <https://doi.org/10.3390/cells9030680>
61. Soares E, Zhou H. Master regulatory role of p63 in epidermal development and disease. *Cell Mol Life Sci*. 2018 Apr;75(7):1179-1190. doi: 10.1007/s00018-017-2701-z. Epub 2017 Nov 4. PMID: 29103147; PMCID: PMC5843667.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5843667/>
62. Li H, Ji XQ, Zhang SM, Bi RH. Hypoxia and inflammatory factor preconditioning enhances the immunosuppressive properties of human umbilical cord mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2023 Nov 26;15(11):999-1016. doi: 10.4252/wjsc.v15.i11.999. PMID: 38058960; PMCID: PMC10696190.
63. Arun M, Rajasingh S, Madasamy P, Rajasingh J. Immunomodulatory and Regenerative Functions of MSC-Derived Exosomes in Bone Repair. *Bioengineering* (Basel). 2025 Aug 5;12(8):844. doi: 10.3390/bioengineering12080844. PMID: 40868357; PMCID: PMC12383523.
64. Yossipof TE, Bazak ZR, Kenigsbuch-Sredni D, Caspi RR, Kalechman Y, Sredni B. Tellurium Compounds Prevent and Reverse Type-1 Diabetes in NOD Mice by Modulating $\alpha\beta 7$ Integrin Activity, IL-1 β , and T Regulatory Cells. *Front Immunol*. 2019 May 29;10:979. doi: 10.3389/fimmu.2019.00979. PMID: 31191514; PMCID: PMC6549385.
65. Shan XQ, Luo YY, Chang J, Song JJ, Hao N, Zhao L. Immunomodulation: The next target of mesenchymal stem cell-derived exosomes in the context of ischemic stroke. *World J Stem Cells*. 2023 Mar 26;15(3):52-70. doi: 10.4252/wjsc.v15.i3.52. PMID: 37007453; PMCID: PMC10052343.

66. Yoon J, Lee SK, Park A, Lee J, Jung I, Song KB, Choi EJ, Kim S, Yu J. Exosome from IFN- γ -Primed Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Mesenchymal Stem Cells Improved Skin Inflammation and Barrier Function. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 19;24(14):11635. doi: 10.3390/ijms241411635. PMID: 37511392; PMCID: PMC10380988.
67. Yang, R., Huang, H., Cui, S. et al. IFN- γ promoted exosomes from mesenchymal stem cells to attenuate colitis via miR-125a and miR-125b. *Cell Death Dis* 11, 603 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41419-020-02788-0>
68. Ou LS, Goleva E, Hall C, Leung DY. T regulatory cells in atopic dermatitis and subversion of their activity by superantigens. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(4):756-763. DOI: 10.1016/j.jaci.2004.01.772.
69. Li M, Hener P, Zhang Z, Kato S, Metzger D, Chambon P. Topical vitamin D3 and low-calcemic analogs induce thymic stromal lymphopoietin in mouse keratinocytes and trigger an atopic dermatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 1;103(31):11736-41. doi: 10.1073/pnas.0604575103. Epub 2006 Jul 31. PMID: 16880407; PMCID: PMC1544239.
70. Alam MJ, Xie L, Yap YA, Robert R. A Mouse Model of MC903-Induced Atopic Dermatitis. *Curr Protoc*. 2023 Mar;3(3):e695. doi: 10.1002/cpz1.695. PMID: 36913546.
71. Donald G. Phinney, Mark F. Pittenger, Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy, *Stem Cells*, Volume 35, Issue 4, April 2017, Pages 851–858, <https://doi.org/10.1002/stem.2575>
- 72.