

## **Pengaruh MSC Hipoksia terhadap Kadar TGF- $\beta$ Pada Penyembuhan Luka Fase Proliferasi Dan Remodeling Studi Eksperimental In Vivo pada Tikus Galur Wistar Jantan yang Dieksisi pada hari ke 12,18, dan 24**

**<sup>1</sup>Elytia Mutia Rizkiyani\*, <sup>2</sup>Agung Putra, dan <sup>3</sup>Azizah Retno**

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang  
<sup>2</sup>Bagian Patologi Anatomi & SCCR (Stem Cell & Cancer Research) Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang  
<sup>3</sup>Bagian Ilmu Kesehatan Anak Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

\*Corresponding Author:

[elytiamutia\\_rizkiyani@yahoo.co.id](mailto:elytiamutia_rizkiyani@yahoo.co.id)

### **Abstrak**

*Mesenchymal Stem Cells (MSC) dapat digunakan untuk meningkatkan proses penyembuhan luka. Kondisi perlakuan seperti hipoksia diperlukan untuk meningkatkan kualitas MSC. TGF- $\beta$  memiliki peran besar dalam setiap tahapan penyembuhan luka terutama pada fase proliferasi dan remodeling. MSC mampu mensekresikan TGF- $\beta$  saat terjadi luka yang akan membantu proses angiogenesis dan mengontrol TGF- $\beta$  saat fase remodeling agar tidak timbul jaringan parut berlebih. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh MSC hipoksia terhadap kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan desain penelitian posttest only control group design. Sejumlah 20 ekor tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi 4 kelompok. Semua kelompok akan diberi perlakuan dengan punch biopsy 6mm. Kelompok I tidak disuntikan apapun (sham), kemudian untuk kelompok lain secara subkutan disuntikan phosphate buffer saline untuk kelompok II (kontrol), MSC normoksia untuk kelompok III, dan MSC hipoksia untuk kelompok IV. Pengambilan serum dan perhitungan kadar TGF- $\beta$  dilakukan pada hari ke-12, 18 dan 24 setelah perlakuan menggunakan ELISA. Data dianalisis dengan uji One Way Anova dan dilanjutkan uji Post hoc tamhane. Rerata kadar TGF- $\beta$  masing-masing kelompok pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling pada hari pengamatan hari ke 12, 18, dan 24 sebagai berikut : Kelompok Sham (240,6; 267,4; dan 240,4 pg/ml), Kelompok Kontrol (398,9; 352,0; dan 264,8 pg/ml), kelompok MSC normoksia (262,0; 225,0; dan 253,4 pg/ml), MSC hipoksia (250,8; 226,9; dan 206,8 pg/dl). Hasil Uji One Way Anova pada pengamatan hari ke 12 ( $p < 0,05$ ), nilai  $p$  menunjukkan bahwa kadar TGF- $\beta$  pada keempat kelompok berbeda bermakna. Pada hari pengamatan 18 & 24 di dapatkan ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa kadar TGF- $\beta$  tidak berbeda bermakna.*

**Kata Kunci :** Hipoksia, fase proliferasi, fase remodeling, penyembuhan luka, MSC, TGF- $\beta$

### **Abstract**

*Mesenchymal Stem Cells (MSC) can be used to improve the wound healing process. Hypoxia are required to improve the quality of MSCs. TGF- $\beta$  has major role in every stage of wound healing, especially in the proliferative and remodeling phases. MSCs are able to secrete TGF- $\beta$  during injury which could support the angiogenesis process and control TGF- $\beta$  during the remodeling phase to avoid excessive scar tissues. This study aims to determine the effect of MSC hypoxia on TGF- $\beta$  levels in wound healing in the proliferative and remodeling phases. This study used an experimental approach with posttest only control group design. A total of 20 male wistar rats were divided into 4 groups. All rats will be wounded by 6mm punch biopsy. After the wound was made, Group I will not be injected with anything (sham), phosphate buffer saline was injected for group II (control), normoxia MSC for group III, and hypoxic MSC for group IV. Blood serum collection and analysis of TGF- $\beta$  levels were carried out on the 12th, 18th and 24th days after treatment using ELISA. Data analysis with One Way Anova test and continued with Post hoc test. The mean levels of TGF- $\beta$  in each group in wound healing in the proliferative and remodeling phases on observation days 12, 18, and 24 were as follows: Sham group (240.6; 267.4; and 240.4 pg/ml), Control group (398.9; 352.0; and 264.8 mg/ml), normoxia MSC group (262.0; 225.0; and 253.4 pg/ml), hypoxic MSC (250.8; 226.9; and 206.8 pg/ml). The results of the one-way ANOVA test on the 12th day of observation ( $p < 0.05$ ), the  $p$ -value indicates that the levels of TGF- $\beta$  in the four groups were significantly different. On observation days 18 & 24, it was obtained ( $p > 0.05$ ) indicating that the levels of TGF- $\beta$  were not significantly different*

