

REPUBLIC INDONESIA  
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

# SURAT PENCATATAN CIPTAAN

Dalam rangka perlindungan ciptaan di bidang ilmu pengetahuan, seni dan sastra berdasarkan Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta, dengan ini menerangkan:

Nomor dan tanggal permohonan : EC00202022443, 13 Juli 2020

## Pencipta

Nama : **Dr. dr. SUKMAWATI TANSIL TAN, Sp.KK, Dr. dr. SIUFUI HENDRAWAN, M.Biomed dkk**

Alamat : KP. KAMURANG ATAS 001/001, PAKUALAM, SERPONG UTARA, TANGERANG SELATAN, BANTEN, 15320

Kewarganegaraan : Indonesia

## Pemegang Hak Cipta

Nama : **Dr. dr. SUKMAWATI TANSIL TAN, Sp.KK, Dr. dr. SIUFUI HENDRAWAN, M.Biomed dkk**

Alamat : KP. KAMURANG ATAS 001/001, PAKUALAM, SERPONG UTARA, TANGERANG SELATAN, BANTEN, 15320

Kewarganegaraan : Indonesia

Jenis Ciptaan : **Karya Ilmiah**

Judul Ciptaan : **POTENSIAL INJEKSI CONDITIONED MEDIUM MESENCHYMAL STEM CELLS SECARA INTRAKUTAN UNTUK ULKUS TROPIK MORBUS HANSEN**

Tanggal dan tempat diumumkan untuk pertama kali di wilayah Indonesia atau di luar wilayah Indonesia : 13 Juli 2020, di Jakarta

Jangka waktu perlindungan : Berlaku selama hidup Pencipta dan terus berlangsung selama 70 (tujuh puluh) tahun setelah Pencipta meninggal dunia, terhitung mulai tanggal 1 Januari tahun berikutnya.

Nomor pencatatan : 000195663

adalah benar berdasarkan keterangan yang diberikan oleh Pemohon.

Surat Pencatatan Hak Cipta atau produk Hak terkait ini sesuai dengan Pasal 72 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta.

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA  
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL



Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.  
NIP. 196611181994031001

Disclaimer:

Dalam hal pemohon memberikan keterangan tidak sesuai dengan surat pernyataan, Menteri berwenang untuk mencabut surat pencatatan permohonan.

**LAMPIRAN PENCIPTA**

No	Nama	Alamat
1	Dr. dr. SUKMAWATI TANSIL TAN, Sp.KK	KP. KAMURANG ATAS 001/001, PAKUALAM, SERPONG UTARA
2	Dr. dr. SIUFUI HENDRAWAN, M.Biomed	JL. TSS NO. 107A
3	dr. PUTRI BENNYA AISYAH	JALAN CEMPAKA PUTIH TENGAH 21 NO 2 RT 004 / RT 006 JAKARTA PUSAT
4	dr. KELVIN CRISTIAN HALIM	JL. DR. SETIA BUDI NO. 102B
5	dr. YOHANES FIRMANSYAH	PONDOK SEMANAN INDAH BLOK B 2, KETAPANG, CIPONDOH

**LAMPIRAN PEMEGANG**

No	Nama	Alamat
1	Dr. dr. SUKMAWATI TANSIL TAN, Sp.KK	KP. KAMURANG ATAS 001/001, PAKUALAM, SERPONG UTARA
2	Dr. dr. SIUFUI HENDRAWAN, M.Biomed	JL. TSS NO. 107A
3	dr. PUTRI BENNYA AISYAH	JALAN CEMPAKA PUTIH TENGAH 21 NO 2 RT 004 / RT 006 JAKARTA PUSAT
4	dr. KELVIN CRISTIAN HALIM	JL. DR. SETIA BUDI NO. 102B
5	dr. YOHANES FIRMANSYAH	PONDOK SEMANAN INDAH BLOK B 2, KETAPANG, CIPONDOH



**KARYA ILMIAH**



**POTENSIAL INJEKSI CONDITIONED MEDIUM  
MESENCHYMAL STEM CELLS SECARA INTRAKUTAN UNTUK  
ULKUS TROPIK MORBUS HANSEN**

Ketua Tim

Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK (0314076402)

Anggota:

Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed (0311047204)

dr. Putri Benny Aisyah (406151053)

dr. Kelvin Cristian Halim (406118020)

dr. Yohanes Firmansyah (406162018)

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TARUMANAGARA

JAKARTA

2020

## HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Potensial Injeksi Conditioned Medium Mesenchymal Stem Cells Secara Intrakutan Untuk Ulkus Tropik Morbus Hansen
2. Ketua Tim Pengusul
  - a. Nama dan gelar : Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK
  - b. NIDN : 0314076402
  - c. Jabatan/gol. : Lektor
  - d. Program Studi : Pendidikan Dokter
  - e. Fakultas : Kedokteran
  - f. Bidang keahlian : Kulit dan Kelamin
  - g. Alamat kantor : Union Square No.9, Gading Serpong, Tangerang, Banten
  - h. No.HP/tlp : 087871111318
3. Anggota Tim Penelitian
  - a. Jumlah : Dosen 1 orang
  - b. Nama anggota I/Fak/Keahlian : Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed. /Kedokteran/*Tissue engineering*
  - c. Jumlah Mahasiswa 2 orang
  - d. Nama mahasiswa/NIM : Putri Bennya Aisyah/406151053  
Kelvin Cristian Halim/406118020  
Yohanes Firmansyah/ 406162018
4. Lokasi Kegiatan Penelitian : Rumah Sakit Alverno, Singkawang
5. Luaran yang dihasilkan : Artikel ilmiah

Jakarta, 01 Januari 2020

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran

Ketua Peneliti,

Dr. dr. Meilani Kumala, MS., Sp.GK

Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK

NIDN: 0326105805

NIDN: 0314076402

Menyetujui,

Direktur Penelitian dan Pengabdian Masyarakat

Jap Tji Beng, PhD.

NIDN: 0323085501

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK (0314076402)
2. Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed (0311047204)
3. dr. Putri Benny Aisyah (406151053)
4. dr. Kelvin Cristian Halim (406118020)
5. dr. Yohanes Firmansyah (406162018)

Dengan ini menyatakan, menjamin bahwa laporan ilmiah berjudul :

***POTENSIAL INJEKSI CONDITIONED MEDIUM MESENCHYMAL  
STEM CELLS SECARA INTRAKUTAN UNTUK ULKUS TROPIK  
MORBUS HANSEN***

Merupakan hasil karya kami, semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah kami nyatakan dengan benar dan tidak melanggar ketentuan plagiarisme dan otoplagiarisme. Pernyataan ini dibuat dengan penuh kesadaran dan tanpa unsur paksaan dari pihak manapun.

Jakarta, Juli 2020

Yang menyatakan,

Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK (.....)

Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed (.....)

dr. Putri Benny Aisyah (.....)

dr. Kelvin Cristian Halim (.....)

dr. Yohanes Firmansyah (.....)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Kami yang bertandatangan dibawah ini :

Nama :

1. Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK (0314076402)
2. Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed (0311047204)
3. dr. Putri Benny Aisyah (406151053)
4. dr. Kelvin Cristian Halim (406118020)
5. dr. Yohanes Firmansyah (406162018)

Jenis Karya : Penelitian Eksperimental

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, memberikan persetujuan/ijin untuk mempublikasikan hasil karya ilmiah kami yang berjudul :

**POTENSIAL INJEKSI CONDITIONED MEDIUM  
MESENCHYMAL STEM CELLS SECARA INTRAKUTAN UNTUK  
ULKUS TROPIK MORBUS HANSEN**

Jakarta, Juli 2020

Yang menyatakan,

Dr. dr. Sukmawati Tansil Tan, Sp.KK (.....)

Dr. dr. Siufui Hendrawan, M.Biomed (.....)

dr. Putri Benny Aisyah (.....)

dr. Kelvin Cristian Halim (.....)

dr. Yohanes Firmansyah (.....)

## RINGKASAN

Morbus Hansen, adalah penyakit menular kronis yang disebabkan oleh *Mycobacterium leprae*, mikroorganisme yang cenderung menginfeksi pada kulit dan saraf. Meskipun tidak fatal, morbus hansen adalah salah satu penyebab paling umum dari neuropati perifer nontraumatic di seluruh dunia.

Menurut World Health Organization (WHO), pada tahun 2016 terdapat total kasus baru ditemukan sebesar 214.783 dari 143 negara. Total kasus baru tahun 2016 ini meningkat jika dibandingkan dengan tahun 2015 karena meningkatnya penemuan kasus secara aktif. World Health Organization mendeklarasikan 22 negara sebagai “global priority countries” untuk kusta yang menyumbang sebesar 94-96% beban penyakit dan 92,3% kasus dengan disabilitas tingkat II. Terdapat 12.437 kasus pada tahun 2016 dengan disabilitas tingkat II yang dilaporkan secara global. Melihat hasil analisis statistik penyakit kusta dari tahun 2007-2016, menunjukkan bahwa proporsi kasus di sebagian besar negara hampir selalu berada pada tingkat yang sama meskipun terjadi pengurangan jumlah kasus. Hal ini menunjukkan bahwa transmisi penyakit masih berlanjut. Daerah Asia Tenggara sendiri memiliki angka penemuan kasus baru dan jumlah kasus kusta dengan disabilitas tingkat II tertinggi dibandingkan dengan daerah Afrika, Amerika, Mediteranian, Pasifik barat dan Eropa. Beberapa negara Asia Tenggara yang berkontribusi paling banyak adalah Indonesia, Myanmar dan Filipina.

Negara Indonesia menyumbang sebanyak 16.826 dari 214.783 kasus baru di dunia yang terdeteksi pada tahun 2016, 1363 kasus disertai dengan disabilitas tingkat II dengan 62 diantaranya adalah anak-anak, dan 229 kasus relaps ditemukan dan saat ini Indonesia belum bisa dinyatakan bebas dari penyakit kusta. Terdapat 10 provinsi dengan high burden disease pada tahun 2017 berdasarkan New Case Detection Rate (NCDR), yaitu provinsi Sulawesi Utara, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Gorontalo, Sulawesi Barat, Maluku, Maluku Utara, Papua Barat, dan Papua. Terdapat 11 provinsi dengan high burden disease untuk pasien usia anak-anak, yaitu Bengkulu, Kepulauan Riau, Banten, Kalimantan Barat, Kalimantan Utara, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Maluku, Maluku Utara, Papua Barat, dan Papua.

Kalimantan sebagai salah satu pulau dengan angka high burden disease tertinggi khususnya pada populasi anak patut untuk di jadikan perhatian khusus lebih lanjut. Kalimantan sendiri terdiri dari 5 provinsi utama yaitu Kalimantan Utara, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah serta Kalimantan Selatan. Angka penemuan kasus baru di Kalimantan terbilang cukup tinggi. Secara populasi umum atau tanpa memandang usia dapat dijabarkan bahwa angka NCDR pada tahun 2017 di provinsi Kalimantan Barat sebesar 1,24 %, Kalimantan Tengah sebesar 1,46%, Kalimantan Selatan sebesar 2,38%, Kalimantan Timur sebesar 4,28% dan Kalimantan Utara sebesar 7,52%. Tetapi angka tersebut melonjak naik bila hanya disoroti pada populasi anak yang tentu saja angka mengganggu produktivitas serta kualitas hidup di kemudian hari. Angka NCDR pada tahun 2017 pada populasi khusus yaitu anak pada masing-masing provinsi di Kalimantan adalah Kalimantan Barat sebesar 11,48 %, Kalimantan Tengah sebesar 5,26%, Kalimantan Selatan sebesar 3,06%, Kalimantan

Timur sebesar 3,27% dan Kalimantan Utara sebesar 13,46%. Oleh sebab itu penelitian ini dilakukan terfokus pada Kalimantan Barat dengan angka kejadian NCDR tertinggi kedua serta terfokus pada daerah Singkawang.

Penyembuhan luka adalah proses kompleks yang dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin yang dilepaskan ke tempat luka. Secara umum dibagi menjadi dua jenis, penyembuhan luka akut dan penyembuhan luka kronis. Luka akut dapat sembuh lebih cepat seiring dengan berjalannya waktu, namun luka kronis merupakan beban berat bagi banyak pasien dan lembaga perawatan kesehatan.

Luka yang disebabkan oleh penyakit Morbus Hansen, termasuk ke dalam ulkus kronis. Meskipun terdapat banyak kemajuan terbaru dalam manajemen perawatan luka, namun sekitar 50% dari ulkus kronis masih gagal disembuhkan. Pengobatan konvensional ulkus kronis membutuhkan banyak biaya dan waktu, sehingga diperlukan inovasi dan pengembangan strategi yang berbeda. Terapi sel merupakan alternatif baru untuk metode penyembuhan luka saat ini. Oleh karena itu, peneliti mencoba untuk melihat potensi besar menggunakan *conditioned medium mesenchymal stem cells* (CM MSCs) yang memiliki banyak faktor-faktor pertumbuhan, parakrin dan sitokin yang merupakan sumber penyembuhan luka yang diharapkan dapat digunakan sebagai terapi baku mas untuk kasus-kasus luka kronis pada penyakit Lepra, sehingga dapat meringankan biaya, waktu penyembuhan, kecacatan, efek psikologis dan diskriminasi pada penderita penyakit Lepra.

## PRAKATA

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan YME, yang telah menyertai kami dalam pembuatan proposal ini. Dalam praktik sehari-hari, peneliti sering menjumpai pasien Morbus Hansen yang memiliki luka kronis dan tidak kunjung membaik sehingga banyak diantara mereka merasa putus asa. Penyakit Morbus Hansen menimbulkan berbagai masalah kesehatan yang cukup kompleks bukan hanya dari segi medis, namun juga dari segi mental, sosial, ekonomi dan budaya. Masalah tersebut terutama timbul akibat cacat yang biasanya di akibatkan oleh luka kronis yang dibiarkan begitu saja. Hal ini mendorong peneliti untuk mencari potensi pengobatan luka kronis dengan menggunakan *conditioned medium mesenchymal stem cells* yang mengandung banyak *growth factor* yang diketahui dapat membantu mempercepat proses penyembuhan luka menurut berbagai referensi. Penelitian ini dapat terwujud melalui kerjasama antara peneliti dan Rumah Sakit Alverno di Singkawang, yang akan membantu dalam proses seleksi subjek penelitian. Peneliti juga ingin berterima kasih kepada pihak-pihak bersangkutan yang telah bersedia membantu penelitian yang akan dilakukan. Peneliti berharap hasil dari penelitian ini dapat memberikan harapan baru bagi pasien Morbus Hansen dengan ulkus kronis serta mencegah terjadinya kecacatan yang lebih lanjut.

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	1
HALAMAN PENGESAHAN PENELITIAN.....	2
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....	3
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN .....	4
RINGKASAN.....	5
PRAKATA .....	7
DAFTAR ISI .....	8
DAFTAR GAMBAR.....	10
DAFTAR TABEL .....	11
BAB 1 PENDAHULUAN.....	12
1.1 Latar Belakang .....	12
1.2 Rumusan Masalah.....	16
1.3 Tujuan Penelitian .....	16
1.4 Manfaat Penelitian .....	17
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	18
2.1 Penelusuran Literatur .....	18
2.1.1 Morbus Hansen .....	18
2.1.2 Ulkus Kronis .....	25
2.1.3 Managemen Ulkus Kronis.....	28
2.1.4 Terapi <i>Stem Cell</i> .....	28
2.1.5 Mekanisme Parakrin Dalam Media Terkondisi Sel Induk .....	31
2.1.6 Sekretom dan Media Terkondisi dari MSC.....	32
2.1.7 Mekanisme Sekretom MSC dan Aplikasi-nya .....	33
2.1.8 Mendorong Modifikasi Sekretori dalam MSC.....	37
2.1.9 Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell .....	40
2.1.10 Placental Mesenchymal Stem Cell.....	41
2.1.11 Amniotic Epithelial Cells (AEC) .....	42
2.1.12 Mesenchymal Stem Cells Pada Placenta.....	44
2.1.13 Aplikasi Klinis.....	46
2.2 Kerangka Konsep.....	48
BAB III METODE PENELITIAN .....	49

3.1 Desain Penelitian .....	49
3.2 Tempat dan Waktu .....	49
3.3 Populasi dan Sampel .....	49
3.4 Perkiraan Besar Sampel .....	49
3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi .....	49
3.6 Cara Kerja Penelitian .....	50
3.7 Variabel.....	50
3.8 Instrumen Penelitian .....	50
3.9 Definisi Operasional .....	51
3.10 Alur Penelitian .....	52
3.11 Pengambilan Data .....	53
3.12 Analisis Data.....	53
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>54</b>
4.1 Karakteristik Demografi Responden.....	54
4.2 Perubahan Panjang, Lebar, serta Luas Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan .....	57
4.2.1 Perubahan Panjang Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan .....	57
4.2.2 Perubahan Panjang Lebar pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan .....	59
4.2.3 Perubahan Luas Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan .....	60
<b>BAB V DISKUSI .....</b>	<b>62</b>
<b>BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>65</b>
6.1 Kesimpulan .....	65
6.2 Saran .....	66
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>67</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 Kasus-kasus morbus hansen yang baru didiagnosis di seluruh dunia <sup>7</sup> .....	13
Gambar 2 Perspektif skematis sel induk dalam penyembuhan luka kulit dan sebagai unit sekretom yang poten pada tingkat respons yang berbeda. (Society, 2006).....	29
Gambar 3. Grafik Perubahan Panjang Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua.....	58
Gambar 4. Grafik Perubahan Lebar Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua.....	60
Gambar 5. Grafik Perubahan Luas Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua.....	61

## **DAFTAR TABEL**

Table 1. Data Responden Penelitian.....	54
Table 2 Karakteristik Demografi Responden Penelitian .....	55
Table 3. Perubahan Panjang Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua .....	57
Table 4. Perubahan Lebar Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua	59
Table 5. Perubahan Luas Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua.	61

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Morbus Hansen (Lepra, Kusta) adalah infeksi menahun yang disebabkan *Mycobacteria leprae* (*M.lepra*) primer yang merupakan parasit pada makrofag dan sel Schwann, selanjutnya dapat menyerang kulit dan organ lainnya. Penyakit ini dapat mengakibatkan kecacatan jika tidak segera ditatalaksana dan dapat menimbulkan masalah psikososial akibat stigma atau predikat buruk dalam pandangan masyarakat.(Kemenkes, 2012; World Health Organization, 2019)

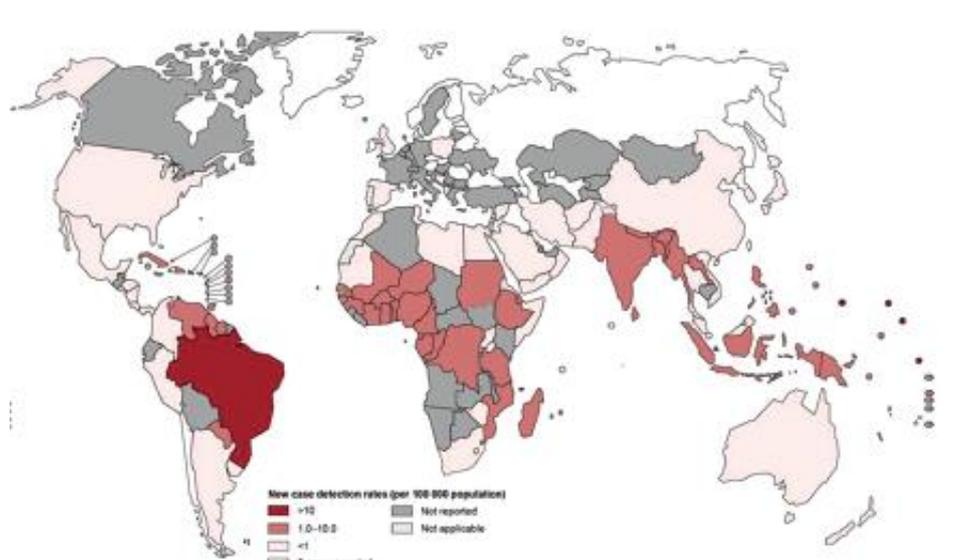
Sebanyak 176.176 pasien dari 138 negara, yang menjalani pengobatan untuk morbus hansen pada 31 Desember 2015, dilaporkan ke WHO (prevalensi terdaftar). Pada 2015, jumlah kasus morbus hansen yang baru didiagnosis adalah 210.758 di seluruh dunia. Sebagian besar angka tersebut tetap konstan selama dekade terakhir (sebagai perbandingan, ada 265.661 kasus pada 2006). Hal ini menunjukkan bahwa penularan morbus hansen tetap ada meskipun ada upaya dari WHO dan berbagai program kesehatan nasional. Meskipun tujuan ambisius - yang ditetapkan oleh WHO pada tahun 1991 - untuk menghilangkan morbus hansen pada tahun 2000 belum tercapai, keberhasilan langkah-langkah pengendalian WHO yang terkoordinasi telah menjadi terobosan dalam segala hal, terutama setelah pengenalan terapi multi-obat. Pada 1982, lebih dari 5,4 juta orang di seluruh dunia masih terkena morbus hansen. (WHO, 2016a; World Health Organization, 2019)

Saat ini, 95% dari semua kasus morbus hansen yang baru terdaftar dilaporkan dari 14 negara. Pada 2015, insiden tertinggi terlihat di India [127.326 kasus (60%)], Brasil [26.395 kasus (13%)], dan Indonesia [17.202 kasus (8%)], diikuti oleh Republik Demokratik Kongo, Ethiopia, Madagaskar, Mozambik, Nigeria, dan Tanzania di Afrika; Bangladesh, Myanmar, Nepal, dan Sri Lanka di Asia Tenggara; dan Filipina di wilayah Pasifik Barat. (WHO, 2016a; World Health Organization, 2019)

Negara Indonesia menyumbang sebanyak 16.826 dari 214.783 kasus baru di dunia yang terdeteksi pada tahun 2016, 1363 kasus disertai dengan disabilitas tingkat II dengan 62 diantaranya adalah anak-anak, dan 229 kasus relaps ditemukan dan saat ini Indonesia belum bisa dinyatakan bebas dari penyakit kusta. (“Global leprosy update, 2016: accelerating reduction of disease burden,” 2017; UNAIDS, 2016; WHO,

2016b) Terdapat 10 provinsi dengan high burden disease pada tahun 2017 berdasarkan New Case Detection Rate (NCDR), yaitu provinsi Sulawesi Utara, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Gorontalo, Sulawesi Barat, Maluku, Maluku Utara, Papua Barat, dan Papua. Terdapat 11 provinsi dengan high burden disease untuk pasien usia anak-anak, yaitu Bengkulu, Kepulauan Riau, Banten, Kalimantan Barat, Kalimantan Utara, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Maluku, Maluku Utara, Papua Barat, dan Papua. (Kemenkes RI, 2018a, 2018c)

Kalimantan sebagai salah satu pulau dengan angka high burden disease tertinggi khususnya pada populasi anak patut untuk di jadikan perhatian khusus lebih lanjut. Kalimantan sendiri terdiri dari 5 provinsi utama yaitu Kalimantan Utara, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Tengah serta Kalimantan Selatan. Angka penemuan kasus baru di Kalimantan terbilang cukup tinggi. Secara populasi umum atau tanpa memandang usia dapat dijabarkan bahwa angka NCDR pada tahun 2017 di provinsi Kalimantan Barat sebesar 1,24 %, Kalimantan Tengah sebesar 1,46%, Kalimantan Selatan sebesar 2,38%, Kalimantan Timur sebesar 4,28% dan Kalimantan Utara sebesar 7,52%. Tetapi angka tersebut melonjak naik bila hanya disoroti pada populasi anak yang tentu saja angka mengganggu produktivitas serta kualitas hidup di kemudian hari. Angka NCDR pada tahun 2017 pada populasi khusus yaitu anak pada masing-masing provinsi di Kalimantan adalah Kalimantan Barat sebesar 11,48 %, Kalimantan Tengah sebesar 5,26%, Kalimantan Selatan sebesar 3,06%, Kalimantan Timur sebesar 3,27% dan Kalimantan Utara sebesar 13,46%. (Kemenkes RI, 2018b)



**Gambar 1 Kasus-kasus morbus hansen yang baru didiagnosis di seluruh dunia<sup>7</sup>**

Pada April 2016, WHO menetapkan tiga tujuan utama di bawah moto “2016–2020 menuju dunia bebas morbus hansen”. Hal ini termasuk promosi langkah-langkah pemerintah untuk memerangi morbus hansen di tingkat nasional, tujuan diagnosis dini untuk mencegah cacat tingkat 2, dan masuknya individu-individu yang terkena dampak dalam kehidupan publik untuk mencegah diskriminasi. (WHO, 2016a; World Health Organization, 2019)

Luka kronis dapat didefinisikan sebagai luka yang telah gagal dalam tahapan proses penyembuhan luka yang teratur dan tepat waktu untuk menghasilkan integritas anatomi dan fungsionalnya dalam jangka waktu 3 bulan atau yang telah melalui proses perbaikan tanpa memperlihatkan hasil anatomis dan fungsional yang mendukung. Sebagian besar luka kronis dimulai sebagai cedera traumatis ringan namun dapat menyebabkan pembentukan luka yang sulit sembuh pada pasien dengan patologi yang mendasari, seperti contohnya neuropati yang diinduksi diabetes dan non-diabetes, termasuk pada pasien-pasien dengan penyakit Morbus Hansen yang kemudian disebut sebagai ulkus kronis. Meskipun semua luka yang dijelaskan sebelumnya memiliki faktor penyebab yang berbeda-beda, namun masing-masing luka ditandai dengan luka yang meradang kronis dan adanya kegagalan dalam penyembuhan. (Lazarus et al., 1994; Werdin, Tennenhaus, Schaller, & Rennekampff, 2009)

Luka kronis merupakan *silent epidemic* yang dapat mempengaruhi sebagian besar populasi dunia. Di negara maju diperkirakan 1 hingga 2% populasi akan mengalami luka kronis selama masa hidup mereka.(Gottrup, 2004) Namun saat ini belum terdapat data estimasi prevalensi dan insidensi total ulkus kronis di negara berkembang termasuk Indonesia. Pada penyakit Morbus Hansen sendiri, reaksi yang ditimbulkan terutama pada kasus yang berat dapat terjadi nekrosis pada kulit maupun ulserasi.(Hemanta KK, 2017) Luka yang diakibatkan oleh penyakit Morbus Hansen termasuk ke dalam ulkus kronis. Apabila tidak ditangani dengan baik, hal tersebut dapat menyebabkan deformitas dan disabilitas. Pada tahun 2018 menurut WHO, Indonesia masih menduduki peringkat ke-tiga dengan kasus Morbus Hansen terbanyak setelah India dan Brazil. Dengan kasus baru yang ditemukan sebanyak 17017 kasus dan 1118 kasus dengan kecacatan derajat dua di tahun 2018. (World Health Organization, 2019)

Keberhasilan pengobatan ulkus kronis tertentu membutuhkan pemahaman yang mendetail tentang komponen molekuler dan seluler yang ada. Terapi klasik untuk ulkus

kronis meliputi debridement, kontrol infeksi, dressing biologis, grafting, dan rekonstruksi flap. Meskipun terdapat banyak kemajuan terbaru dalam manajemen perawatan luka, sekitar 50% dari luka kronis masih gagal untuk disembuhkan. (Yolanda, 2014) Pengobatan konvensional luka kronis tampaknya tidak bekerja dalam beberapa kasus, membutuhkan banyak biaya dan waktu, sehingga perlu adanya pengembangan strategi dan inovasi yang berbeda.

Penelitian sebelumnya telah melaporkan kemampuan sel punca dalam regenerasi jaringan luka pada tikus dan gel CM untuk kasus luka kronis termasuk juga luka kronis MH yang sangat sulit disembuhkan. Oleh sebab itu peneliti ingin melanjutkan potensi penelitiannya dengan metode injeksi CM secara intrakutan pada sekitar lesi dengan dosis tertentu pada kasus ulkus kronis MH.

Seperti diketahui bahwa CM-MSc dari umbilical chord Warthon's Jelly (WJ) (Klopp, Gupta, Spaeth, Andreeff, & Marini, 2011; Seong et al., 2008) mengandung banyak faktor pertumbuhan, parakrin dan sitokin. (Arno et al., 2014; Bluestein & Javaheri, 2008; Xu et al., 2016) Faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi angiogenesis, imunomodulasi dan perekrutan sel-sel jaringan endogen atau sel progenitor, serta diferensiasi, dianggap sebagai mekanisme yang mungkin mendasari efek penyembuhan luka oleh MSC. (Khosrotehrani K, 2013)

Selain itu, MSC mengeluarkan sejumlah matriks protein dan sitokin yang dapat meningkatkan proliferasi dan mendukung vaskulogenesis. (Beckermann et al., 2008) Penelitian sebelumnya oleh Arno et al. (2014) menunjukkan bahwa ekspresi gen yang terlibat dalam re-epitelisasi (*transforming growth factor- $\beta$ 2*), neovaskularisasi (*hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$* ), dan fibroproliferasi (plasminogen aktivator inhibitor-1) diregulasi di WJ-MSc-CM fibroblast. Ini juga meningkatkan proliferasi dan migrasi normal fibroblast di kulit dan mempromosikan penyembuhan luka pada model *murine*. (Arno et al., 2014)

Dengan demikian diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi terbaru mengenai keberhasilan penggunaan terapi CM MSC secara intrakutan pada ulkus kronis khususnya pasien dengan Morbus Hansen.

## **1.2 Rumusan Masalah**

### **1.2.1 Pernyataan masalah**

Belum diketahuinya potensi injeksi CM MSC secara intrakutan pada ulkus tropik Morbus Hansen.

### **1.2.2 Pertanyaan masalah**

1. Berapakah rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen sebelum dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan?
2. Berapakah rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen setelah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan?
3. Apakah terdapat perubahan rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen yang bermakna antara sebelum dan sesudah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan umum**

Diketahuinya keberhasilan proses penyembuhan ulkus Morbus Hansen dengan menggunakan CM MSC dengan injeksi intrakutan ?

### **1.3.2 Tujuan khusus**

1. Diketahuinya rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen sebelum dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan
2. Diketahuinya rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen setelah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan
3. Diketahuinya perubahan rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen antara sebelum dan sesudah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### 1.4.1 Manfaat penelitian bagi masyarakat :

1. Masyarakat mendapatkan pengetahuan dan informasi mengenai salah satu terapi alternatif untuk mengobati ulkus kronis terutama pada pasien Morbus Hansen yaitu dengan penggunaan *Conditioned Medium Mesenchymal Stem Cell*
2. Mengurangi biaya yang dihabiskan pada pengobatan ulkus kronis
3. Penyembuhan ulkus kronis yang lebih cepat
4. Meminimalkan komplikasi
5. Menjadi dasar bagi peneliti selanjutnya untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai berbagai potensi *Conditioned Medium Mesenchymal Stem Cell* dalam manajemen luka kronis

### 1.4.2. Manfaat penelitian bagi rumah sakit :

1. Rumah sakit mendapatkan data mengenai hasil penelitian dan dapat dipakai sebagai pertimbangan untuk memberikan terapi alternatif bagi pasien ulkus kronis terutama pada pasien-pasien Morbus Hansen
2. Meningkatkan kualitas terapi untuk pasien dengan ulkus kronis
3. Mengurangi periode perawatan untuk kronis
4. Meningkatkan indeks terapeutik
5. Terapi inovasi bagi pasien
6. Mengurangi biaya yang dihabiskan untuk perawatan ulkus kronis

### 1.4.3. Manfaat penelitian bagi peneliti :

Mempelajari lebih mendalam mengenai pengobatan inovasi khususnya potensi *Conditioned Medium Mesenchymal Stem Cell* pada ulkus kronis terutama pada pasien dengan Morbus HanseN

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Penelusuran Literatur**

##### **2.1.1 Morbus Hansen**

###### **2.1.1.1 Definisi**

Morbus Hansen (Lepra, Kusta) adalah infeksi menahun yang disebabkan *Mycobacteria leprae* (*M.lepra*) primer yang merupakan parasit pada makrofag dan sel Schwann, selanjutnya dapat menyerang kulit dan organ lainnya. Penyakit ini dapat mengakibatkan kecacatan jika tidak segera ditatalaksana dan dapat menimbulkan masalah psikososial akibat stigma atau predikat buruk dalam pandangan masyarakat. (Kar & Gupta, 2015; Kemenkes, 2012)

Meskipun tidak fatal, morbus hansen adalah salah satu penyebab paling umum dari neuropati perifer nontraumatic di seluruh dunia. Penyakit ini sudah dikenal manusia sejak dahulu kala. Ditemukan oleh G. H. Armauer Hansen di Norwegia pada tahun 1873, menjadikannya bakteri pertama yang diidentifikasi sebagai penyebab penyakit pada manusia. (Cruz, Penna, Talhari, Bühner-Sékula, & Penna, 2017)

###### **2.1.1.2 Ulkus Trofik pada Morbus Hansen**

Pada penyakit Morbus Hansen sendiri, reaksi yang ditimbulkan terutama pada kasus yang berat dapat terjadi nekrosis pada kulit maupun ulserasi. Luka yang diakibatkan oleh penyakit Morbus Hansen termasuk ke dalam ulkus kronis atau ulkus tropik. Apabila tidak ditangani dengan baik, hal tersebut dapat menyebabkan deformitas dan disabilitas. (Moorthy BN, Kumar P, Chatura KR, Chandrasekhar HR, 2001)

Ulkus tropik muncul akibat gangguan sensorik, infeksi, gangguan saraf otonom, kalus, dan kelumpuhan otot.<sup>1</sup> Menurut WHO, ulkus ini sering ditemukan pada pasien kusta di area bagian depan telapak kaki (71-90%) dan menyebabkan disabilitas. (Alberts, Smith, Meima, Wang, & Richardus, 2011; Tang et al., 2015)

Ulkus tropikum terjadi akibat trauma kecil, paling sering daerah titik penekanan seperti plantar, tumit, jari kaki, disebabkan oleh defisiensi sensorik akibat cedera saraf tibialis posterior. (Maria et al., 2013; Sehgal, Prasad, Kaviarasan, & Rajan, 2014) Ulkus sering kronis karena trauma berulang dan tidak disengaja akibat aktivitas sehari-hari

yaitu berjalan dan melakukan pekerjaan. (Puri, Venkateshwaran, & Khare, 2012; Sehgal et al., 2014). Cara lain yang dapat menyebabkan ulkus adalah kuman Basili berinvansi langsung ke dinding pembuluh darah dan lapisan endotelium. Ulkus tropikum dapat terjadi pada seluruh jenis kusta.(Fernandes, Lopes, & Dos Santos, 2016)

Patogenesis ulkus plantar ada tiga tahap: (1) Tahap preulceratif dengan peradangan aseptik; (2) Tahap blister nekrotik. Daerah meradang mengalami nekrosis dan tampak seperti lepuh; (3) Tahap ulkus terbuka, kulit di atasnya melepuh terbuka dan tampak area nekrotik. (Riyaz & Sehgal, 2017)

Ulkus tropikum memiliki ciri khas yaitu pada bagian tepinya berbentuk melingkar dan permukaannya eritematosa, serta tidak nyeri, halus, anhidrosis, dasar berserat keras, ditutupi jaringan granulasi pucat yang tidak sehat, dan terdapat kalus sekitarnya karena tekanan berlebihan. (Puri et al., 2012; Riyaz & Sehgal, 2017)