**Keywords :** Hypoxic, proliferative phase, remodeling phases, wound healing, MSC, TGF- $\beta$ .

## 1. PENDAHULUAN

Penyembuhan luka merupakan proses fisiologis kompleks dimana jaringan rusak akan hilang dan digantikan oleh jaringan yang baru (Sorg et al., 2017). Penyembuhan

luka dan perawatan luka membutuhkan waktu yang lama, sehingga diperlukan pendekatan terapi regeneratif sebagai alternatif untuk meningkatkan proses penyembuhan luka (Kanji dan Das, 2017). Terapi regeneratif berbasis seluler seperti Mesenchymal stem cell (MSC) dapat digunakan karena mampu meregenerasi jaringan rusak (Aydemir et al., 2016). Namun demikian, penggunaan MSC masih kurang optimal, karena MSC memiliki survive rate rendah pada luka yang memiliki kondisi hipoksia, sehingga diperlukan kondisi perlakuan seperti hipoksia untuk meningkatkan kualitas MSC (Madrigal et al., 2014). Lingkungan hipoksia dapat meningkatkan kemampuan proliferasi dan bertahan hidup MSC sel lebih baik dibandingkan kondisi kultur biasa (Madrigal et al., 2014; Lv et al., 2017). Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) merupakan faktor pertumbuhan yang memiliki peran besar dalam setiap tahapan penyembuhan luka terutama pada fase proliferasi dan remodeling (Gilbert et al., 2016; Ramirez et al., 2014). MSC sendiri melalui kemampuan parakrinnya mampu mensekresikan TGF- $\beta$  saat terjadi luka yang akan membantu proses angiogenesis serta mengontrol TGF- $\beta$  saat fase remodeling sehingga tidak terbentuk jaringan parut berlebih (Cerqueira et al., 2016; Lu et al., 2016). Peran MSC hipoksia terhadap kadar TGF- $\beta$  dalam mekanisme penyembuhan luka masih belum diteliti terutama pada fase proliferasi sampai ke fase remodeling, sehingga dibutuhkan penelitian tentang pengaruh MSC hipoksia terhadap kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka pada fase proliferasi dan fase remodeling.

Luka merupakan permasalahan kesehatan yang terjadi di seluruh dunia. Negara Inggris dan Denmark setidaknya terdapat sekitar 3 sampai 4 orang mengalami luka per 1000 penduduk. Banyak di antara luka yang semula akut menjadi luka kronis akibat metode penyembuhan yang tidak efektif. Bahkan menurut penelitian terdahulu, Sayangnya, 15% luka tidak dapat pulih setelah 1 tahun muncul (Lindholm dan Searle, 2016). Berdasarkan data dari Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2013 diperoleh hasil prevalensi luka didominasi oleh luka akut berupa luka lecet atau memar sebanyak 70,9% dan luka robek sebanyak 23,2% (Balitbang Kemenkes RI, 2013). Luka dapat menyebabkan kerusakan jaringan serta menyebabkan terjadinya gangguan fungsi struktur anatomi tubuh. Luka dapat berupa luka akut maupun kronis. Luka akut yang tidak segera sembuh dapat berkembang menjadi luka kronis sehingga dapat memberikan beban yang sangat besar kepada masyarakat melalui pengurangan produktivitas kerja. Luka akut adalah kerusakan jaringan yang disebabkan oleh pengaruh luar, antara lain kontak kulit dengan permukaan yang tajam atau keras, luka tembak, dan luka pasca operasi. Penyebab lain cedera akut termasuk luka bakar dan cedera kimiawi seperti paparan radiasi, sengatan listrik, dan kontak dengan cairan kimia. Sementara luka kronis adalah luka yang membutuhkan waktu lebih lama untuk sembuh dari pada luka akut dan terkadang dapat menyebabkan kecacatan. Salah satu penyebab luka kronis adalah kegagalan pemulihan akibat kondisi fisiologis seperti diabetes, kanker, berbagai penyakit yang dapat menyebabkan infeksi persisten, dan kurangnya pengobatan (Augustin et al., 2014).