Secara umum luka kronis dapat dikelompokkan menjadi 3 kategori utama: *leg ulcer/venous ulcer*, *diabetic foot ulcer*, dan *pressure ulcer* (PU). Ulkus pada pasien Morbus Hansen termasuk kedalam kategori ulkus trofik yaitu kelompok *pressure ulcer*.(Weridin et al., 2009)

Kamus Kedokteran Mosby 2009 mendefinisikan ulkus trofik sebagai '*pressure ulcer*' yang disebabkan oleh trauma eksternal pada bagian tubuh yang dalam kondisi buruk karena penyakit, insufisiensi vaskular atau hilangnya serabut saraf aferen. Terdapat 4 klasifikasi berikut dengan contoh dari ulkus trofik yaitu: ("Mosby's medical dictionary," 2010)

- 1) Neurogenik: Morbus Hansen, syringomyelia, *pressure ulcer* pada paraplegia, spina bifida, neuropati diabetikum, polineuropati alkoholik
- 2) Vaskular (arterial): *Poor arterial supply; peripheral vascular disease*, arteriosklerosis, mikroangiopati pada diabetes
- 3) Vaskular (venosa): Ulkus vena stasis
- 4) Penyebab sistemik atau malnutrisi: defisiensi vitamin B12, avitaminosis berat, ulkus karena deposit gout

Luka yang sering terjadi pada pasien-pasien Morbus Hansen adalah *Plantar Ulcer* atau ulkus plantaris. Ulkus pada kaki yang tidak peka terjadi karena luka-luka dari luar atau luka bakar, adanya retakan serta infeksi yang terabaikan pada kulit yang kering

dan keras (karena kehilangan keringat). Hal tersebut dapat terjadi karena kaki menjadi tumpuan berat badan. Saat berjalan, tekanan pada kaki yang tidak sensitif biasanya diatasi dengan kontraksi otot intrinsik yang mengangkat daerah sendi metatarsophalangeal (MTP) ke atas dan ke depan. Ketika saraf tibialis posterior terpengaruh, mekanisme ini tidak tersedia karena kelumpuhan otot-otot kecil. Selain itu, ada penurunan pada sendi MTP yang mengakibatkan peningkatan tekanan pada area terlokalisasi yang menyebabkan iskemia lokal, peradangan traumatis dan pemecahan lemak subkutan di bawah sendi MTP. Jika sensasi pada kaki normal, itu dikenal sebagai kelelahan dan orang cenderung beristirahat dengan memberikan waktu untuk sembuh; tetapi orang dengan kulit tidak sensitif tidak dapat menyadari situasinya dan terus menggunakan kaki yang menyebabkan kerusakan lebih lanjut pada jaringan. Area peradangan traumatis mengalami nekrosis dan likuifaksi yang menyebabkan pembentukan blister. Jika diabaikan, kulit yang menutupi lecet dapat pecah sehingga terbentuk bisul. Oleh karena itu, semua orang dengan kaki anestesi disarankan untuk menggunakan alas kaki yang empuk. (Hemanta KK, 2017)

Lokasi umum ulserasi pada telapak kaki adalah area penahan berat seperti kepala metatarsal di kaki depan, diikuti oleh tumit dan batas lateral. Pada pemeriksaan, ulkus dapat ditemukan adanya cairan bernanah atau kering dengan granulasi yang tidak sehat di dasar. Yang pertama perlu diobati dengan antibiotik sistemik dan / atau lokal, dan yang terakhir membutuhkan lebih banyak tindakan antiseptik lokal untuk meningkatkan penyembuhan. Pada pergerakan jari-jari kaki atau tekanan pada area ulkus, jika keluar serosanguineous, dapat dikatakan sebagai ulkus yang lebih dalam yang kemungkinan mempengaruhi ruang sendi. Ulkus plantar sejati juga disebut ulkus trofik karena tidak memiliki nutrisi yang tepat. Memiliki margin berlubang yang khas, yang menebal sebagai hasil dari respons perlindungan tubuh terhadap kenaikan berat badan lebih lanjut dan terus berjalan dengan kaki yang tidak nyeri. (Hemanta KK, 2017)

Ulkus bervariasi dalam ukuran, kedalaman, dan kerusakan pada struktur di bawahnya, yang selanjutnya diklasifikasikan ke dalam NPUAP / EPUAP (*National Pressure Ulcer Advisory Panel-European Pressure Ulcer Advisory Panel*): (Coleman et al., 2013; European Pressure Ulcer Advisory Panel and National Pressure Ulcer Advisory Panel, 2014)

(1) Erythema

Iskemia yang berkepanjangan akan menyebabkan sel darah dan kebocoran plasma ke ruang interstitial. Sehingga timbul erythema yang menetap yang tidak terlihat memucat dengan tekanan. Lesi mungkin terasa nyeri, hangat, terdapat nyeri tekan, biasanya di atas area yang dibatasi dengan tonjolan tulang.

(2) *Partial Thickness Skin Loss*

Bermanifestasi sebagai ulkus terbuka yang dangkal, berbasis eritematosa tanpa eksoriasi dan memar, mungkin juga merupakan blister utuh atau blister yang diisi serum pada blister yang terbuka / pecah.

(3) *Full Thickness Skin Loss*

Lemak subkutan mungkin terlihat tetapi tulang, tendon atau otot tidak terlihat. Lendir mungkin ada tetapi tidak mengaburkan kedalaman kehilangan jaringan. Kedalaman ulkus bervariasi berdasarkan lokasi anatomi. Jembatan hidung, telinga, oksiput dan malleolus tidak memiliki jaringan subkutan dan luka dapat dangkal. Sebaliknya, area yang banyak mengandung adiposit dapat berkembang sangat dalam. Tulang / tendon tidak terlihat atau langsung teraba.

(4) *Full Thickness Tissue Loss*

Kehilangan jaringan dengan ketebalan penuh dengan tulang, tendon atau otot yang terbuka. Lendir atau eschar mungkin ada pada beberapa bagian dasar luka. Sering kali termasuk terowongan dan dapat meluas ke otot dan / atau struktur pendukung (mis., Fascia, tendon atau kapsul sendi) memungkinkan terjadinya osteomielitis. Tulang / tendon yang terpapar dapat terlihat atau langsung teraba.

(5) *Unstageable*

Kehilangan jaringan dengan ketebalan penuh di mana pangkal ulkus ditutupi oleh lendir (kuning, tan, abu-abu, hijau atau coklat) dan / atau eschar (tan, coklat atau hitam) di dasar luka. Pada kategori ini tidak dapat di tentukan

sampai lendir dapat dikeluarkan dan dibersihkan untuk mengekspos pangkal luka dan kedalaman yang sebenarnya. Eschar yang stabil (kering, utuh tanpa eritema atau fluktuasi) pada tumit berfungsi sebagai pembalut biologis dan karenanya tidak boleh dihilangkan.

### 2.1.1.3 Proses Penyembuhan Luka

Cedera pada kulit akibat penyakit ataupun karena kecelakaan, terutama yang menyebabkan luka kronis yang tidak kunjung sembuh, menyebabkan masalah kesehatan yang serius. Pendekatan perawatan luka yang utama adalah mengendalikan penyebab yang mendasarinya, seperti infeksi dan iskemia, sementara penerapan *wound dressing* bertujuan untuk memodifikasi lingkungan penyembuhan luka yang buruk menjadi lingkungan mikro yang lebih mirip luka akut sehingga memungkinkan tubuh untuk menyembuhkan luka secara alami. (Turner & Badylak, 2015) Proses penyembuhan luka dapat dibagi menjadi tiga fase (1) fase inflamasi; (2) fase proliferasi; dan (3) fase maturasi.

#### (1) Fase Inflamasi (Sinno & Prakash, 2013)

Fase inflamasi adalah fase penyembuhan luka paling awal dan ditandai oleh hemostasis dan inflamasi. Hemostasis dimulai selama paparan kolagen pada saat pembentukan luka yang mengaktifkan kaskade pembekuan intrinsik dan ekstrinsik. Selain itu, cedera pada jaringan menyebabkan pelepasan tromboksan A<sub>2</sub> dan prostaglandin 2-alfa ke dasar luka yang menyebabkan vasokonstriksi kuat. Setelah itu, ekstrasvasasi konstituen darah menyediakan pembentukan bekuan darah yang memperkuat sumbat hemostatik. Respons ini membatasi perdarahan dan memberikan matriks ekstraseluler inisial untuk migrasi sel.

Trombosit adalah salah satu sel respons pertama yang memainkan peran penting dalam pembentukan sumbat hemostatik. Mereka mengeluarkan beberapa kemokin seperti *epidermal growth factor* (EGF), fibronektin, fibrinogen, histamin, *platelet derived growth factor* (PDGF), serotonin, dan faktor von Willebrand. Faktor-faktor ini membantu menstabilkan luka melalui pembentukan gumpalan dan juga menarik dan mengaktifkan makrofag dan fibroblas. Mereka juga bertindak untuk mengontrol perdarahan dan membatasi

tingkat cedera. Degranulasi trombosit mengaktifkan kaskade komplemen, khususnya C5, protein kemotaksis neutrofil yang poten. Mediator dan kemokin vasoaktif dilepaskan oleh kaskade koagulasi yang diaktifkan, jalur komplemen, dan sel parenkim yang memainkan peran kunci dalam rekrutmen leukosit inflamasi ke kulit yang terluka.

Setelah hemostasis tercapai, vasodilatasi kapiler dan kebocoran tersebut secara sekunder mengakibatkan pelepasan histamin lokal oleh kaskade komplemen yang diaktifkan. Peningkatan aliran darah dan permeabilitas vaskular yang berubah memungkinkan migrasi sel-sel inflamasi ke dasar luka. Kehadiran organisme asing lebih lanjut merangsang aktivasi jalur komplemen alternatif. Aktivasi C3 komplemen menghasilkan kaskade pembelahan protein non-enzimatik dan interaksi yang pada akhirnya merangsang sel-sel inflamasi dan lisis bakteri.

Sel respons kedua yang bermigrasi ke luka setelah aktivasi komplemen dan rekrutmen trombosit adalah neutrofil. Ini bertanggung jawab untuk pembersihan puing-puing, pelengkap opsonisasi yang dimediasi dan lisis organisme asing, dan penghancuran bakteri melalui mekanisme ledakan oksidatif (mis., Pembentukan superoksida dan hidrogen peroksida). Neutrofil membunuh bakteri dan mendekontaminasi luka dari puing-puing asing. Limbah ini kemudian difagositosis oleh makrofag. Makrofag adalah sel fagositik penting yang berperan penting dalam penyembuhan luka. Mereka terbentuk dari monosit yang distimulasi oleh fragmen protein matriks ekstraseluler, mengubah faktor pertumbuhan  $\beta$ , dan protein kemoatraktan monosit 1. Selain fagositosis bakteri dan bahan asing, makrofag mengeluarkan banyak enzim dan sitokin; kolagenase, untuk mendegradasi kolagen; interleukin dan *tumor necrosis factor* (TNF), yang merangsang fibroblas dan meningkatkan angiogenesis; dan *transforming-growth factor* (TGF), yang merangsang keratinosit. Makrofag juga mengeluarkan *platelet derived growth factor* dan *vascular endothelial growth factor* yang memulai pembentukan jaringan granulasi dan dengan demikian memulai transisi ke fase proliferasi dan regenerasi jaringan.

## (2) Fase Proliferasi

Fase proliferasi ditandai oleh epitelisasi, angiogenesis, pembentukan jaringan granulasi, dan deposisi kolagen. Epitelisasi terjadi dalam beberapa jam setelah cedera dalam perbaikan luka. Dengan membran basal yang utuh, sel-sel epitel bermigrasi ke atas dalam pola normal seperti yang terjadi pada luka bakar kulit tingkat pertama di mana sel-sel progenitor epitel tetap utuh di bawah luka dan lapisan epidermis normal dipulihkan dalam 2-3 hari. Jika membran sel dibagian bawah rusak, mirip dengan luka bakar yang lebih dalam, maka sel-sel epidermis normal dari adneksa (mis., Folikel rambut, kelenjar keringat) dan pinggiran luka kembali membuat re-epitelisasi.

Neovaskularisasi diperlukan untuk memberikan nutrisi ke luka dan membantu menjaga jaringan granulasi. Angiogenesis telah dikaitkan dengan banyak molekul termasuk faktor pertumbuhan fibroblast, *vascular endothelial growth factor*, *transforming growth factor  $\beta$* , angiogenin, angiotropin, angiopoietin 1, *tumor necrosis factor alpha*, dan trombospondin. Dalam skenario klinis yang berbeda seperti diabetes dan penyakit pembuluh darah, pasokan nutrisi kritis oleh kapiler tidak cukup untuk mempertahankan deposisi jaringan dalam fase granulasi dan dengan demikian menghasilkan luka yang tidak sembuh secara kronis.

Fase proliferasi berakhir dengan pembentukan jaringan granulasi. Stroma baru ini mulai memasuki ruang luka kurang lebih empat hari setelah cedera. Pembuluh darah baru pada saat ini memfasilitasi titik masuk ke dalam luka pada sel-sel seperti makrofag dan fibroblas. Makrofag terus memasok faktor pertumbuhan yang merangsang angiogenesis dan fibroplasia lebih lanjut. *Platelet derived growth factor* yang disekresikan dan *transforming growth factor  $\beta$*  bersama dengan molekul matriks ekstraseluler merangsang diferensiasi fibroblas untuk menghasilkan bahan dasar dan kemudian kolagen. Fibroblast adalah kunci dalam sintesis, deposisi, dan renovasi matriks ekstraseluler yang memberikan kekuatan dan substansi pada luka.

## (3) Fase Maturasi

Fase terakhir dari penyembuhan luka adalah fase maturasi. Ini ditandai dengan transisi dari jaringan granulasi ke pembentukan bekas luka. Hampir dua minggu setelah cedera, luka mengalami kontraksi, yang akhirnya menghasilkan jaringan parut yang lebih sedikit. Deposisi kolagen oleh fibroblas berlanjut untuk periode yang lama dengan peningkatan deposisi kolagen yang dicapai setelah tiga minggu dari cedera jaringan. Seluruh proses berkelanjutan secara dinamis yang ditentukan oleh banyak faktor pertumbuhan dan sel dengan tumpang tindih masing-masing dari tiga fase penyembuhan luka untuk memberikan renovasi terus menerus. Luka manusia diperkirakan mencapai kekuatan maksimalnya dalam satu tahun, dengan kekuatan tarik maksimal yaitu 70% dari kulit normal.

### 2.1.2 Ulkus Kronis

Luka kronis didefinisikan sebagai luka yang gagal pada rangkaian urutan proses penyembuhan yang berakhir dengan penutupan luka dan tidak tepat waktu; luka kronis umumnya tetap terbuka selama lebih dari 3 bulan. (McDaniel & Browning, 2014) Faktor predisposisi dapat dibagi menjadi intrinsik; seperti keterbatasan dalam mobilitas, gizi buruk, komorbiditas, penuaan, serta faktor ekstrinsik; seperti tekanan, gesekan, geser, infeksi, dan kelembaban. (Bluestein & Javaheri, 2008) Meskipun terdapat perbedaan etiologi pada tingkat molekuler, luka kronis memiliki ciri-ciri umum tertentu, termasuk kadar sitokin pro-inflamasi yang berlebihan, protease, ROS (*Reactive Oxygen Species*), dan penuaan sel, serta adanya infeksi yang persisten, dan defisiensi sel induk yang sering juga disfungsi. (Frykberg & Banks, 2015)

Karena cedera jaringan yang berulang, mikroorganisme dan *platelet derived factor*, seperti *transforming growth factor-β* (TGF-β) atau molekul fragmen ECM, merangsang masuknya sel-sel imun secara konstan; karena itu kaskade sitokin pro-inflamasi menjadi diperkuat dan bertahan untuk waktu yang lama, yang mengarah ke peningkatan kadar protease. Pada luka akut, protease diatur dengan ketat oleh inhibitornya. Pada luka kronis, tingkat protease melebihi inhibitornya masing-masing, yang mengarah pada penghancuran ECM dan degradasi faktor pertumbuhan dan reseptornya. Penghancuran proteolitik ECM tidak hanya mencegah luka bergerak maju ke fase proliferasi tetapi juga menarik lebih banyak sel-sel inflamasi, sehingga memperkuat siklus inflamasi. Pada luka kronis, lingkungan hipoksia dan inflamasi yang

dominan meningkatkan produksi ROS, yang merusak protein ECM dan menyebabkan kerusakan sel. Urutan peristiwa ini mengarah pada stimulasi yang ditingkatkan dari protease dan sitokin inflamasi. Pada model hewan penggunaan antioksidan mengurangi ROS ke tingkat normal dan meningkatkan penyembuhan. (Frykberg & Banks, 2015)

Selain itu, luka kronis dicirikan oleh populasi penuaan sel (*senescent*) dengan gangguan kapasitas proliferasi dan sekretori, menjadikannya tidak responsif terhadap sinyal penyembuhan luka yang khas. Telah dilaporkan bahwa fibroblast dari ulkus vena dan *pressure ulcer* adalah tua dan memiliki kemampuan yang menurun untuk berkembang biak. Kapasitas proliferasi yang berkurang ini berkorelasi langsung dengan kegagalan luka untuk sembuh. Akumulasi data juga menunjukkan bahwa luka kronis mengandung keratinosit, sel endotel, fibroblas, dan makrofag *senescent*. Fenotipe sel *senescent* pada luka kronis dikaitkan dengan stres oksidatif yang mengarah pada penghentian siklus sel terkait kerusakan DNA atau perubahan metabolisme abnormal pada pasien diabetes. (Frykberg & Banks, 2015)

Kelainan fenotipik sel-sel yang diturunkan oleh epidermis dan dermis yang berada dalam luka kronis termasuk kepadatan yang lebih rendah dari reseptor faktor pertumbuhan dan potensi mitogenik yang lebih rendah mencegah mereka merespon dengan baik terhadap isyarat lingkungan. Abnormalitas seluler ini menghalangi pembentukan jaringan granulasi dan deposisi ECM, yang mengarah pada pembentukan luka yang tidak dapat disembuhkan. (Demidova-Rice, Hamblin, & Herman, 2012) Keratinosit yang berasal dari ulkus kronis juga telah dilaporkan memiliki fenotip “terkait luka kronis”. Mengekspresikan penanda proliferasi Ki67, sel-sel ini meningkatkan ekspresi beberapa gen yang berhubungan dengan siklus sel, seperti CDC2 dan cyclin B1, menunjukkan status hiperproliferatif. Namun, keratinosit yang diturunkan dari luka kronis ini menunjukkan gangguan potensi migrasi. Mekanisme penurunan nilai ini tidak sepenuhnya dipahami tetapi telah dikaitkan dengan penurunan produksi laminin 332 (sebelumnya dikenal sebagai laminin 5), yang merupakan komponen ECM epitel penting dan substrat untuk migrasi keratinosit yang diinduksi cedera. Selain itu, sel-sel ini memiliki peningkatan aktivasi jalur A-catenin / c-myc46 dan tidak mengekspresikan penanda diferensiasi, terutama keratin 10 dan keratin 2. (Demidova-Rice et al., 2012)

Beberapa gen yang mengkode berbagai faktor pertumbuhan diatur turun atau naik; misalnya, ekspresi VEGF, epiregulin, dan TGF- $\beta$ 2 mengalami penurunan, sedangkan PDGF dan *platelet-derived endothelial growth factor encoding genes* di tingkatkan. Penurunan produksi faktor pertumbuhan secara langsung mengkonfirmasi keadaan keratinosit yang berada di dalam luka kronis dan ketidakmampuan untuk berpartisipasi penuh dalam proses perbaikan, sementara *up-regulation* gen faktor pertumbuhan utama memungkinkan kapasitas proliferasi berkelanjutan, menunjukkan bahwa ini bisa menjadi "titik masuk" untuk intervensi terapeutik. Stimulus mitogenik bersama dengan aktivator diferensiasi keratinosit, seperti hiperforin yang baru-baru ini dijelaskan, mungkin dapat menginduksi perubahan fenotipik dan mengubah keratinosit pada luka kronis menjadi sel kompeten yang diperlukan untuk epitelisasi. Demikian pula, teknik transduksi modern dapat digunakan untuk meningkatkan daya tanggap faktor pertumbuhan sel yang berada dalam luka kronis dengan meningkatkan kepadatan reseptor faktor pertumbuhan. (Demidova-Rice et al., 2012)

Informasi tentang perbedaan komposisi kimia ECM yang ditemukan pada luka kronis dan akut hanya sedikit dan kontroversial. Diketahui, bahwa pengendapan sejumlah komponen matriks berbeda secara kronis dibandingkan dengan luka akut. Sebagai contoh, luka kronis dicirikan oleh ekspresi fibronectin, kondroitin sulfat, dan tenascin yang berkepanjangan atau insufisien sehingga meningkatkan proliferasi dan migrasi seluler. Baru-baru ini, berkurangnya produksi laminin 332, suatu komponen membran basement yang berfungsi sebagai substrat haptotaktik untuk motilitas keratinosit pasca cedera ditemukan menjadi salah satu alasan gangguan reepitelisasi dan penyembuhan luka. (Demidova-Rice et al., 2012)

Perubahan ECM, termasuk pada modifikasi posttranslasiional komponen struktural utama, juga dapat secara negatif mempengaruhi respon seluler terhadap cedera. Misalnya, glikasi matriks sering terlihat pada pasien diabetes dan cenderung terkait dengan selulosis dini, apoptosis, penghambatan proliferasi sel, migrasi, dan pembentukan sprout angiogenik. Glikasi menambah ketidakstabilan matriks dan mengganggu perakitan matriks dan interaksi antara kolagen dan mitra pengikatannya, termasuk heparan sulfateproteoglycans. Glukosa yang tinggi juga terbukti merangsang produksi MMP oleh fibroblas, makrofag, dan sel endotel, sehingga berkontribusi pada siklus degradasi matriks yang merugikan kelangsungan hidup sel dan penyembuhan

luka. Ketidakstabilan matriks yang terjadi karena glikasi dan *cross-linking* antar molekul yang tidak memadai terlihat pada kondisi hipoksia dan degradasi matriks berlebihan oleh MMP juga merusak proses penyembuhan. Ketidakstabilan matriks mencegah interaksi sel-matriks normal yang diperlukan untuk kelangsungan hidup dan fungsi sel dan terutama pada perbaikan cedera. (Demidova-Rice et al., 2012)

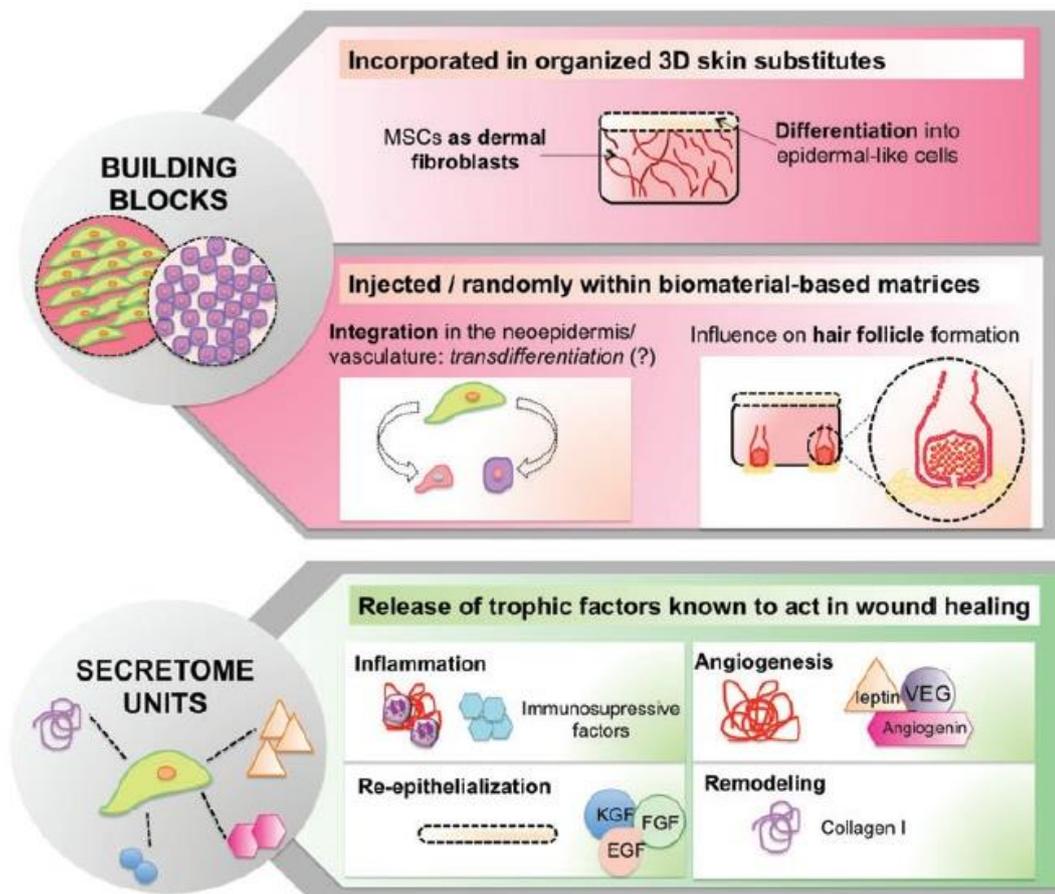
### **2.1.3 Managemen Ulkus Kronis**

Langkah-langkah pencegahan termasuk identifikasi orang yang berisiko dan menerapkan strategi khusus seperti reposisi pasien yang terbaring di tempat tidur, aplikasi salep untuk mengurangi tekanan dengan meningkatkan luas permukaan, dan asupan nutrisi.(Bluestein & Javaheri, 2008) Ketika ulkus terjadi, ukuran, lokasi, dan penilaian sekunder (eschar, granulasi, bau, eksudat, saluran sinus, dan infeksi) harus didokumentasikan dengan baik. Penatalaksanaan konservatif meliputi persiapan *wound bed*, debridemen, pengendalian infeksi dan pembalut yang lembab untuk penyembuhan luka. Debridemen bedah diindikasikan untuk mencapai tujuan pengangkatan jaringan nekrotik dalam jumlah besar. (González Sarasúa et al., 2011; Society, 2006) Antibiotik topikal dapat diresepkan jika tidak ada perbaikan dalam 14 hari, sedangkan antibiotik sistemik dapat diberikan pada selulitis, osteomielitis, atau infeksi sistemik. (Bluestein & Javaheri, 2008) Penutupan luka diklasifikasikan berdasarkan keparahan ulkus, di mana derajat I dan II dapat dikontrol secara konservatif, seperti yang dijelaskan di atas. Derajat III dan IV adalah indikasi untuk debridemen bedah, dan seringkali membutuhkan *fasciocutaneous* atau *miocutaneous flap*.(González Sarasúa et al., 2011)

### **2.1.4 Terapi Stem Cell**

Terlepas dari kemajuan terbaru dalam manajemen luka, hingga 50% luka kronis masih gagal sembuh.(Yolanda, 2014) Perawatan konvensional untuk luka kronis sepertinya tidak berhasil dalam beberapa kasus, menghabiskan banyak uang dan waktu, sehingga perlu untuk mengembangkan strategi yang berbeda. Terapi stem sel merupakan alternatif baru untuk metode penyembuhan luka, mengikuti tren mekanisme penyembuhan luka. Oleh karena itu, para peneliti mengandalkan terapi stem sel yang memiliki potensi besar karena faktor pertumbuhannya. (Bluestein & Javaheri, 2008) Gambar 1 menunjukkan gambar skematik di mana sel-sel induk sebagai terapi

penyembuhan luka pada kulit yang manjur dan sebagai unit sekretom yang poten pada tingkat respons yang berbeda. (Society, 2006)



*Gambar 2 Perspektif skematis sel induk dalam penyembuhan luka kulit dan sebagai unit sekretom yang poten pada tingkat respons yang berbeda. (Society, 2006)*

Stem sel umumnya didefinisikan sebagai sel yang tidak berdiferensiasi yang mampu regenerasi sendiri melalui replikasi menjadi sel yang lebih spesifik. (Pawitan, 2014) Tidak hanya spesifik tetapi juga bertindak sebagai sel induk, yang disebut progenitor atau prekursor. Meskipun tidak mampu untuk memperbarui diri, sel-sel ini dapat mengalami diferensiasi lebih lanjut. Sel totipoten adalah sel yang berpotensi untuk menjadi sel apapun dalam tubuh, termasuk plasenta dan ekstra-embriionik. Sel-sel ini masuk dalam 8 tahap perkembangan zigot. Di sisi lain, sel-sel pluripotent dapat diisolasi membentuk masa blastokista sel bagian dalam, di mana ia bisa berupa semua jenis sel kecuali plasenta dan ekstra-embriionik. Sel multipoten dapat membentuk

sejumlah kecil sel yang terbatas pada lapisan germinal, seperti yang ditemukan pada janin yang sedang berkembang. Sementara sel unipoten akan berkembang menjadi sel dewasa dengan tipe tertentu. (Li et al., 2015)

Sampai saat ini, meningkatnya minat telah ditunjukkan pada sel punca mesenchymal (MSC), untuk karakteristik multipotennya. Beberapa penelitian telah menunjukkan sel induk yang berasal dari *bone marrow* (BM-SC) memiliki karakteristik ini, dan dapat berkembang dari jalur lapisan germinal menjadi adiposa, kondrosit, dan osteosit padat. (Singh et al., 2010) BM-SC mengandung Faktor Pertumbuhan Endotel Vaskular (VEGF) atau *Fibroblast Growth Factor* (FGF) yang diperlukan untuk penyembuhan luka. (Utomo, Dewi, & Abdurrasyid, 2014) VEGF sangat penting untuk mempertahankan jaringan hipoksia. (Yolanda, 2014) Laporan kasus dari Sarasua et al yang menerapkan BM-SC dalam *pressure ulcer* stadium IV, berhasil mencapai penutupannya 18 hari setelah injeksi. (González Sarasúa et al., 2011)

Selain sel punca sumsum tulang, sel punca dari jaringan adiposa (*Adipose Tissue MSC*, ATMSC) juga banyak digunakan, terutama di bidang estetika. Li et al membandingkan bahwa tingkat SDF-1 secara signifikan lebih tinggi pada BM-MSC daripada ATMSC, oleh karena itu dosis terapi BM-MSC lebih rendah dari ATMSC. ATMSC memiliki keunggulan biologis dengan kemampuan proliferasi, protein sekresi (bFGF, IFN $\gamma$ , IGF-1), dan efek imunomodulator, tetapi BM MSC memiliki keunggulan sekresi protein osteogenik dan kondrogenik (SDF-1 dan HGF). (Li et al., 2015)

Namun demikian, kelemahan BMSC dan ASC (*Adipose Stem Cell*) adalah prosedur invasifnya, dan terbatasnya jumlah sel punca yang terletak di sumsum tulang, karena seperti diketahui, sel punca berkurang dengan usia donor. (Ojeh, Pastar, Tomic-Canic, & Stojadinovic, 2015) Sampai sekarang, berbagai jaringan janin trimester pertama termasuk sumsum tulang, darah, hati, limpa, dan ginjal telah dipelajari secara luas, tetapi tidak menunjukkan hasil yang menjanjikan dan saat ini, penelitian yang muncul berfokus pada sel-sel induk mesenkim dari plasenta. (Nazarov et al., 2012; Xu et al., 2016)

Igor Nazarov et al memeriksa sel induk dari sel chorionic (hCMSCs), tidak menemukan gonadotropin dalam medium yang dikondisikan hCMSC. Faktor pertumbuhan seperti HGF, FGF-, KGF, dan ANG-1 dalam medium terkondisi hCMSC ditemukan dalam konsentrasi yang lebih tinggi daripada sel induk, BM-MSC setelah 5-

7 hari kultur. (Nazarov et al., 2012) Aplikasi potensial *stem cell* diperluas secara signifikan ketika terbukti bahwa stem sel meregulasi respon imun. MSC terbukti menghambat proliferasi sel T, menurunkan respons sel T, dan menghambat pematangan sel dendritik, serta mengubah makrofag M1 (peradangan) menjadi M2 (anti-inflamasi). (Liang, Ding, Zhang, Tse, & Lian, 2014) Hal ini bermakna dalam aplikasi cangkok, yang dapat mengurangi reaksi graft vs inang. (Nazarov et al., 2012) Dong et al menemukan bahwa sumbu SDF-1 / CXCR4 memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel jantung, di mana adanya ekspresi reseptor CXCR4 yang rendah maka terdapat apoptosis sel jantung yang lebih tinggi. (Liang et al., 2014)

### **2.1.5 Mekanisme Parakrin Dalam Media Terkondisi Sel Induk**

Sitokin, yang memainkan peran penting untuk komunikasi molekuler, 38,1% dan 31,8% dari sekresi protein total dalam ASC-CM (*Adipose Stem Cell Conditioned Medium*) dan PSC-CM (*Plasental Stem Cell Conditioned Medium*). (Xu et al., 2016) Dalam keadaan hipoksia, faktor yang diinduksi hipoksia 1 (HIF-1) membutuhkan angiogenesis. Gneccchi et al membuktikan bahwa dalam keadaan hipoksia, MSC akan melepaskan faktor parakrin, dan mengaktifkan Akt dan protoonkogen (CMET, reseptor HGF). Ini membuktikan bahwa sebelum kultur, MSC harus diobati dengan trauma fisiologis, dengan penambahan sitokin seperti IL-1 $\beta$  dan TGF  $\beta$ . HIF-1 mengatur ekspresi gen seperti enzim glikolitik (membentuk ATP), dan pro-angiogenetik (VEGF, FGF, dan NO), dan IGF untuk kelangsungan hidup sel. (Liang et al., 2014) Sel induk juga mengeluarkan sitokin pro dan anti-inflamasi. Aktivitas sel T, sel NK dan makrofag harus dihambat untuk mempertahankan jaringan yang baru terbentuk. Sitokin terdiri dari TGF- $\beta$ 1, dan beberapa (IL), yaitu IL-6, IL-10, IL-27, IL-17E, IL-13, IL-12p70 dan antagonis reseptor IL-1 (IL-1ra). Selain itu, sitokin proinflamasi yaitu IL-8 / CXCL-8, IL-9 dan IL-1b juga dikeluarkan. (Pawitan, 2014)

Studi sebelumnya melaporkan bahwa faktor pertumbuhan dapat diproduksi dalam berbagai jenis di setiap media terkondisi yang diperlakukan berbeda. Chang et al memeriksa monolayer BM-MSc dicadangkan 24 jam dengan jumlah  $4 \times 10^6$  sel / Kons. 25x, ditemukan berbagai tingkat VEGF dalam normoksia: 230 pg / mL, hipoksia: 450 pg / ml, dan kadar HGF normoksia: 600 pg / ml, dan hipoksia: 750 pg / mL. (Chang

et al., 2013; Li et al., 2015) Xu et al membandingkan komposisi ASC-CM dan PSC-CM, yang 52,4% dari total protein ASC-CM adalah faktor pertumbuhan, sedangkan PSC-CM sebesar 54,5%. Protein spesifik teridentifikasi pada PSC-CM termasuk faktor pertumbuhan fibroblast dasar (FGF-2), faktor pertumbuhan fibroblast 7 (FGF-7), angiopoietin-1 (ANGP-1), faktor pertumbuhan plasenta (PGF), *platelet derived growth factor* (PDGF), metalloproteinase-1 (MMP-1), dan metalloproteinase-9 (MMP-9). Sementara di ASC-CM, faktor pertumbuhan fibroblast asam (FGF-1), G-CSF, CM-CSF, faktor turunan epitel pigmen (PEDF), inhibitor metalloproteinase 1 (TIMP-1), inhibitor aktivator plasminogen (PAI), *connective tissue growth factor* (CTGF) teramati. (Xu et al., 2016)