Prakondisi hipoksia pada kultur MSC sering diterapkan untuk memperkuat efek terapeutiknya. Kultur hipoksia memperkuat stemness dari MSC (Saller et al., 2012). Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) memiliki peran penting dalam peningkatan regulasi fungsi terapeutik MSC (Gonzalez-King et al., 2017). Kadar oksigen yang rendah mampu meningkatkan sintesis dari HIF-1 $\alpha$  yang memicu sintesis sejumlah sitokin dan faktor pertumbuhan sehingga mengaktifkan sejumlah gen yang terlibat dalam

angiogenesis dan penyembuhan luka, termasuk TGF- $\beta$ 1 yang bersifat proangiogenik dan bertugas menginduksi proliferasi dan migrasi keratinosit, sel endotel, monosit serta fibroblas pada jaringan luka (Hu et al., 2018). Selain memicu sintesis TGF- $\beta$ 1, MSC menurunkan pembentukan jaringan parut pada fase remodeling dengan mensekresi HGF untuk menurunkan kadar TGF- $\beta$ , karena sekresi TGF- $\beta$  berlebih menyebabkan aktivasi fibroblas yang menyebabkan terjadinya pembentukan jaringan parut (El Ayadi et al., 2020; Cerqueira et al., 2016)

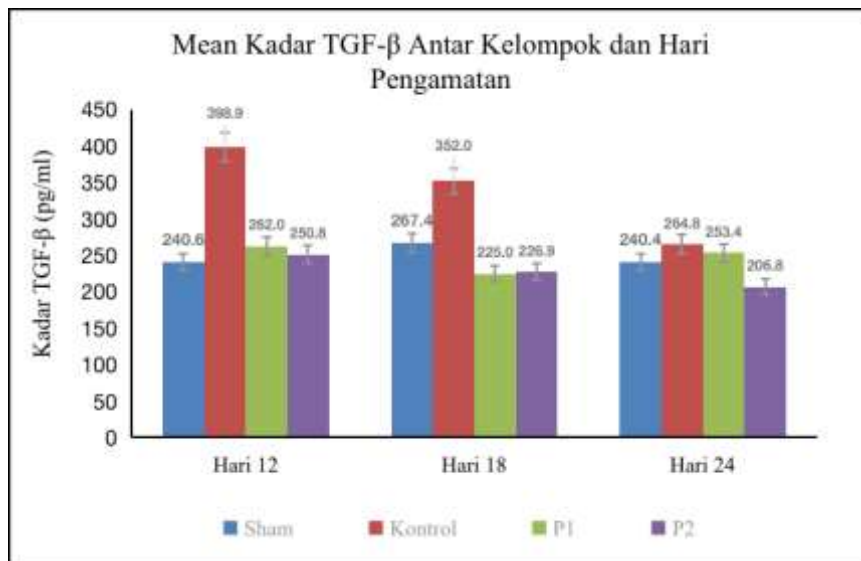
Penelitian yang dilakukan oleh Caliari-Oliveira et al (2016) pada tikus model luka bakar dengan perlakuan MSC diperoleh hasil peningkatan kadar TGF- $\beta$  secara signifikan pada hari ke 15 dibandingkan kontrol PBS dan penurunan kadar TGF- $\beta$  sampai hari ke 30 dan 45 dimana kadarnya tidak ada beda antara kelompok MSC dengan kelompok kontrol. Berdasarkan hal tersebut diatas maka diperlukan upaya penelitian berupa pengaruh MSC hipoksia terhadap kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling.

## **2. METODE**

Jenis penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental menggunakan hewan coba di laboratorium dengan post-test only control group design terhadap 20 ekor tikus putih jantan galur wistar yang dirandomisasi dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok. Dalam penelitian ini, Mesenchymal stem cell di isolasi dari umbilical cord yang kemudian dikultur serta dipanen. Seluruh tikus akan diberi perlakuan dengan punch biopsy 6mm di punggung sampai bagian dermis dan akan diberi perlakuan sesuai dengan kelompoknya yaitu, kelompok I (sham, tidak diberi perlakuan); kelompok II (kontrol, pemberian phospat buffer saline /PBS secara subkutan) ; kelompok III (pemberian MSC normoksia dengan dosis  $1,5 \times 10^6$  sel secara subkutan) dan kelompok IV (pemberian MSC hipoksia dengan dosis  $1,5 \times 10^6$  sel secara subkutan). Pengambilan sampel darah dan perhitungan kadar TGF- $\beta$  dilakukan pada hari ke-12, 18 dan 24 setelah perlakuan menggunakan ELISA . Data yang sudah diperoleh dianalisis dengan metode one way ANOVA kemudian dilanjutkan dengan uji Post Hoc tamhane untuk melihat perbedaan antar kelompok. Penelitian ini telah mendapatkan izin dari Komisi Bioetik FK UNISSULA dengan No.196/VII /2021/Komisi Bioetik.