Penyembuhan luka tidak akan dimulai tanpa migrasi sel induk ke cedera jaringan, yang menurut Kitaori et al, sumbu SDF1 / CXCR4 adalah mekanisme yang mendasari dalam cangkang tulang periosteum untuk perbaikan endokondral. (Liang et al., 2014)

### **2.1.6 Sekretom dan Media Terkondisi dari MSC**

*Secretome* didefinisikan sebagai sekumpulan faktor / molekul yang disekresikan ke ruang ekstraseluler. Faktor-faktor ini termasuk, antara lain, protein larut, asam nukleat bebas, lipid dan vesikel ekstraseluler. Kemudian dapat dibagi lagi menjadi bagian apoptosis, mikropartikel dan eksosom. Sekretom pada sel dan jaringan individu adalah spesifik, dan mengalami perubahan sebagai respons terhadap fluktuasi keadaan fisiologis atau kondisi patologis. (Vizoso, Eiro, Cid, Schneider, & Perez-Fernandez, 2017)

Penggunaan terapi bebas sel seperti *MSC-source secretome* dalam ilmu kedokteran regeneratif memberikan keuntungan utama dibandingkan aplikasi berbasis sel induk: (a) penerapan secretome ini menyelesaikan beberapa pertimbangan keamanan yang berpotensi terkait dengan transplantasi populasi sel-sel hidup dan proliferasi termasuk kompatibilitas imun, tumorigenitas, pembentukan emboli dan penularan infeksi; (B) sekretor bersumber MSC dapat dievaluasi untuk keamanan, dosis dan potensi dengan cara analog dengan agen farmasi konvensional; (c) penyimpanan dapat dilakukan tanpa aplikasi agen *cryopreservative* yang berpotensi toksik untuk jangka waktu yang lama tanpa kehilangan potensi produk; (d) menggunakan secretome yang

bersumber dari MSC, seperti medium terkondisi (CM), lebih ekonomis dan lebih praktis untuk aplikasi klinis karena ia menghindari prosedur pengumpulan sel invasif: (e) produksi massal dimungkinkan melalui garis sel yang dibuat khusus di bawah kondisi laboratorium yang terkontrol, menyediakan sumber faktor bioaktif yang nyaman; (f) waktu dan biaya ekspansi dan pemeliharaan sel punca yang dikultur dapat sangat dikurangi dan terapi sekretori yang tersedia dapat segera tersedia untuk pengobatan kondisi akut seperti iskemia serebral, infark miokard, atau trauma militer; dan (g) akhirnya, produk biologis yang diperoleh untuk aplikasi terapeutik dapat dimodifikasi menjadi efek spesifik sel yang diinginkan. (Vizoso et al., 2017)

CM mewakili lingkungan regeneratif yang lengkap dari sumber sel sekretom dan elemen vesikuler. Komponen yang larut dari sekretom dapat dipisahkan dari fraksi mikrovesikel dengan sentrifugasi, filtrasi, metodologi berbasis presipitasi polimer, kromatografi penukar ion dan kromatografi eksklusi ukuran. Kedua komponen ini mungkin mampu memicu regenerasi dan perbaikan secara independen serta memediasi organogenesis *de novo* dari organ yang direayasa jaringan *ex vivo*. (Vizoso et al., 2017)

### **2.1.7 Mekanisme Sekretom MSC dan Aplikasinya**

#### *Aktivitas Imunomodulasi dan Anti-inflamasi*

MSC mempengaruhi proliferasi, aktivasi dan fungsi sel-sel kekebalan tubuh. Studi pra-klinis pada model hewan telah menunjukkan efek supresif pada kekebalan bawaan dan adaptif. Selain itu, ada pengalaman klinis yang luas pada MSC berdasarkan studi klinis intervensi. Aplikasi potensial yang paling menjanjikan melibatkan pengobatan penyakit dengan graft versus host, serta penyakit autoimun dan inflamasi, seperti systemic lupus erythematosus (SLE), diabetes mellitus tipe I, multiple sclerosis atau penyakit Crohn. Menariknya, MSC biasanya mengekspresikan kompleks histokompatibilitas utama (MHC-I) tetapi tidak memiliki ekspresi MHC-II, CD40, CD80, dan CD86 pada permukaan sel, dan dengan demikian mereka lolos dari pengenalan sel T dan sering gagal menginduksi respon imun oleh transplantasi penjamu. Telah banyak ditunjukkan bahwa MSCs mampu mempengaruhi aktivasi dan proliferasi semua tipe sel imun. Di Nicola et al. menemukan bahwa MSC menghambat

proliferasi sel T CD4 + dan CD8 +. Selain itu, MSC bertindak dalam tiga tahap utama respon imun: pengenalan dan presentasi antigen; Aktivasi, proliferasi, dan diferensiasi sel T; dan tahap efektor sel-T. (Vizoso et al., 2017)

Sudah diketahui bahwa efek anti-inflamasi MSC-CM setidaknya sebagian dimediasi oleh molekul imunoregulatori terlarut. Di antara sitokin anti-inflamasi yang terdapat dalam MSC-CM adalah faktor nekrosis tumor-1 (TGF-1), interleukin (IL) 13, protein pengikat IL18 (IL18BP), faktor neurotropik silia (CNTF), neurotropin 3 (NT-3) faktor, IL10 , IL12p70, IL17E, IL27 atau IL1 receptor antagonist (IL1RA). MSC-CM juga ditemukan mengandung sitokin proinflamasi, seperti IL1b, IL6, IL8 dan IL9. Keseimbangan antara sitokin antiinflamasi dan proinflamasi ini dapat menentukan efek akhir. Namun demikian, juga luar biasa bahwa MSC menghambat sitokin proinflamasi, seperti interferon (IFN) dan tumor necrosis factor (TNF), sambil meningkatkan pelepasan IL10 antiinflamasi. (Vizoso et al., 2017)

#### *Aktivitas Anti-Apoptosis*

MSC mencegah kematian sel melalui pemulihan lingkungan mikro lokal dengan memproduksi protein penghambat apoptosis dan dengan mengurangi ekspresi protein anti-apoptosis. Dengan demikian, dilaporkan bahwa MSC menurunkan faktor pro-apoptosis Bax dan ekspresi caspase-3 yang terpecah tetapi meningkatkan kadar Bcl-2 yang anti-apoptosis, sedangkan ekspresi faktor pro-angiogenik, seperti faktor pertumbuhan fibroblastik dasar (bFGF), vaskuler endotel faktor pertumbuhan (VEGF), dan CXCL12 meningkat di hati yang diobati dengan MSC dibandingkan dengan *medium-treated heart*. (Vizoso et al., 2017)

#### *Penyembuhan Luka and Perbaikan Jaringan*

Peran yang bermanfaat pada penyembuhan luka dan perbaikan jaringan diamati oleh MSC di lokasi cedera. Data dari model hewan tampaknya menunjukkan bahwa efek autokrin atau parakrin dari MSC daripada engraftment langsung dan diferensiasi jaringan dapat memainkan peran kunci dalam penyembuhan luka. (Utomo et al., 2014) Beberapa penelitian telah melaporkan adanya faktor pertumbuhan dalam MSC-CM yang berkontribusi pada regenerasi jaringan organ yang rusak, dengan penekanan khusus pada proliferasi. Perlu juga disebutkan bahwa secretome dari MSCs

memiliki efek anti-fibrotik dan angiogenik yang dapat mengurangi pembentukan parut dan meningkatkan fraksi ejeksi jangka panjang ketika diberikan awal atau awal untuk remodelling yang merugikan pada model eksperimental infark miokard. (Vizoso et al., 2017)

#### *Efek Neuroprotektif dan Neurotropik*

Selama dekade terakhir, banyak penelitian telah muncul mendukung efek neuroprotektif dan neurotropik dari sekresi MSC. Faktanya, diketahui bahwa MSC-CM mengandung sejumlah faktor neurothopic. Beberapa penelitian telah melaporkan efek menguntungkan dari pendekatan berbasis MSC pada model cedera saraf. Efek-efek ini termasuk modulasi lingkungan inflamasi pada situs, peningkatan vaskularisasi dari situs regenerasi, peningkatan ketebalan selubung mielin, modulasi tahap degenerasi Wallerian, percepatan regenerasi serat dan peningkatan jumlah jumlahnya, pengurangan bekas luka fibrosis, dan peningkatan organisasi serat. (Vizoso et al., 2017)

Peran kunci MSC secretome sebagai modulator neurogenik *niche* telah dilaporkan baru-baru ini. Baik *Neural Stem Cell* (NSC) dan MSC mengeluarkan panel faktor pertumbuhan. Demikian juga, efek yang saling menguntungkan telah ditunjukkan ketika tipe sel ini dikultur secara in vitro. Efek menguntungkan dari CM yang berasal dari sel-sel batang gigi sulung manusia (SHEDs) dalam model hewan penyakit Alzheimer baru-baru ini telah dilaporkan. Pemberian SHEDs secara intranasal meningkatkan fungsi kognitif dan menginduksi efek neuro-regeneratif seperti respon proinflamasi yang telah dilemahkan yang diinduksi oleh plak amiloid, dan mikroglia M2-seperti anti-inflamasi. (Vizoso et al., 2017)

#### *Regulasi Angiogenesis*

Angiogenesis didefinisikan sebagai proses di mana terdapat pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. Angiogenesis yang normal penting selama proses penyembuhan luka. Berbagai penelitian telah menunjukkan efek MSC secretome pada langkah-langkah penting dalam angiogenesis. Misalnya, populasi MSC yang berbeda (mis., Adiposa, amniotik, sumsum tulang (BM) dan vena umbilikal jeli Wharton) menginduksi proliferasi dan migrasi sel-sel endotel yang mempromosikan pembentukan tabung, serta mencegah apoptosis sel endotel

secara in vitro. Peran MSC dalam angiogenesis sangat menarik mengingat spektrum besar penyakit klinis yang terkait dengan pertumbuhan pembuluh darah yang tidak mencukupi atau abnormal, termasuk penyakit aterosklerotik dan gangguan penyembuhan luka. Aplikasi MSC yang berhasil untuk mempromosikan angiogenesis pada berbagai model hewan iskemia / stroke serebral, infark miokard, kantung kemih neurogenik, penyakit arteri perifer, dan stres inkontinensia urin telah dibuktikan. Sejumlah stimulator dan inhibitor angiogenik telah diidentifikasi dalam MSC secretome. Baru-baru ini, analisis proteomik luas dari MSC-CM yang distimulasi dengan sitokin inflamasi mengarah pada identifikasi inhibitor jaringan metalloproteinase-1 (TIMP-1) sebagai molekul yang bertanggung jawab atas efek antiangiogenik MSC. Semua data ini menunjukkan bahwa berbagai faktor hadir dalam MSC-CM dapat mewakili keseimbangan yang bertindak bersama untuk mempromosikan angiogenesis. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa sekresi faktor-faktor pro dan anti-angiogenik ini dapat dimodifikasi tergantung pada kemokin dan kondisi hipoksia. Dengan demikian, TGF memiliki kemampuan untuk meningkatkan level beberapa faktor pertumbuhan (mis., VEGF, faktor pertumbuhan hepatosit (HGF), faktor pertumbuhan turunan trombosit (PDGF), IL6 dan IL8. Demikian juga, CM dari MSC dengan TGF menginduksi pertumbuhan pembuluh darah dalam uji in vivo. (Vizoso et al., 2017)

#### *Efek Antitumor*

Berbagai penelitian telah memperhatikan hubungan antara MSC dan proses onkogenik. Pada dasarnya, peran MSC pada kanker dapat dilakukan sebagai: (a) efek tidak langsung, melalui efek modulasi MSC pada tumor; (B) sebagai efek langsung, melalui transformasi maligna dari MSC sendiri. Hasil yang bertentangan telah dijelaskan mengenai efek anti-tumor yang diinduksi oleh MSC, baik in vitro dan in vivo. Perbedaan ini tentang fungsionalitas MSC mungkin karena tidak adanya penanda khusus untuk mengisolasi populasi yang lebih homogen. Hasil yang bertentangan juga telah dilaporkan sehubungan dengan MSC-CM. Sebagai contoh, BM MSC-CM memiliki efek anti-tumor pada non sel-sel kanker paru-paru kecil atau efek stimulasi pada sel-sel myeloma, sedangkan sel-sel induk adiposa pada media kondisi (ADSC-

CM) tidak memiliki efek pada subpopulasi sel induk kanker glioblastoma manusia. (Vizoso et al., 2017)

#### *Efek Antimikrobia*

Beberapa penelitian *in vivo* telah menunjukkan efek menguntungkan dari pengobatan MSC pada sepsis yang diinduksi bakteri, menunjukkan sifat imunomodulator dari MSC yang dimediasi oleh peningkatan aktivitas fagosit. (Vizoso et al., 2017)

### **2.1.8 Mendorong Modifikasi Sekretori dalam MSC**

Ada bukti yang menunjukkan bahwa modifikasi MSC dapat meningkatkan efek terapi dari sekretom. Berbagai rangsangan dan kondisi telah dikembangkan termasuk: (a) kultur sel dalam kondisi hipoksia, yang meningkatkan produksi faktor pertumbuhan dan molekul anti-inflamasi; (B) rangsangan pro-inflamasi, yang menginduksi sekresi lebih tinggi dari faktor-faktor terkait kekebalan; (c) pertumbuhan tiga dimensi, yang meningkatkan produksi faktor anti-tumor dan anti-inflamasi; dan (d) rekayasa partikel mikro. (Vizoso et al., 2017)

#### *Hipoksia*

Dalam berbagai jaringan, pengurangan tekanan oksigen mengaktifkan faktor yang diinduksi hipoksia (HIF-1), yang pada gilirannya menginduksi ekspresi faktor angiogenik seperti VEGF. Baru-baru ini ditunjukkan bahwa kultur sel dalam kondisi hipoksia memiliki efek menguntungkan pada MSC. Faktanya, diketahui bahwa sebagian besar faktor pertumbuhan diregulasi dalam berbagai sel induk dalam kondisi hipoksia. Selain itu, hipoksia memungkinkan untuk mempertahankan fenotipe MSC yang tidak berbeda untuk pembaruan diri. Ini mungkin karena MSC biasanya ditemukan di daerah tubuh yang hipoksia, perfusi yang buruk oleh sistem peredaran darah. Dengan demikian, beberapa penelitian telah menunjukkan pengaruh negatif dari konsentrasi O<sub>2</sub> ambien pada MSC, mendorong penuaan dini, waktu penggandaan populasi yang lebih lama dan kerusakan DNA. Sebagai contoh, 3% ketegangan O<sub>2</sub> dalam kultur sel telah menunjukkan efek positif pada kelangsungan hidup *in vitro* dan pembaharuan diri

BMMSC, sambil mempertahankan keadaan mereka yang tidak terdiferensiasi. (Vizoso et al., 2017)

Demikian juga, ketegangan 2% O<sub>2</sub> ditemukan untuk melestarikan dan meningkatkan proliferasi serta potensi angiogenik dari ADSC. Baru-baru ini dilaporkan bahwa *human dental pulp stem cell* yang hipoksia (DPSC) berukuran lebih kecil dan menunjukkan nukleus yang lebih besar daripada sel yang tumbuh di lingkungan normoksik. Di sisi lain, kultur DPSC dalam 5% O<sub>2</sub> secara signifikan meningkatkan migrasi dan tingkat proliferasi mereka, tetapi juga ekspresi penanda sel induk dan BDNF, NGF, SOX2 dan VEGF. Semua data ini menunjukkan bahwa konsentrasi O<sub>2</sub> yang memadai dapat meningkatkan sifat dan pertumbuhan MSC, dan efek trofik dari sekresi mereka. Pengobatan dengan ADSC-CM hipoksik-prakondisi meningkatkan viabilitas hepatosit hepatotoksik dan meningkatkan regenerasi hati pada tikus yang sebagian hepatektomi. Manfaat terapi hipoksia juga telah dilaporkan dalam model tikus cedera otak traumatis dan kardiopati diabetes. (Vizoso et al., 2017)

#### *Stimulus Pro-inflamatori*

Bukti menunjukkan bahwa stimulasi MSC oleh faktor-faktor inflamasi meningkatkan potensi regeneratif mereka dan meningkatkan respons anti-inflamasi mereka. Dengan demikian, paparan MSCs ke IFN merangsang produksi enzim indoleamin-pirol 2,3-dioksigenase (IDO), yang meningkatkan aktivitas penekanan kekebalan MSC. Juga telah dilaporkan bahwa *pre-treatment* MSC dengan TNF meningkatkan aktivitas angiogenik mereka secara *in vitro* dan *in vivo* dalam model hewan dengan iskemia ekstremitas. *Pre-treatment* MSC dengan TNF juga meningkatkan proliferasi, migrasi, dan diferensiasi osteogenik melalui pengaturan protein morphogenetic tulang-2 (BMP-2). Demikian juga, aktivitas regeneratif MSC dapat dirangsang oleh lipopolisakarida (LPS) atau agonis reseptor seperti tol (TLR) melalui induksi produksi faktor-faktor parakrin. (Vizoso et al., 2017)

#### *Pertumbuhan Tri-Dimensional*

MSC biasanya ditanam secara *in vitro* dalam sistem monolayer. Namun demikian, kultur tiga dimensi, seperti kultur sferoid, telah terbukti merangsang sekresi faktor trofik. Kultur sferoid memerlukan penanganan dan peralatan khusus (spinner

flask) tetapi menghasilkan lebih banyak sel dibandingkan dengan kultur monolayer konvensional, dan karenanya lebih banyak faktor yang disekresikan. Perlu disebutkan bahwa sel-sel yang terletak di pusat sferoid mungkin berada dalam kondisi hipoksia relatif dibandingkan dengan sel-sel di permukaan. Seperti disebutkan di atas, konsentrasi oksigen adalah faktor lingkungan kritis yang mempengaruhi pemeliharaan plastisitas dan proliferasi sel induk. CM dari sferoid MSC manusia telah ditemukan menghambat produksi TNF, CXCL2, IL6, IL12p40, dan IL23 dari makrofag yang dirangsang oleh LPS dan merangsang produksi prostaglandin E2 (PGE2) yang lebih tinggi. Dalam model *murine* dengan peritonitis yang diinduksi zymosan, sferoid dan sel turunan sferoid memiliki efek antiinflamasi yang lebih efektif daripada sel kultur MSC monolayer. MSC spheres yang diinduksi-gantung (mengandung 25.000 sel per tetes) menghasilkan kadar protein gen 6 yang terangsang TNF (TSG-6) yang lebih tinggi, sebuah faktor antiinflamasi yang penting. Mereka juga menghasilkan tingkat stanniocalcin-1 (STC1) yang lebih tinggi, protein anti-inflamasi dan anti-apoptosis, serta tiga protein antikanker. Kultur dinamis menggunakan spinner flasks atau bioreaktor bejana dinding yang berputar membentuk sferoid kecil dan telah menunjukkan diferensiasi adipogenik dan osteogenik yang lebih baik dan juga ekspresi lebih tinggi dari IL24. (Vizoso et al., 2017)

### *Microparticle Engineering*

Properti CM tertentu dapat dimodifikasi melalui rekayasa partikel mikro. Baru-baru ini dilaporkan bahwa mikropartikel yang diisi dengan 2 - [(aminokarbonil) amino] -5- (4-fluorophenyl) -3-thiophenecarboxamide (TPCA-1), sebuah penghambat NF-kB, dapat menipiskan sekresi oleh MSC dari pro- faktor inflamasi selama setidaknya enam hari in vitro. CM yang diturunkan dari MSC TPCA-1 yang dimuat juga menunjukkan berkurangnya kemampuan untuk menarik monosit manusia dan mencegah diferensiasi fibroblas jantung manusia ke myofibroblast. Ini adalah temuan yang menarik karena remodeling yang merugikan atau fibrosis jantung akibat diferensiasi fibroblas jantung menjadi miofibroblas dengan fenotip pro-inflamasi dan deposisi kolagen adalah penyebab utama gagal jantung. (Vizoso et al., 2017)

### 2.1.9 Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell

Sumsum tulang adalah salah satu situs yang paling sering digunakan untuk ekstraksi sel induk. Sel-sel ini memainkan peran penting dalam setiap fase penyembuhan luka, sehingga mereka ditargetkan sebagai terapi alternatif yang layak dalam penyembuhan luka kronis. Sel-sel induk yang berasal dari sumsum juga memegang properti untuk melekat pada bahan plastik dan dapat diterapkan secara langsung pada permukaan luka, disuntikkan di tepi luka, atau diberikan secara sistemik. (Balasubramanian et al., 2017)

Percobaan klinis terkontrol acak telah melaporkan hasil positif dengan menggunakan MSC sumsum tulang secara topikal dan intramuscular serta biograft autologous pada luka kronis diabetikum. Kontraksi yang signifikan dalam ukuran luka ( $7,26 \pm 1,41 \text{ cm}^2$  vs.  $2 \pm 0,98 \text{ cm}^2$ ,  $p < 0,001$ ) diamati pada 12 minggu, dengan jarak berjalan bebas rasa sakit yang lama ( $38,33 \pm 17,68 \text{ m}$  vs.  $284 \pm 212 \text{ m}$ ,  $p < 0,001$ ). Studi lain, yang menggunakan sel-sel induk yang berasal dari sumsum tulang diterapkan dengan semprotan polimer pada luka kronis eksisi bedah, telah menunjukkan efisiensi terapi ini, yang mengarah ke perbaikan permukaan epitel dalam delapan minggu. Peningkatan vaskularisasi dan pertumbuhan lapisan kulit diamati dalam sebuah studi di mana para peneliti telah menyuntikkan stem cell yang berasal dari sumsum tulang di tepi luka pada pasien dengan kaki diabetik. Ini disertai dengan pengurangan ukuran luka. (Balasubramanian et al., 2017)

Sel-sel induk autologous yang diturunkan dari sumsum tulang telah terbukti dalam penelitian penyembuhan luka yang mencakup pasien-pasien dengan *leg ulcer* yang bertahan lebih dari satu tahun meskipun telah menjalani perawatan konvensional. Dalam uji coba terkontrol secara acak di mana sel induk yang berasal dari sumsum tulang diberikan secara intramuskular untuk pasien diabetes dengan iskemia ekstremitas dan ulkus kaki, terdapat tingkat penyembuhan yang secara signifikan lebih tinggi dan jarak berjalan tanpa rasa sakit dicatat selama periode tindak lanjut dalam 24 minggu. (Balasubramanian et al., 2017)

Meskipun beberapa jenis MSC telah terbukti memiliki sifat regenerasi kulit, telah dilaporkan bahwa sitokin yang diperoleh dari BMMSC lebih disukai untuk merumuskan produk anti-penuaan topikal untuk kulit, dibandingkan dengan faktor yang diperoleh MSC dari sumber jaringan lain. Kami sebelumnya telah melaporkan dan menerbitkan pengembangan dan karakterisasi dari populasi MSC yang berasal dari

sumsum tulang yang dikumpulkan dari donor sehat yang telah setuju, kemudian diperluas dalam media yang mengandung serum atau bebas serum dengan cara yang dapat direproduksi dalam fasilitas yang mematuhi GMP. Baru-baru ini, pendekatan regeneratif berbasis CM telah dieksplorasi untuk aplikasi *cosmeceutical* karena mengandung berbagai faktor, yang disekresikan oleh MSC yang diisolasi dari berbagai jaringan. Faktor-faktor pertumbuhan dan sitokin hadir dalam CM, diyakini bermanfaat dalam mengurangi tanda-tanda penuaan kulit, karena kapasitasnya untuk mempromosikan proliferasi fibroblast kulit dan keratinosit, dan dalam menginduksi produksi komponen matriks ekstraseluler, termasuk deposisi dan reorganisasi kolagen, dengan demikian meningkatkan kesehatan kulit. (Balasubramanian et al., 2017)

#### **2.1.10 Placental Mesenchymal Stem Cell**

Sel dalam jaringan plasenta, dan khususnya dalam membran amniotik, mampu melakukan fungsi utama karakteristik sel induk: pembaharuan diri, diferensiasi menjadi beberapa garis keturunan, serta gagasan yang baru muncul bahwa sel-sel ini menciptakan lingkungan mikro yang diperlukan untuk mendorong aktivasi dan proliferasi sel lokal. Yang terakhir ini hampir pasti memainkan peran penting dalam uji perbaikan lesi luka yang dijelaskan di atas, dengan mengkoordinasikan proses biologis yang meliputi epitelisasi ulang dan mengurangi peradangan. Studi yang lebih baru, sangat menunjukkan keberadaan progenitor / sel induk dengan potensi diferensiasi luas di berbagai bagian plasenta. Seperti disebutkan sebelumnya, plasenta terdiri dari tiga lapisan: amnion, chorion, dan deciduas, masing-masing dengan derivasi embrionik yang berbeda, termasuk garis keturunan ektodermal dan mesodermal. Ada laporan yang menyatakan bahwa sel epitel amnion menunjukkan karakteristik sel induk dan secara teori bermanfaat dalam strategi regenerasi jaringan. Berbagai pendekatan telah dilaporkan untuk mengisolasi sel dengan karakteristik sel induk dan sel progenitor dari jaringan plasenta seperti yang dirangkum dalam ulasan baru-baru ini. Sel-sel tersebut telah diisolasi dari plasenta manusia utuh, janin dan bagian maternal dari plasenta, daerah internal lobulus plasenta, membran janin amniochorionic, epitel amniotik, dan mesenkim amniotik. Sel mesenchymal juga telah diisolasi dari cairan ketuban manusia dan babi. Namun, harus diingat bahwa cairan ketuban adalah lingkungan dengan populasi sel yang sangat heterogen, dan di samping keberadaan sel-sel yang berasal dari

amnion, ada juga sel-sel yang termasuk dalam kulit, urogenital, pernapasan, dan sistem pencernaan janin. (Parolini & M. Soncini, 2006)

### **2.1.11 Amniotic Epithelial Cells (AEC)**

Seperti disebutkan dalam paragraf sebelumnya, amnion dan tiga lapisan germinal (endoderm, mesoderm, dan ektoderm) dari embrio semuanya berasal dari epiblas. Studi terbaru yang bertujuan mendefinisikan karakteristik sel induk seperti sel amniotik menunjukkan bahwa AEC mengekspresikan beberapa penanda permukaan yang terkait dengan sel induk embrionik. Ini termasuk SSEA- (*Stage Specific Embryonic Antigene*) 3, SSEA-4, TRA- (*Tumor Rejection Antigene*) 1-60, dan TRA-1-81. Sel-sel ini juga mengekspresikan faktor transkripsi spesifik sel punca pluripotent seperti protein pengikat octamer 4 (OCT-4) dan nanog. Eksperimen tambahan menunjukkan diferensiasi *in vitro* sel-sel ini menjadi tiga lapisan germinal, dalam sel jantung (turunan mesodermal), neuronal, dan sel glial (turunan ektodermal), dan diferensiasi pankreas dan hati (turunan endodermal) semuanya menunjukkan positif untuk penanda spesifik. Diferensiasi saraf sel epitel amnion juga sebelumnya dilaporkan oleh Sakuragawa et al., Yang menunjukkan bahwa AEC mengekspresikan penanda seluler baik sel saraf dan glial serta sel-sel oligodendrosit. AEC menghasilkan molekul yang terlibat dalam perkembangan neuronal seperti asetilkolin, katekolamin termasuk dopamin, dan reseptor katekolamin dan mensintesis dan melepaskan *brain derived neurotrophic factor neurotrophin 3*, faktor pertumbuhan saraf, aktivin, dan noggin. Temuan ini mendukung hipotesis bahwa amnion manusia mungkin terlibat dalam pembentukan saraf selama perkembangan awal, dan meningkatkan kemungkinan bahwa sel-sel yang berasal dari jaringan ini dapat menawarkan jalan untuk kemajuan yang signifikan dalam pengobatan penyakit neurodegeneratif. Memang, kemampuan AEC manusia untuk bertindak sebagai sel donor untuk transplantasi sel alogenik dalam sistem pemberian obat telah diverifikasi dalam percobaan pencangkokan intraserebral untuk pengobatan dalam model tikus penyakit Parkinson, menunjukkan bahwa AEC manusia mampu menghasilkan dopamin dan dapat bertahan hidup dan berfungsi di otak tikus *di vivo*. Dalam model lain dari gangguan saraf, sel-sel epitel amnion tikus direkayasa secara genetika untuk mengekspresikan dan mengeluarkan betaglucuronidase manusia, dan kemudian ditransplantasikan ke dalam model tikus

mucopolysaccharidosis tipe VII, menghasilkan peningkatan lisosomal gangguan penyimpanan. Meskipun mereka menunjukkan hasil yang sangat menjanjikan, studi ini masih dalam masa pertumbuhan dan koreksi fungsional jaringan dan organ yang diregenerasi memerlukan penyelidikan lebih lanjut. Baru-baru ini, Sankar dan kolaboratornya telah menyelidiki potensi AEC untuk membantu dalam perawatan cedera tulang belakang. AEC manusia ditransplantasikan pada rongga intotranseksi di korda spinalis bagian belakang monyet, dan mampu bertahan selama setidaknya 60 hari. Selain itu, tidak ada tanda-tanda jaringan parut glial di ujung yang dipotong, mungkin berfungsi sebagai indikasi bahwa sel-sel yang ditransplantasikan mampu bertindak sebagai lingkungan yang cocok untuk tumbuhnya hostaxon, dan bahwa mereka mungkin juga mencegah kematian dalam sel-sel axotomised atau menstimulasi pertumbuhan pada benih kolateral. Meskipun sangat awal, penulis berspekulasi bahwa AEC manusia mungkin memiliki efek menguntungkan yang serupa jika ditransplantasikan untuk memperbaiki cedera tulang belakang. (Parolini & M. Soncini, 2006)

Meskipun ada banyak pengetahuan yang diperoleh dari studi yang baru saja dibahas, masih ada lebih banyak penyelidikan yang harus dilakukan untuk memvalidasi peran sel epitel amnion dalam perkembangan neuronal dan penggunaan prospektif mereka untuk pengobatan penyakit neuronal. Menariknya, seperti yang disebutkan dalam penelitian sebelumnya, aplikasi AEC tampaknya lebih luas daripada yang sudah dibahas. Telah dilaporkan bahwa AEC manusia dapat membedakan *in vitro* menjadi sel-sel yang memproduksi insulin. Selain itu, penelitian *in vivo* telah menunjukkan bahwa AEC manusia mampu menormalkan kadar glukosa darah selama beberapa bulan setelah transplantasi ke dalam limpa tikus SCID (*Severe Combined Immunodeficiency*). Hasil ini menunjukkan bahwa AEC manusia memiliki potensi untuk berdiferensiasi menjadi sel  $\beta$  *in vivo* dan oleh karena itu mungkin memiliki potensi terapi untuk pengobatan diabetes mellitus tipe I. Lebih jauh lagi, AEC manusia yang ditunjukkan untuk mensintesis dan mengeluarkan albumin *in vitro*, ketika dimodifikasi secara genetik untuk mengekspresikan gen LacZ untuk tujuan pelacakan dan kemudian ditransplantasikan melalui vena portal dari tikus-SCID, terbukti bermigrasi ke parenkim hati dalam beberapa hari injeksi, di mana mereka menunjukkan imunoreaktivitas positif untuk albumin dan alfa-fetoprotein manusia. Ini menunjukkan peran potensial sel-sel ini

dalam regenerasi jaringan hati. Selain itu, percobaan ini memberikan bukti tidak langsung yang mendukung kemungkinan menggunakan AEC sebagai alat pengiriman gen, seperti juga yang disarankan dalam penelitian lain. Kelompok yang sama yang dipimpin oleh Sakuragawa melaporkan bahwa dalam uterotransplantasi AEC hasil rekayasa genetika ke dalam hati tikus janin menghasilkan ekspresi gen yang ditransfeksi eksogen hingga 14 hari setelah kelahiran, waktu yang lebih lama daripada yang diamati untuk hepatosit yang ditransfusikan atau injeksi vektor virus langsung. (Parolini & M. Soncini, 2006)

### **2.1.12 Mesenchymal Stem Cells Pada Placenta**

Baru-baru ini, telah ada minat yang tumbuh pada *mesenchymal stem cell* karena mereka dianggap multipoten. Memang, ada banyak laporan yang menunjukkan bahwa *mesenchymal stem cell* (MSC) yang merupakan turunan sumsum tulang mampu berdiferensiasi menjadi semua garis turunan mesodermik: jaringan adiposa dan jaringan ikat, serta tulang dan tulang rawan. Yang menarik, kelompok Verfaillie telah menunjukkan keberadaan sel punca yang didefinisikan sebagai sel progenitor dewasa multipoten (MAPC) di sumsum tulang. MAPC mampu berdiferensiasi tidak hanya menjadi sel mesenkimal tetapi juga menjadi garis turunan ektoderm dan neuroektoderm. MSC awalnya diidentifikasi dalam post-natal *bonemarrow* manusia dan kemudian diisolasi dari jaringan lain seperti jaringan adiposa, darah tepi, darah tali pusat, dan jaringan ikat dewasa. Diakui bahwa MSC ini memiliki kapasitas untuk berkontribusi pada regenerasi jaringan mesenkimal dan untuk mendukung ekspansi sel punca hematopoietik seperti yang ditunjukkan oleh percobaan rekonstruksi in vitro dari lingkungan mikro hematopoietik. Selain itu, beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa MSC tidak imunogenik dan juga menunjukkan sifat imunoregulatori. Mekanisme yang bertanggung jawab untuk pengamatan ini belum diklarifikasi, namun percobaan in vitro telah menunjukkan bahwa MSC dapat menginduksi regulasi proliferasi sel T dan menghambat diferensiasi dan proliferasi monosit. Oleh karena itu, aplikasi klinis potensial MSC menjadi lebih signifikan dan lebih meningkatkan tingkat pengikatan sel hematopoietik dan perbaikan serta pencegahan reaksi graft vs inang. Saat ini sumsum tulang merupakan sumber utama MSC untuk studi eksperimental dan klinis. Namun, ada batasan untuk penggunaan jaringan ini: panen sumsum tulang adalah

prosedur invasif; ada batasan yang jelas untuk ketersediaan dan frekuensi MSC dari sumsum tulang; kapasitas diferensiasi sel induk diketahui menurun dengan bertambahnya usia donor; dan lebih jauh lagi ada peningkatan jumlah infeksi virus yang mungkin diderita donor. Oleh karena itu pencarian sumber sel mesenchymal lainnya jelas merupakan prioritas penting untuk penelitian sel induk. Untuk tujuan ini, berbagai jaringan janin termasuk sumsum tulang janin trimester pertama, darah, hati, limpa, dan ginjal telah diselidiki. (Parolini & M. Soncini, 2006)