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Rerata kadar TGF- $\beta$  antar kelompok dan hari pengamatan



Gambar 1. Grafik mean kadar TGF- $\beta$  antar kelompok dan hari pengamatan

Berdasarkan gambar 4.1 diketahui bahwa pada hari ke-12, rata-rata kadar TGF- $\beta$  tertinggi ditunjukkan oleh kelompok kontrol yaitu sebanyak 398,9 pg/ml; sedangkan pada ketiga kelompok lainnya relatif pada kisaran angka yang relatif serupa yaitu berkisar antara 240,6 – 262 pg/ml. Pada hari ke-18, rata-rata kadar TGF- $\beta$  tertinggi masih ditunjukkan oleh kelompok kontrol namun kadarnya sudah tidak setinggi di hari ke-12 yaitu sebesar 352 pg/ml. Pada ketiga kelompok lainnya juga tampak lebih rendah daripada di hari ke-12 dengan besar masing-masing yaitu 267,4 mg/ml; 226,9 pg/ml dan 225,0 pg/ml untuk kelompok sham, kelompok P2 dan kelompok P1. Pada pengamatan hari ke-24, juga memperlihatkan kecenderungan penurunan kadar TGF- $\beta$  dibandingkan dengan hari ke-18 pada semua kelompok, kecuali pada kelompok P1 yang kadarnya justru meningkat. Kadar TGF- $\beta$  tertinggi masih ditunjukkan oleh kelompok kontrol (264,8 pg/ml) diikuti oleh kelompok P1 (253,4 pg/ml), kelompok sham (240,4 pg/ml) dan kelompok P2 (206,8 pg/ml). Berdasarkan Gambar 4.1 tersebut tampak bahwa kadar TGF- $\beta$  cenderung menurun menurut lama hari pengamatan.

#### **Hasil analisis kadar TGF- $\beta$ per hari pengamatan**

##### **Pengamatan Hari Ke-12**

Tabel 1 Hasil analisis espresi TGF- $\beta$  hari ke-12

No	Kelompok	p-value			
		Shapiro Wilk Test	Levene Test		Uji One Way Anova
		Data Aktual	Data Aktual	Hasil Transformasi ke log natural	
1	Sham	0,987*			
2	Kontrol	0,794*	0,002	0,000	0,008 <sup>^</sup>
3	P1	0,341*			
4	P2	0,542*			

Keterangan: \* = distribusi normal, ^ = berbeda bermakna

Data kadar TGF- $\beta$  pengamatan hari ke-12 di keempat kelompok semua berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), namun varian data tidak homogen ( $p = 0,002$ ) dan setelah dilakukan transformasi data ke bentuk logaritma varian data juga tetap tidak homogen ( $p < 0,05$ ) (Lampiran 3). Perbedaan kadar TGF- $\beta$  hari ke-12 pada keempat kelompok dianalisis dengan uji One Way Anova dan diperoleh nilai p sebesar 0,008 ( $p < 0,05$ ), menunjukkan bahwa kadar TGF- $\beta$  pada keempat kelompok berbeda bermakna. Pengujian perbedaan antar dua kelompok lebih lanjut dilakukan dengan uji post hoc Tamhane, karena distribusi data normal tetapi varian data tidak homogen (Dahlan, 2016). Hasil uji Tamhane ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Perbandingan kadar TGF- $\beta$  hari ke-12 antar dua kelompok

Kelompok	Sham	Kontrol	P1	P2
Sham	-	0,009*	1,000	0,995
Kontrol		-	0,342	0,013*
P1			-	1,000
P2				-

Keterangan: \* = ada beda bermakna

Hasil uji post hoc Tamhane memperlihatkan perbedaan kadar TGF- $\beta$  antar dua kelompok hanya ditunjukkan antara kelompok sham dengan kelompok kontrol dan antara kelompok kontrol dengan kelompok P2 ( $p < 0,05$ ). Berdasarkan uji ini diketahui bahwa luka eksisi menghasilkan kadar TGF- $\beta$  yang tinggi, dan melalui pemberian MSC normoksia kadar TGF- $\beta$  tersebut menurun.

**Pengamatan Hari Ke-18**

Tabel 3. Hasil analisis espresi TGF-β hari ke-18

No	Kelompok	p-value			
		Shapiro Wilk		Levene test	Uji One Way Anova
		Data Aktual	Hasil Transformasi ke logaritma		
1	Sham	0,757*	0,678*	0,083**	0,130
2	Kontrol	0,378*	0,357*		
3	P1	0,378*	0,248*		
4	P2	0,030	0,176*		

Keterangan: \* = distribusi normal, \*\* = varian homogen

Data kadar TGF-β hari ke-18 di kelompok P2 tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ), setelah dilakukan transformasi dalam bentuk logaritma diperoleh distribusi data yang normal ( $p > 0,05$ ) dan varian data kadar TGF-β antar keempat kelompok homogen ( $p > 0,05$ ). Perbedaan kadar TGF-β hari ke-18 pada keempat kelompok dianalisis dengan uji One Way Anova dan diperoleh nilai p sebesar 0,130 ( $p > 0,05$ ), menunjukkan bahwa kadar TGF-β pada keempat kelompok di pengamatan hari ke-18 tidak berbeda bermakna.