Sejauh ini tidak ada penanda seluler spesifik untuk definisi dan isolasi MSC, dan meskipun data marker tidak terus bertambah, penentuan fenotipik identitas MSC sejauh ini didasarkan pada ekspresi SH2 / CD105, CD29, CD44, CD73 / SH3, CD166 (ALCAM), dan CD90 / THY1, dengan tidak adanya penanda hematopoietik CD34, CD45, dan Glycophorin A. Paling umum, isolasi MSC dilakukan dengan adhesi plastik sederhana dari sel-sel sumsum tulang total. Kelompok yang berbeda telah melaporkan isolasi sel mirip sel punca mesenkimal dari berbagai daerah plasenta. Beberapa kelompok telah memusatkan perhatian mereka pada jaringan plasenta baik sebelum atau setelah pengangkatan selaput janin dari sisi ibu dan janin dari plasenta, sementara yang lain telah mempertimbangkan baik selaput ketuban amnion dan korionik, daerah mesenchymal ketuban dan juga cairan ketuban manusia. Yang menarik, populasi sel multipoten, yang disebut sel multipoten turunan plasenta (PDMC), telah dideskripsikan oleh Yen dan kolaborasinya. Sel-sel ini tidak hanya hadir dengan fenotip mesenchymal, tetapi mereka juga positif untuk penanda sel induk embrionik SSEA-4, TRA-1-61, TRA-1-80, dan OCT-4, sementara mereka kekurangan marker endotel dan trofoblas. Selain analisis fenotipikal, potensi diferensiasi sel-sel ini juga telah dilaporkan. Diferensiasi MSC plasenta terhadap tipe sel mesenkimal dewasa termasuk garis turunan osteo, chondro, dan adipogenik telah dilaporkan oleh berbagai penulis. Namun, lebih banyak sistem pembacaan harus digunakan untuk membuktikan potensi diferensiasi sebenarnya dari sel-sel ini. Di sisi lain, PDMC yang telah dideskripsikan dengan fenotip yang lebih tidak berdiferensiasi menunjukkan kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi sel-sel garis turunan mesodermal serta *ectodermal neuron-like-cells*. Diferensiasi neuroglial in vitro juga telah ditunjukkan untuk amnion yang berasal dari sel mesenchymal, seperti yang dilaporkan oleh Sakuragawa dan kolaborasinya. (Parolini & M. Soncini, 2006)

Zhao dan kolaborator menunjukkan bahwa sel mesenkim amnion, tetapi bukan sel epitel amnion, dapat berdiferensiasi menjadi sel seperti kardiomyosit setelah kultur dengan faktor-faktor yang menyebabkan diferensiasi kardiomiogenik, dan juga setelah eksperimen kultur dengan eksplan neonatal jantung tikus. Xenotransplantasi ke infark miokard tikus menunjukkan bahwa sel mesenkimal amniotik manusia dapat mengalami diferensiasi miokard dan dapat bertahan selama 2 bulan di bagian bekas luka. Meskipun diperlukan regenerasi fungsional untuk mendukung penerapan sel mesenchymal amniotik dalam infark miokard, data awal ini lebih lanjut mendukung kemampuan *engraftment* sel-sel ini dan menyoroti potensi mereka untuk aplikasi klinis. Secara bersama-sama, temuan yang dijelaskan di atas konsisten dengan kemungkinan bahwa jaringan plasenta dapat bertindak sebagai sumber, tidak hanya sel progenitor mesenkimal, tetapi juga sel multipoten, walaupun demikian masih harus dibuktikan bahwa pada pengamatan *multi-lineage differentiation* berasal dari populasi klon. (Parolini & M. Soncini, 2006)

### **2.1.13 Aplikasi Klinis**

Sel induk telah banyak digunakan, baik secara ekstrinsik maupun intrinsik. Pada tahun 2004, Rasulov et al. pertama kali melaporkan aplikasi BM-SMC pada pasien wanita dengan luka bakar derajat IIIB, 30% TBSA. Aplikasi topikal dapat menyebabkan penyembuhan luka yang lebih cepat dan secara aktif menginduksi pertumbuhan pembuluh darah baru. (Ghieh et al., 2015) Penggunaan ASC sebagian besar digunakan terutama dalam operasi plastik, di mana telah diterapkan setiap hari. (Xu et al., 2016) Dalam estetika ASC telah menunjukkan potensi yang menjanjikan terutama dalam antiaging dan peremajaan. (Ojeh et al., 2015) Park BS dkk menemukan ASC yang mensekresikan VEGF, bFDF, TGF- $\beta$ 1, HGF, KGF, PDF, dan kolagen tipe 1, yang disuntikkan secara intradermal dua kali seminggu, akan meningkatkan kerutan wajah dan ketebalan kulit dalam 2 bulan. (Park et al., 2008) Kim WS et al mencoba memberikan injeksi ASC secara subkutan untuk kerutan yang diinduksi radiasi UB-B pada tikus, dan ditemukan melepaskan faktor antiapoptotik, sintesis kolagen, dan fibroblast, dan terbukti meningkatkan ketebalan kulit dan bundel kolagen. (Jin et al., 2013) Lebih lanjut, Kim pada studi yang berbeda menunjukkan efek pemutihan yang diamati secara *in vitro* dalam sel melanoma B16, di mana ASC paracrine melalui TGF-

$\beta$ 1 terkonfirmasi menghambat tyronase dengan cara yang tergantung pada dosis. (Kim et al., 2008) Hasil ini telah didukung oleh Lee JH bahwa ASC mampu menghambat migrasi sel B16 melalui injeksi intralesional ASC-CM sekali atau dua kali sehari, dibandingkan dengan kelompok kontrol. (Lee, Park, Chun, & Hong, 2015) Stem sel juga telah terbukti mencegah dan menurunkan angka kejadian *hypertrophic scars* (HTS), meskipun mekanisme yang sebenarnya masih kurang dipahami. Liu YL berpendapat bahwa mekanisme parakrin menurunkan regulasi p53 mRNA, dan mengurangi respon imun dan dengan demikian menghambat migrasi dan aktivitas fibroblast dan myoblast HTS, yang menurunkan pembentukan matriks ekstraseluler, kolagen, dan *alfa smooth muscle* ( $\alpha$ -SMA). (Liu et al., 2014)

Dalam penelitiannya, Jin et al membandingkan sifat dan karakteristik BM- MSC, AT- MSC, dan *Umbilical Cord Blood- MSC*, dengan kepadatan awal 2000 sel / cm<sup>2</sup>, dan populasi akhir kemudian dihitung menggunakan rumus  $(t - t_0) \cdot \log_2 / \log (N - N_0)$ , Ditemukan bahwa kultur UCB- MSC memiliki sel senescent yang lebih lama, penuaan yang lebih lama. Temuan lebih lanjut, tingkat faktor anti-inflamasi dengan Ang-1 lebih tinggi dibandingkan dengan MSC lainnya. UCB- MSC memiliki sejumlah aktivitas proliferasi dan kloning, dan mengekspresikan p53, p21, dan p16 yang jauh lebih rendah, yang merupakan marker penuaan. [26] Di sisi lain, Xu et al membandingkan efek ASC dengan PSC secretome pada antiaging. Penelitian menggunakan  $6-8 \times 10^6$  sel, dengan konsentrasi awal  $0389 \pm 0,04$  mg / ml dalam 100 ml dan mengungkapkan konsentrasi akhir  $5.989 \pm 0,07$  mg / ml dalam 70 ml setelah menjalani proses penyaringan 15x. Secretomes ASC terdiri dari protein yang memiliki peran lebih besar dalam adhesi, promosi, penghambatan metaloproteinase, dan aktivator plasminogen. Sedangkan PSC-CM mengandung lebih banyak protein embriogenik dalam FGF2, FGF7, CCL2, MMP1 dan MMP9, FGF2 dan FGF7. Secara keseluruhan, ia memiliki peran penting dalam diferensiasi, pembelahan sel, kelangsungan hidup, respon inflamasi, dan degenerasi kolagen. (Xu et al., 2016)

Sementara itu, peneliti telah melakukan pilot studi menggunakan model hewan untuk mendapatkan data awal pada potensi penyembuhan ulkus menggunakan CM- hWJSc, CM-BMsc, hipoksik CM-hWJSc untuk aplikasi dalam kondisi normal dan diabetes. Sampel yang digunakan dari penelitian ini adalah tikus Sprague Dawley jantan dengan usia sekitar 10-12 minggu, berat 150-180 g. Tikus dialokasikan secara acak

untuk menerima berbagai jenis pengobatan (injeksi topikal atau intrakutan). Pertama-tama, tikus dibagi menjadi dua kelompok, tikus normal dan tikus yang diinduksi diabetes. Kemudian dianestesi menggunakan ketamil dan xylazine, setelah tikus menjadi tidak sadar, dua luka dibuat pada tikus dengan diameter 8 mm dan kedalaman luka diukur. Luka pertama diobati dengan psc 0,1 mL intrakutan, luka kedua dengan salep gentamisin, luka ketiga dengan msc 0,1 mL intacutan dan yang keempat tanpa pengobatan. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa baik injeksi antibiotik topikal atau CM-stem cell (SC) meningkatkan proses penyembuhan luka dibandingkan dengan non-treatment pada tikus normal. CM-hWJSc terutama dalam kondisi hipoksia menunjukkan kemanjuran yang lebih besar dalam penyembuhan luka diabetes, sedangkan CM-BMSc menunjukkan kemanjuran yang lebih besar dalam penyembuhan luka non-diabetes.

## 2.2 Kerangka Konsep



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Desain Penelitian**

Jenis penelitian merupakan studi klinis yang bersifat eksperimental, randomized, non-blind trial dengan desain penelitian paralel tanpa matching untuk menilai potensi penyembuhan luka kronis pada pasien Morbus Hansen dengan terapi injeksi intrakutan Conditioned Medium Stem Cell

### **3.2 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Rumah Sakit Kusta Alverno Singkawang, pada bulan Mei 2020. Conditioned Medium Stem Cell di buat oleh PT. Kalbe.

### **3.3 Populasi dan Sampel**

Populasi terjangkau penelitian ini adalah semua pasien Morbus Hansen baik yang sedang dalam terapi ataupun yang sudah sembuh, yang menderita ulkus kronis dan sudah mendapatkan terapi lain selama satu bulan namun tidak ada perbaikan, berusia 18 hingga 80 tahun, yang datang berobat di Rumah Sakit Kusta Alverno Singkawang. Sampel dipilih menggunakan *consecutive sampling*. Setiap pasien yang datang dan memenuhi kriteria dapat diikutsertakan ke dalam studi ini.

### **3.4 Perkiraan Besar Sampel**

Mengacu pada penelitian terdahulu yang menggunakan krim CM tikus untuk pengobatan ulkus kronik tikus tanpa komorbid DM, maka dari itu proyeksi hasil tersebut digunakan untuk perkiraan besar sampel dalam penelitian ini, yaitu:

$$n = 2 \left( \frac{(Z\alpha + Z\beta)s}{(x1 - x2)} \right)^2$$

$$n = 2 \left( \frac{(1,96 + 0,84)8,49}{(4)} \right)^2$$

$$n = 70,64 \text{ atau } n = 71 \text{ (dengan pembulatan)}$$

### **3.5 Kriteria Inklusi dan Eksklusi**

Kriteria Inklusi :

- Semua subjek dengan ulkus kronis pada pasien Morbus Hansen berusia 18-80 tahun
- Tidak sembuh dengan terapi lain yang sudah dijalankan selama minimal 1 bulan
- Ulkus derajat 2 dan 3
- Bersedia mengikuti penelitian

Kriteria Eksklusi :

- Pasien minum antikoagulan
- Memiliki penyakit Hipertensi
- Gagal ginjal
- Riwayat kelainan darah
- Hamil

### **3.6 Cara Kerja Penelitian**

Pengukuran dan intervensi

Menggunakan uji klinis terbuka (*open trial*), baik peneliti maupun peserta mengetahui terapi yang diberikan. Pasien akan mendapatkan terapi injeksi CM sebanyak 0,1cc/1cm secara intrakutan pada area luka.

### **3.7 Variabel**

#### 3.7.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada studi ini adalah Conditioned WJP-MS

#### 3.7.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada studi ini adalah potensi penyembuhan luka pada ulkus kronis pasien Morbus Hansen

### **3.8 Instrumen Penelitian**

Alat : Alat ukur meteran

Skala Ukur : Kuantitatif dalam unit centimeter (cm) yang akan di ubah menjadi skala kualitatif sebagai bentuk kemajuan proses penyembuhan luka

Metode pengukuran : Panjang x lebar

### **3.9 Definisi Operasional**

Ulkus Kronis : Luka yang gagal pada rangkaian urutan proses penyembuhan yang berakhir dengan penutupan luka dan tidak tepat waktu; luka kronis umumnya tetap terbuka selama lebih dari 3 bulan.(McDaniel & Browning, 2014)

Perbaikan : Menilai perkembangan ulkus dengan melihat :

- Adanya jaringan granulasi

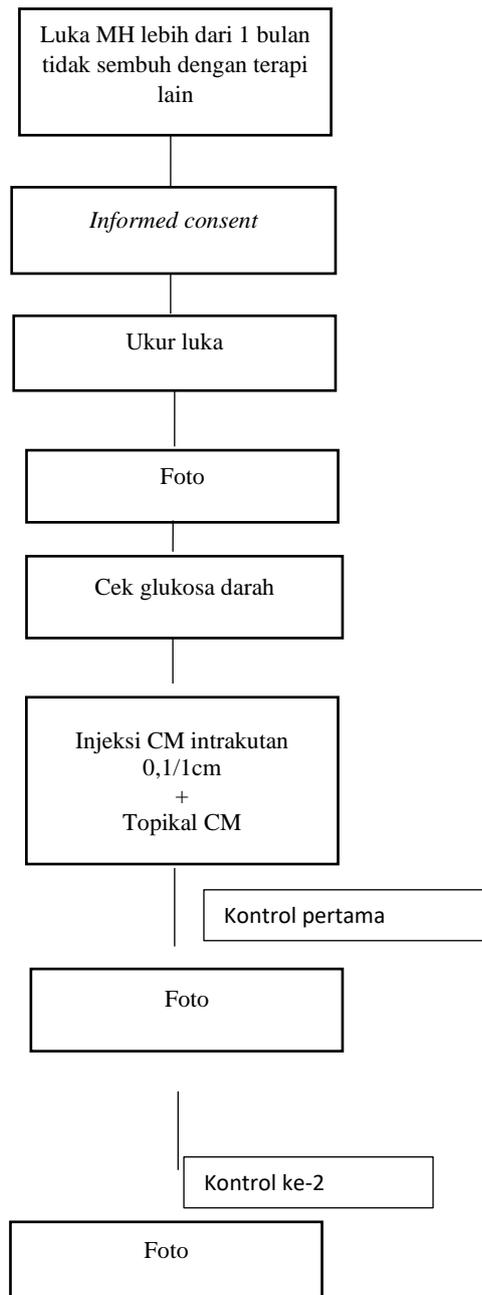
- Ukuran luka berkurang

- Edema berkurang

- Eritema berkurang

CM : Conditioned Medium

### 3.10 Alur Penelitian



### **3.11 Pengambilan Data**

Data dikumpulkan dengan mengukur ulkus pada pertemuan pertama serta melakukan pengambilan gula darah sewaktu dan mengambil foto ulkus masing-masing subjek. Subjek kemudian diberikan intervensi berupa injeksi 0,1 cc/1cm CM intrakutan hanya pada hari pertama dan ditambah dengan terapi topikal CM, Evaluasi dilakukan selama 2 minggu. Foto dan pengukuran akan diambil seminggu sekali.

### **3.12 Analisis Data**

Setelah data telah terkumpul, akan dilakukan analisa data sesuai dengan hasil akhir sehingga dapat disimpulkan apakah terdapat perbaikan proses penyembuhan luka yang signifikan pada subjek yang diteliti.