**Pengamatan Hari Ke-24**

Tabel 4. Hasil analisis espresi TGF-β hari ke-24

No	Kelompok	p-value		
		Shapiro Wilk	Levene test	Uji One Way Anova
1	Sham	0,767*	0,295**	0,689
2	Kontrol	0,147*		
3	P1	0,136*		
4	P2	0,691*		

Keterangan: \* = distribusi normal, \*\* = varian homogen

Data kadar TGF-β hari ke-24 di keempat kelompok semua berdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), dan juga memiliki varian data homogen ( $p > 0,05$ ). Perbedaan kadar TGF-β hari ke-24 pada keempat kelompok dianalisis dengan uji One Way Anova dan diperoleh nilai p sebesar 0,689 ( $p > 0,05$ ), menunjukkan bahwa kadar TGF-β pada keempat kelompok di pengamatan hari ke-24 tidak berbeda bermakna.

Pengamatan hari ke-12 menampilkan kadar TGF- $\beta$  yang tertinggi pada kelompok kontrol. Pada hari ke-12 masih dalam fase proliferasi, dan pada fase ini muncul keratinosit dan fibroblas yang berproliferasi dan bermigrasi menuju tepi luka untuk menstimulasi pembentukan jaringan baru (Nauta et al., 2011). Pada proses migrasi tersebut TGF- $\beta$  berperan menstimulator mitogenik dan kemotaktik untuk menarik keratinosit bermigrasi menuju luka dan memulai epitelisasi, sehingga pada fase ini kadar TGF- $\beta$  pada proses penyembuhan luka yang normal tergolong tinggi (Al-Shaibani et al., 2016).

Kadar TGF- $\beta$  pada hari ke-12 menurun secara bermakna melalui pemberian MSC hipoksia dengan dosis  $1,5 \times 10^6$ . Hasil ini menandakan bahwa MSC hipoksia segera mengakhiri fase proliferasi, karena fase proliferasi biasanya dimulai pada hari ketiga hingga sekitar hari ke-14 setelah terjadi luka dan TGF- $\beta$  termasuk faktor pertumbuhan yang banyak terekspresi pada fase ini. Hasil ini relevan dengan hasil penelitian terdahulu bahwa penurunan kadar TGF- $\beta$  pada fase proliferasi oleh MSC karena adanya peningkatan produksi HGF yang biasanya ditemukan pada fase remodelling (Cerqueira et al., 2016).

Peran MSC hipoksia dalam mempersingkat fase proliferasi terjadi karena kondisi hipoksia dapat meningkatkan proliferasi, diferensiasi, kemampuan hidup dan sekresi senyawa aktif yang dapat mendukung proses penyembuhan luka (Lakatos et al., 2015). Kondisi hipoksia mengaktivasi faktor transkripsi yaitu HIF-1 $\alpha$  lebih tinggi daripada kondisi normoksia, karena pada normoksia HIF-1 $\alpha$  terdegradasi oleh *HIF prolyl-4-hydroxylases* (Madrigal et al., 2014). HIF-1 $\alpha$  kemudian berdimerisasi dengan HIF-1 $\beta$  membentuk faktor transkripsi HIF-1 dan terikat pada *hypoxia responsive element* (HREs) dalam promoter gen. Peristiwa tersebut akan menginisiasi proses ekspresi gen yang responsif terhadap hipoksia seperti *gen vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Zainuri & Rif'ati, 2014) dan bFGF (Chen et al., 2014), faktor pertumbuhan yang berperan sebagai stimulator angiogenesis (Razban et al., 2012).

Pada pengamatan hari ke-18 dan 24 tidak terdapat perbedaan kadar TGF- $\beta$  di keempat kelompok. Pada hari tersebut memasuki fase remodelling dimana TGF- $\beta$  ikut berperan di dalamnya, namun karena telah terjadi penyembuhan luka maka kadar TGF- $\beta$  di berbagai kelompok relatif serupa. Penyembuhan luka tersebut tampak dari kondisi luka yang sudah menutup. Pada penelitian terdahulu proses penyempitan luas luka terjadi secara signifikan mulai pada hari ke-11 dan lebih sempit lagi pada hari ke-14 setelah perlakuan pada kelompok mencit yang diberi perlakuan MSC hipoksia. Mencit yang diberi pengobatan topikal MSC hipoksia menunjukkan percepatan penutupan luka dibandingkan dengan kelompok MSC normoksia dan sham tanpa pengobatan (Chen et al., 2014). Pada pengamatan hari ke-18 dan 24 MSC mungkin tidak lagi mempengaruhi kadar TGF- $\beta$  tetapi mempengaruhi marker penyembuhan luka lain yang juga berperan dalam proses pematangan dan remodelling seperti PDGF, FGF2, MMP, TIMPs, kolagen dan lain-lain (Sun et al., 2014).

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa MSC yang dikondisikan hipoksia secara in vitro meningkatkan proliferasi MSC, meningkatkan regulasi ekspresi mRNA bFGF, IGF-1, VEGF-A, TGF- $\beta$ 2 dan TGF- $\beta$ 3, IL-1 $\beta$ , IL6 serta IL8. bFGF dan VEGF-A merupakan growth factor yang menginduksi angiogenesis, migrasi sel, proliferasi, dan lain-lain. MSC hipoksia juga meningkatkan efek mitogenik, kemoatraktif serta



angiogenik, dan mempercepat proses penutupan luka karena kemampuan proliferasi MSC, neovaskularisasi serta perekrutan makrofag inflamasi yang lebih tinggi serta menurunkan kolagen I serta III atau dengan kata lain MSC hipoksia telah meningkatkan kualitas penyembuhan luka (*Chen et al., 2014*).

Temuan penelitian ini menunjukkan kondisi hipoksia meningkatkan efek parakrin MSC dalam mempromosikan penyembuhan luka. Efek tersebut ditunjukkan dengan penurunan kadar TGF- $\beta$  pada fase proliferasi (hari ke-12). Namun dengan mempertimbangkan tidak adanya perbedaan kadar TGF- $\beta$  pada hari ke-18 dan hari ke-24 maka pemeriksaan efek MSC hipoksia terhadap marker lain dari proses penyembuhan luka eksisi perlu dilakukan misalnya pada kadar HGF dan VEGF-A.

Penelitian ini juga memiliki keterbatasan yaitu kondisi hipoksia penelitian ini dilakukan pada 1,5 - 5% O<sub>2</sub>, penelitian lain mengkondisikan hipoksia hanya pada 2% O<sub>2</sub>. Keterbatasan lain tidak secara spesifik mengamati pengaruh MSC hipoksia pada isoform tertentu dari TGF- $\beta$  dalam proses penyembuhan luka, sedangkan isoform-isoform tersebut memiliki peran berbeda. TGF- $\beta$ 1 dan 2 pada tahap proliferasi menstimulasi reepitelisasi, angiogenesis dan deposisi matriks ekstraseluler sedangkan TGF- $\beta$ 3 menghambat proses deposisi tersebut. Pada tahap remodelling, TGF- $\beta$ 1 dan 2 menstimulasi transisi fibroblas menjadi miofibroblas sehingga luka sembuh dan terbentuk jaringan parut sedangkan TGF- $\beta$ 3 menghambatnya proses transisi tersebut dan menjadikan luka sembuh tanpa jaringan parut (*Gilbert et al., 2016*).

## KESIMPULAN

1. Hasil pengamatan hari ke 12 ( $p < 0,05$ ), nilai p menunjukkan bahwa kadar TGF- $\beta$  pada keempat kelompok berbeda bermakna, hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian MSC hipoksia menurunkan kadar TGF- $\beta$ . Pada hari pengamatan 18 & 24 di dapatkan ( $p > 0,05$ ) menunjukkan bahwa kadar TGF- $\beta$  tidak berbeda bermakna, yang menunjukkan bahwa MSC hipoksia yang diberikan sudah tidak memengaruhi kadar TGF- $\beta$ .
2. Kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling di kelompok sham pada pengamatan hari ke-12, 18 dan 24 masing-masing adalah sebesar 240,6; 267,4; dan 240,4 mg/ml.
3. Kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling di kelompok kontrol pada pengamatan hari ke-12, 18 dan 24 masing-masing adalah sebesar 398,9; 352,0; dan 264,8 mg/ml.
4. Kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling di kelompok MSC normoksia pada pengamatan hari ke-12, 18 dan 24 masing-masing adalah sebesar 262,0; 225,0; dan 253,4 mg/ml.
5. Kadar TGF- $\beta$  pada penyembuhan luka fase proliferasi dan remodeling di kelompok MSC hipoksia pada pengamatan hari ke-12, 18 dan 24 masing-masing adalah sebesar 250,8; 226,9; dan 206,8 mg/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

- Al-Shaibani, M. B. H., Wang, X., Lovat, P. E., & Dickinson, A. M. (2016). Cellular Therapy for Wounds: Applications of Mesenchymal Stem Cells in Wound Healing. In *Wound Healing - New insights into Ancient Challenges*.

- Augustin M, Brocatti LK, Rustenbach SJ, Schäfer I, Herberger K. 2014. Cost-of-illness of leg ulcers in the community. *Int Wound J.* 11:283-292.
- Aydemir I, Öztürk S., Sönmez P.K., Tuğlu M.I., 2016, Mesenchymal stem cells in skin wound healing, *Anatomy* 10(3): 228-234.
- Balitbang Kemenkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*, Balitbang Kemenkes RI, Jakarta.
- Borthwick LA, Barron L, Hart KM, et al. 2016. Macrophages are critical to the maintenance of IL-13- dependent lung inflammation and fibrosis. *Mucosal Immunol.* 9(1):38-55.
- Breit SN, Wahl SM. 2013. TGF- $\beta$  and Related Cytokines in Inflammation. Springer, Switzerland.
- Caliari-Oliveira C, Yaochite JNU, Ramalho LNZ, Palma PVB, Carlos D, de Queiróz Cunha F, De Souza DA, Frade MAC, Covas DT, Malmegrim KCR, et al. 2016. Xenogeneic mesenchymal stromal cells improve wound healing and modulate the immune response in an extensive burn model. *Cell Transplant.* 25:201–215.
- Camões SP, Santos JM, Carvalho F, Miranda JP. 2020. Mesenchymal stem cells for cutaneous wound healing. *Concepts and Applications of Stem Cell Biology Learning Materials in Biosciences.* 247-267.
- Cerqueira CT, Pirraco RP, Marques AP. 2016. Stem Cells in Skin Wound Healing: Are We There Yet? *Advances In Wound Care.* 5(4).
- Cerqueira MT, Pirraco RP, Marques AP. 2016. Stem cells in skin wound healing: are we there yet? *Advances In Wound Care.* 5(4):164-175.
- Chen, L., Xu, Y., Zhao, J., Zhang, Z., Yang, R., Xie, J., ... Qi, S. (2014). Conditioned medium from hypoxic bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhances wound healing in mice. *PLoS ONE*, 9(4).
- Dahlan, M. S. (2016). *Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Jakarta: Epidemiologi Indonesia.
- Ding D, Shyu W, Lin S. 2011. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant.* 20(1):5-14.
- El Ayadi A, Jay JW, Prasai A. 2020. Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring. *Int. J. Mol. Sci.* 21.1105.
- Fedik AR., Ferdiansyah, Purwati. 2014. *Stem Cell, Mesenchymal, Hematopoetik dan Model Aplikasi*. Edisi Kedua. Airlangga University Press, Surabaya.
- Gilbert RWD, Vickaryous MK, Vilorio-Petit AM. 2016. Signalling by Transforming Growth Factor Beta Isoforms in Wound Healing and Tissue Regeneration. *J. Dev. Biol.* 4(2).
- Gonzalez-King H, García NA, Ontoria-Oviedo I, Ciria M, Montero JA, Sepúlveda P. 2017. Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  potentiates jagged 1-mediated angiogenesis by mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Stem Cells.* 35(7):1747–59.
- Guerrero PA, McCarty JH. 2017. TGF- $\beta$  activation and signaling in angiogenesis, physiologic and pathologic angiogenesis - signaling mechanisms and targeted therapy. *IntechOpen*.

- Heikkinen P, Yliopisto T. 2015. Modulation of TGF- $\beta$  Signaling by Hypoxia. Dissertation, University of Turku.
- Junqueira, L. C., 2010, Histologi Dasar, Edisi 12, EGC, Jakarta, hh. 309-317.
- Hofmann M. 2014. Stem cells and nanomaterials. *Adv Exp Med Biol*. 811:255-75.
- Halim D, Murti H, Sandra F, Boediono A, Djuwantono T, Setiawan B. 2010. *Stem Cell Dasar Teori dan Apikasi Klinis*. Jakarta : Erlangga.
- Hu MS, Borrelli MR, Lorenz HP, Longaker MT, Wan DC. 2018. Mesenchymal stromal cells and cutaneous wound healing: A comprehensive review of the background, role, and therapeutic potential.
- Hu MS, Maan ZN, Wu JC, Rennert RC, Hong WX, Lai TS, Cheung ATM, Walmsley GG, Chung MT, McArdle A, Longaker MT, Lorenz HP. 2014. Tissue engineering and regenerative repair in wound healing. *Annals of Biomedical Engineering*. 42(7):1494–1507.
- Kanji S, Das H. 2017. Advances of stem cell therapeutics in cutaneous wound healing and regeneration. *Mediators Inflamm*. 2017:1-14.
- Kumar V, Abbas AK, Aster JC. 2018. *Robbins Basic Pathology 10 ed*. Philadelphia: Elsevier.
- Lakatos K, Kalomoiris S, Merkely B, Nolte JA, Fierro FA. 2016. Mesenchymal stem cells respond to hypoxia by increasing diacylglycerols. *J Cell Biochem*. 117(2):300-7.
- Lee DE, Ayoub N, Agrawal DK. 2016. Mesenchymal stem cells and cutaneous wound healing: novel methods to increase cell delivery and therapeutic efficacy. *Stem Cell Research & Therapy*. 7(37).
- Li Y, Wang M, Carra C, Cucinotta FA. 2012. Modularized Smad-regulated TGF $\beta$  signaling pathway. *Mathematical Biosciences*. 240(2):187–200.
- Lindholm C, Searle R. 2016. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *Int Wound J*. 13 Suppl 2:5-15.
- Lu Z, Chen W, Li Y, Li L, Zhang H, Pang Y, Xiao Z, Xiao H, Xiao Y. 2016. TNF- $\alpha$  enhances vascular cell adhesion molecule-1 expression in human bone marrow mesenchymal stem cells via the NF- $\kappa$ B, ERK and JNK signaling pathways, *Mol Med Rep*. 14(1): 643–648.
- Lv F.J., Tuan R.S., Cheung K.M., Leung V.Y., 2014, Concise review: The surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 32, 1408–1419.
- Madrigal M., Rao K.S., Riordan N.H., 2014, A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods. *Journal of Translational Medicine* 2014, 12:260.
- Mas-Bargues C, Sanz-Ros J, Román-Domínguez A, Inglés M, Gimeno-Mallench L, El Alami M, Viña-Almunia J, Gambini J, Viña J, Borrás C. 2019. Relevance of oxygen concentration in stem cell culture for regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 20:1-27.

- Massague J. 2012. TGFbeta signalling in context. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 13(10):616–30.
- Maxson S, Lopez EA, Yoo D, Danilkovitch-miagkova A, Leroux MA. 2012. Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Translational Medicine*. 1:142–149.
- Nauta, A., Larson, B., Longaker, M. T., & Peter Lorenz, H. (2011). Scarless Wound Healing. *Principles of Regenerative Medicine*, 2(2), 40–43.
- Oshimori N, Fuchs E. 2012. The harmonies played by TGF-beta in stem cell biology. *Cell Stem Cell*. 11(6):751-64.
- Pakyari M, Farrokhi A, Maharlooei MK, Ghahary A. 2013. Critical role of transforming growth factor beta in different phases of wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2(5): 215–224.
- Poniatowski LA, Wojdasiewicz P, Gasik R, Szukiewicz D. 2015. Transforming growth factor beta family: insight into the role of growth factors in regulation of fracture healing biology and potential clinical applications. *Mediators Inflamm*. 2015: 137823.
- Putra A, Wirastuti K, Sadyah NAC, et al. 2020. Mesenchymal stem cells suppress tgf- $\beta$  release to decrease  $\alpha$ -sma expression in ameliorating ccl4-induced liver fibrosis. *Research Square*.
- Ramirez H, Patel SB, Pastar I. 2014. The Role of TGFb Signaling in Wound Epithelialization. *Advances In Wound Care*. 3(7).
- Razban, V., Lotfi, A. S., Soleimani, M., Ahmadi, H., Massumi, M., Khajeh, S., ... Khoshdel, A. (2012). HIF-1 $\alpha$  overexpression induces angiogenesis in mesenchymal stem cells. *BioResearch Open Access*, 1(4), 174–183.
- Saller MM, Prall WC, Docheva D, Schönitzer V, Popov T, Anz D, et al. 2012. Increased stemness and migration of human mesenchymal stem cells in hypoxia is associated with altered integrin expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 423(2):379–85.
- Sorg H, Tilkorn DJ, Hager S, Hauser J, Mirastschijski U. 2017. Skin wound healing: An update on the current knowledge and concepts. *Eur Surg Res*. 58:81-94.
- Sun BK, Siprashvili Z, Khavari PA. 2014. Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds. *Science*. 346(6212): 941-945.
- Wang L, Hu L, Zhou, X, et al. 2017. Exosomes secreted by human adipose mesenchymal stem cells promote scarless cutaneous repair by regulating extracellular matrix remodelling. *Sci Rep*. 7:13321.
- Widowati W, Rihibiha DD, Khiong K, M. Widodo A, Sumitro SB, Bachtiar I. 2017. Hypoxia in mesenchymal stem cell, hypoxia and human diseases. *IntechOpen*.
- Williams AR, Hare JM. 2011. Mesenchymal stem cells: Biology, patho-physiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease, *Circ Res*. 109(8): 923–940.

Yolanda M, Maria A, Amaia F, Marcos PB, Silvia PL, Dolores E, Jesús O. 2014. Adult stem cell therapy in chronic wound healing. *J Stem Cell Res Ther* 4:1.

Zainuri, M., & Rif'ati, L. (2014). Kajian Peran Manganese-Containing Super Oxide Dismutase (Mnsod) Dalam Regulasi Ekspresi Hypoxia Inducible Factor-1A (Hif-1A) Pada Keadaan Hipoksia. *Media of Health Research and Development*, 23(4), 143–148.