## BAB IV HASIL PENELITIAN

### 4.1 Karakteristik Demografi Responden

Penelitian mengikutsertakan 27 responden yang bersedia mengikuti penelitian dan memenuhi kriteria inklusi pada penelitian ini. Dari 27 responden, 3 (11,1%) responden dropout atau tidak menjalani pengobatan selama penelitian dengan baik yaitu 2 responden tidak hadir pada pengukuran minggu pertama dan 1 responden tidak hadir pada pengukuran minggu kedua. Penelitian berakhir dengan diikuti oleh 24 responden yang karakteristik lukanya tergambar dalam table 5.1

**Table 1. Data Responden Penelitian**

No	Int	Lokasi	Baseline				Minggu Pertama				Minggu Kedua			
			Pl	Lb	Ls	Dlm	Pl	Lb	Ls	Dlm	Pl	Lb	Ls	Dlm
S-SA01	MSY	kaki kiri	4	2	8		3.5	1	3.5				0	
S-SA02	ARN	kaki kiri	2	1	2				0				0	
S-SA03	SMH	kaki kanan	1	1	1		0.8	0.7	0.56		0.8	0.5	0.4	
S-SA04	SSM	betis kiri	2	0.3	0.6	1	2	0.3	0.6	0.8	1.5	0.2	0.3	0.5
S-SA05	NSL	telapak kaki kiri	2	1	2		1.5	0.5	0.75		1.3	0.4	0.52	
S-SA06	LKH	kaki kanan	2.5	1	2.5		2	0.5	1		1.5	0.5	0.75	
S-SA07	BSL	telapak kaki kiri	2	2	4	1	1.5	1.5	2.25	0.8	1.5	1.5	2.25	0.5
S-SA08	RBH	bokong kiri	2	2	4		0	0	0	0	0	0	0	
S-SA09	AGI	dengkul kiri	2	1	2	0.5	1.5	0.5	0.75	0.3	1.5	0.1	0.15	
S-SA10	TBS	telapak kaki kanan	3	2	6		2	0.5	1		1.5	0.5	0.75	
S-SA11	AIO	kaki kanan	5	2	10		4.5	2	9		4.5	1.5	6.75	
S-SA12	MIE	kaki kiri	0.5	0.5	0.25	0.3			0				0	
S-SA13	HDS	kaki kanan	9	12	108		8.5	4.5	38.25		8.5	4.5	38.25	
S-SA14	YRN	jempol kiri	2.5	2	5		2	2	4		1.8	1.2	2.16	
S-SA15	CYJ	kaki kiri	5	0.5	2.5	0.5	3	1	3	0.3	2.5	1	2.5	0.1
S-SA16	TKH	kaki kanan	1	0.5	0.5	0.2	0.5	0.5	0.25	0.2	0.4	0.4	0.16	0.1
S-SA17	WTO	siku kiri	2	1	2		1	0.5	0.5		0.6	0.4	0.24	
S-SA18	YTM	kaki kanan	5	3.5	17.5		4.5	3	13.5		3	2.5	7.5	
S-SA19	WGN	telapak kaki kiri	0.5	0.5	0.25		0.4	0.4	0.16		0.3	0.3	0.09	
S-SA20	SHD	telapak kaki kanan	2	2	4		2	1	2		1.5	1	1.5	
S-SA21	PDK	telapak kaki kanan	7.5	3.5	26.25		6.5	3	19.5		5.5	2.5	13.75	
S-SA22	KND	mata kaki kiri	1.2	1.2	1.44		1	1	1		0.5	0.5	0.25	
S-SA23	KSM	kaki kiri	4	2	8		3	2	6		2.5	1.5	3.75	
S-SA24	BKR	kaki kiri	1.5	1.5	2.25		1.4	1.4	1.96		1.2	1	1.2	
S-SA25	AFN	kaki kiri	1.5	1	1.5		1	1	1		0.5	0.5	0.25	
S-SA26	AMT	kaki kiri	2	1	2	0.7	1.5	1	1.5	0.5	1	1	1	0.3
S-SA27	YAL	kaki kanan	1.5	1	1.5		1.5	0.5	0.75		1.5	0.4	0.6	

Dari 24 responden yang mengikuti penelitian, didapatkan umumnya responden berjenis kelamin perempuan (75%) dengan rerata usia ialah 61,17 (14,53) tahun), tinggi badan ialah 159,88 (8,19) cm, berat badan sebesar 54,33 (6,62) kg, Indeks Massa Tubuh ialah 21,29 (2,54) kg/m<sup>2</sup> serta lama luka 3,28 (1,70) tahun. Karakteristik komorbid dan luka pasien dijabarkan pada table 5.2 secara lengkap

**Table 2 Karakteristik Demografi Responden Penelitian**

<b>Parameter</b>	<b>Jumlah (%)</b>	<b>Mean (SD)</b>	<b>Med (Min -Max)</b>
Jenis Kelamin			
• Perempuan	6 (25%)		
• Laki-laki	18 (75%)		
Usia (tahun)	-	61,17 (14,53)	60,5 (40 – 89)
Tinggi Badan (cm)	-	159,88 (8,19)	159 (145 – 170)
Berat Badan (Kg)	-	54,33 (6,62)	54 (43 – 65)
Indeks Massa Tubuh	-	21,29 (2,54)	21,01 (17,22 – 28,89)
Lama Luka	-	3,29 (1,70)	3 (0,50 – 7,00)
Pus		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Eritema		-	-
• Tidak	2 (8,3%)		
• Ya	22 (91,7%)		
Hiperpigmentasi		-	-
• Tidak	21 (87,5%)		
• Ya	3 (12,5%)		
Krusta		-	-
• Tidak	21 (87,5%)		
• Ya	3 (12,5%)		
Erosi		-	-
• Tidak	-		
• Ya	24 (100%)		
Kulit lembab		-	-
• Tidak	7 (29,2%)		
• Ya	17 (70,8%)		
Edem Luka		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Granulasi		-	-
• Tidak	-		
• Ya	24 (100%)		
Penggunaan Obat		-	-
• Tidak	22 (91,7%)		
• Ya	2 (8,3%)		

Jenis Pengobatan		-	-
• Metronidazole bubuk	1 (4,2%)		
• Rifampisin, Dapson, Clofazimine, Prednison	1 (4,2%)		
Penyakit Penyerta		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Jenis Penyakit	-	-	-
Nyeri pada luka		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Tekanan Darah Sistolik	-	121,33 (11,15)	120 (100 – 140)
Tekanan Darah Diastolik	-	75,83 (7,17 )	80 (60 – 90)
Nadi	-	77,38 (6,24)	77 (68 – 82)
Gula Darah Sewaktu	-	86,25 (6,17)	87 (77 – 98)
Lokasi		-	-
Betis Kiri	1 (4,2%)		
Bokor kiri	1 (4,2%)		
Dengkul Kiri	1 (4,2%)		
Jempol kiri	1 (4,2%)		
Kaki kanan	7 (29,2%)		
Kaki kiri	5 (20,8%)		
Mata kaki kiri	1 (4,2%)		
Siku kiri	1 (4,2%)		
Telapak kaki kanan	3 (12,5%)		
Telapak kaki kiri	3 (12,5%)		
Panjang (Baseline)	-	2,82 (2,10)	2,0 (0,5-9,0)
Lebar (Baseline)	-	1,90 (2,31)	1,1 (0,3 - 12,0)
Luas (Baseline)	-	8,95 (21,92)	2,38 (0,25 – 108)
Eksudat (Baseline)		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Granulasi (Baseline)		-	-
• Tidak	-		
• Ya	24 (100%)		
Nekrosis (Baseline)		-	-
• Tidak	24 (100%)		
• Ya	-		
Panjang (Minggu Pertama)	-	2,23 (1,98)	1,5 (0 – 8,5)
Lebar (Minggu Pertama)	-	1,22 (1,07)	1,0 (0 – 4,5)
Luas (Minggu Pertama)	-	4,55 (8,58)	1 (0 – 38,25)
Eksudat (Minggu Pertama)	24 (100%)	-	-

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tidak</li> <li>• Ya</li> </ul>	-		
Granulasi (Minggu Pertama) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tidak</li> <li>• Ya</li> </ul>	1 (4,2%) 23 (95,8%)	-	-
Nekrosis (Minggu Pertama) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tidak</li> <li>Ya</li> </ul>	24 (100%) -	-	-
Panjang (Minggu Kedua)	-	1,89 (1,90)	1,5 (0 – 8,5)
Lebar (Minggu Kedua)	-	1,00 (1,00)	0,5 (0 – 4,5)
Luas (Minggu Kedua)	-	3,54 (8,05)	0,75 (0 – 38,25)
Eksudat (Minggu Kedua) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tidak</li> <li>Ya</li> </ul>	24 (100%) -	-	-
Granulasi (Minggu Kedua) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tidak</li> <li>Ya</li> </ul>	1 (4,2%) 23 (95,8%)	-	-
Nekrosis (Minggu Kedua) <ul style="list-style-type: none"> <li>Tidak</li> <li>Ya</li> </ul>	24 (100%) -	-	-

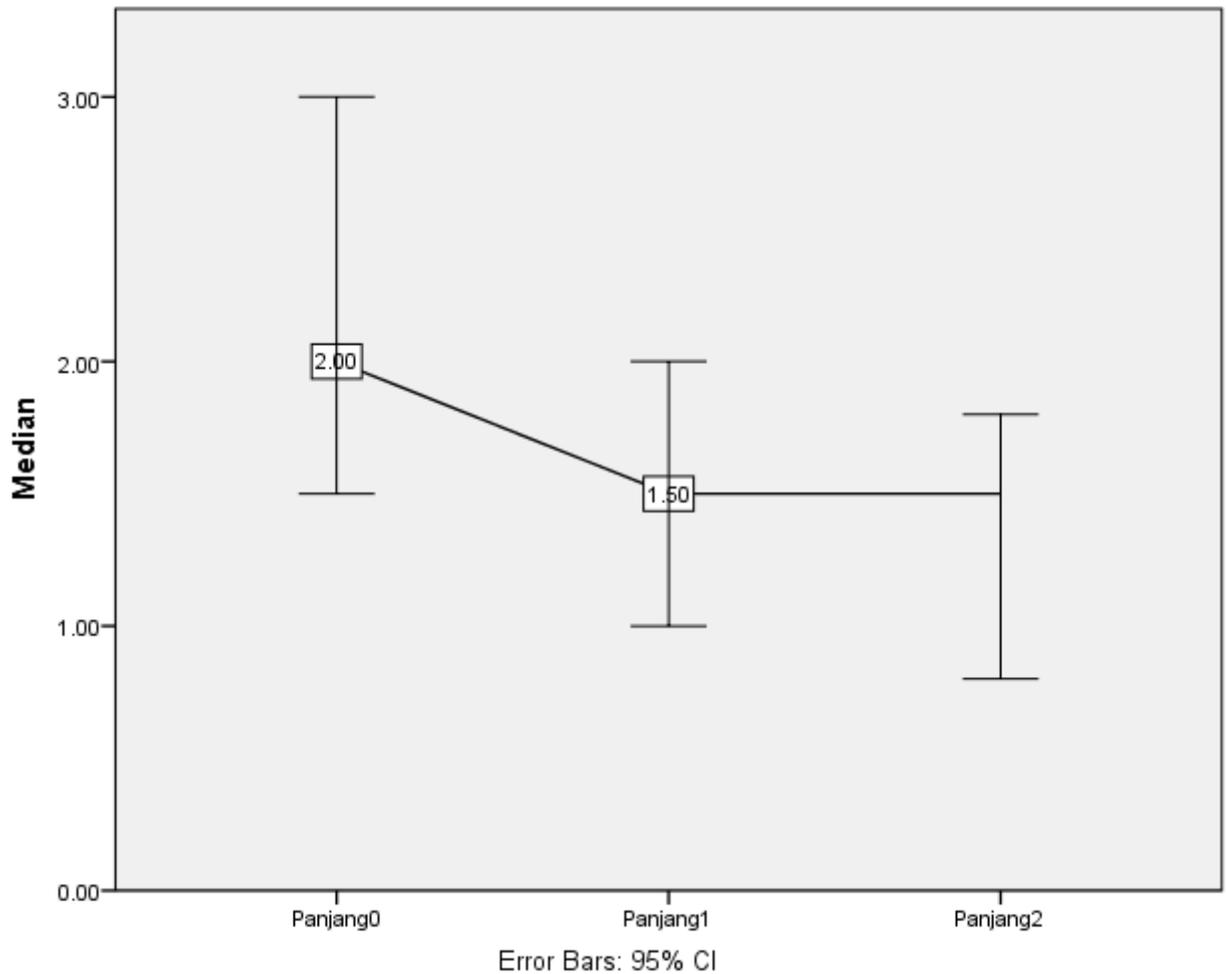
#### **4.2 Perubahan Panjang, Lebar, serta Luas Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan**

##### **4.2.1 Perubahan Panjang Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan**

Hasil uji deskriptif Panjang luka didapatkan hasil rerata Panjang luka pada baseline adalah 2,0 (0,5-9,0) cm, follow up pertama adalah 1,5 (0 – 8,5) cm, dan follow up kedua adalah 1,5 (0 – 8,5) cm. Hasil uji normalitas menggunakan uji shapiro Wilk didapatkan sebaran data yang tidak normal pada variabel Panjang luka di waktu baseline, follow up pertama dan follow kedua ( $p\text{-value} < 0,05$ ). Oleh karena itu, pengukuran kemaknaan secara statistic menggunakan uji alternative yaitu uji Non-Parametric Wilcoxon Signed Ranks Test. Menurut hasil uji statistic Wilcoxon didapatkan perubahan Panjang yang bermakna antara baseline dengan follow up pertama ( $p\text{-value} < 0,001$ ), baseline dengan follow up kedua ( $p\text{-value} < 0,001$ ), dan follow up pertama dengan follow up kedua ( $p\text{-value} < 0,001$ ). (Tabel 5.3)

**Table 3. Perubahan Panjang Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua**

	Mean (SD)	Med (Min – Max)	p-value	
Baseline	2,82 (2,10)	2,0 (0,5-9,0)	< 0,001	
Follow up 1	2,23 (1,98)	1,5 (0 – 8,5)		< 0,001
Follow up 2	1,89 (1,90)	1,5 (0 – 8,5)		



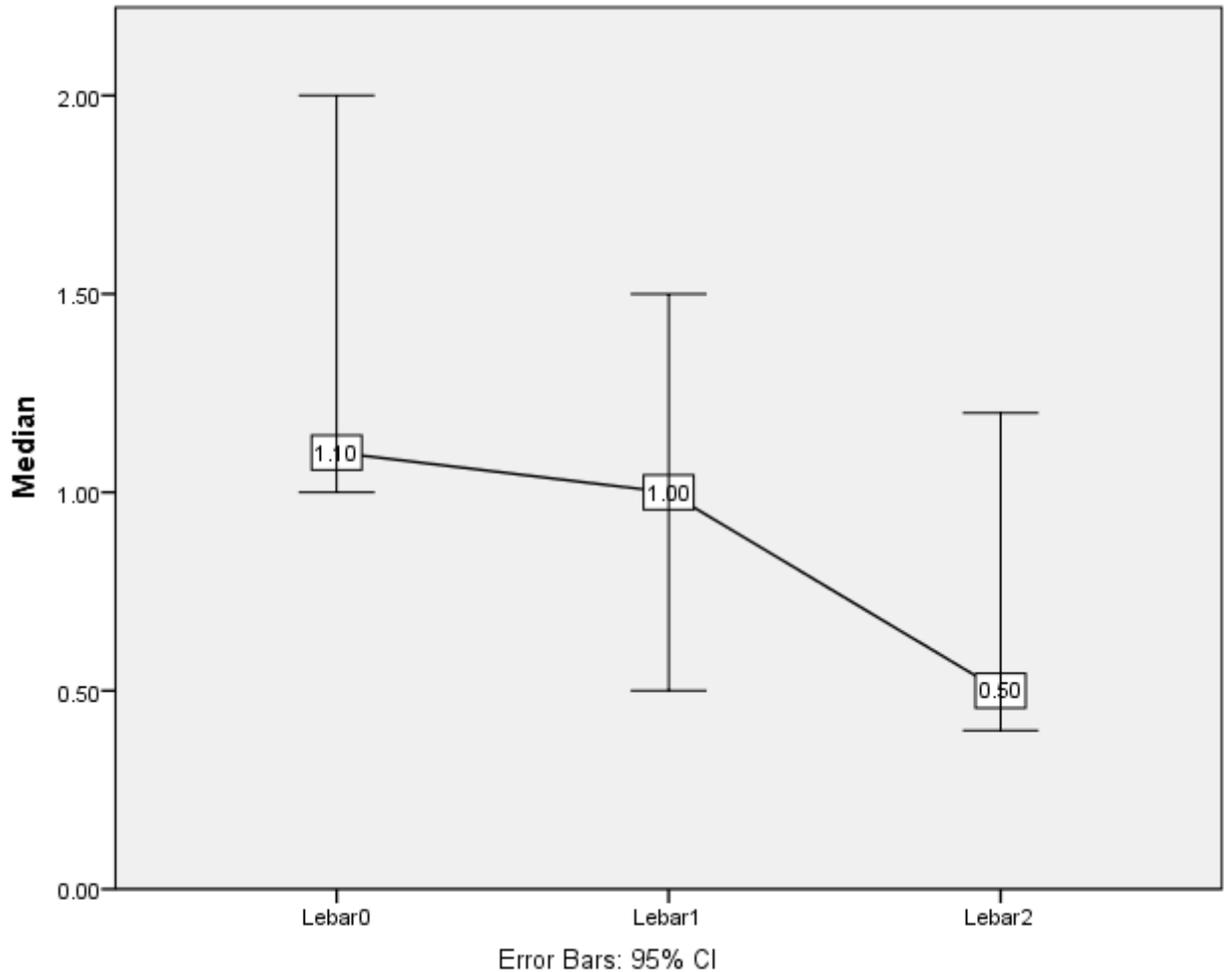
**Gambar 3. Grafik Perubahan Panjang Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua**

#### 4.2.2 Perubahan Panjang Lebar pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan

Hasil uji deskriptif Panjang luka didapatkan hasil rerata lebar luka pada baseline adalah 1,1 (0,3 - 12,0) cm, follow up pertama adalah 1,0 (0 – 4,5) cm, dan follow up kedua adalah 0,5 (0 – 4,5) cm. Hasil uji normalitas menggunakan uji shapiro Wilk didapatkan sebaran data yang tidak normal pada variabel lebar luka di waktu baseline, follow up pertama dan follow kedua (p-value < 0,05). Oleh karena itu, pengukuran kemaknaan secara statistic menggunakan uji alternative yaitu uji Non- Parametric Wilcoxon Signed Ranks Test. Menurut hasil uji statistic Wilcoxon didapatkan perubahan lebar yang bermakna antara baseline dengan follow up pertama (p-value < 0,001), baseline dengan follow up kedua (p-value < 0,001), dan follow up pertama dengan follow up kedua (p-value < 0,001). (Tabel 5.4)

**Table 4. Perubahan Lebar Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua**

Waktu	Mean (SD)	Med (Min – Max)	p-value		
Baseline	1,90 (2,31)	1,1 (0,3 - 12,0)	< 0,001		< 0,001
Follow up 1	1,22 (1,07)	1,0 (0 – 4,5)		< 0,001	
Follow up 2	1,00 (1,00)	0,5 (0 – 4,5)			



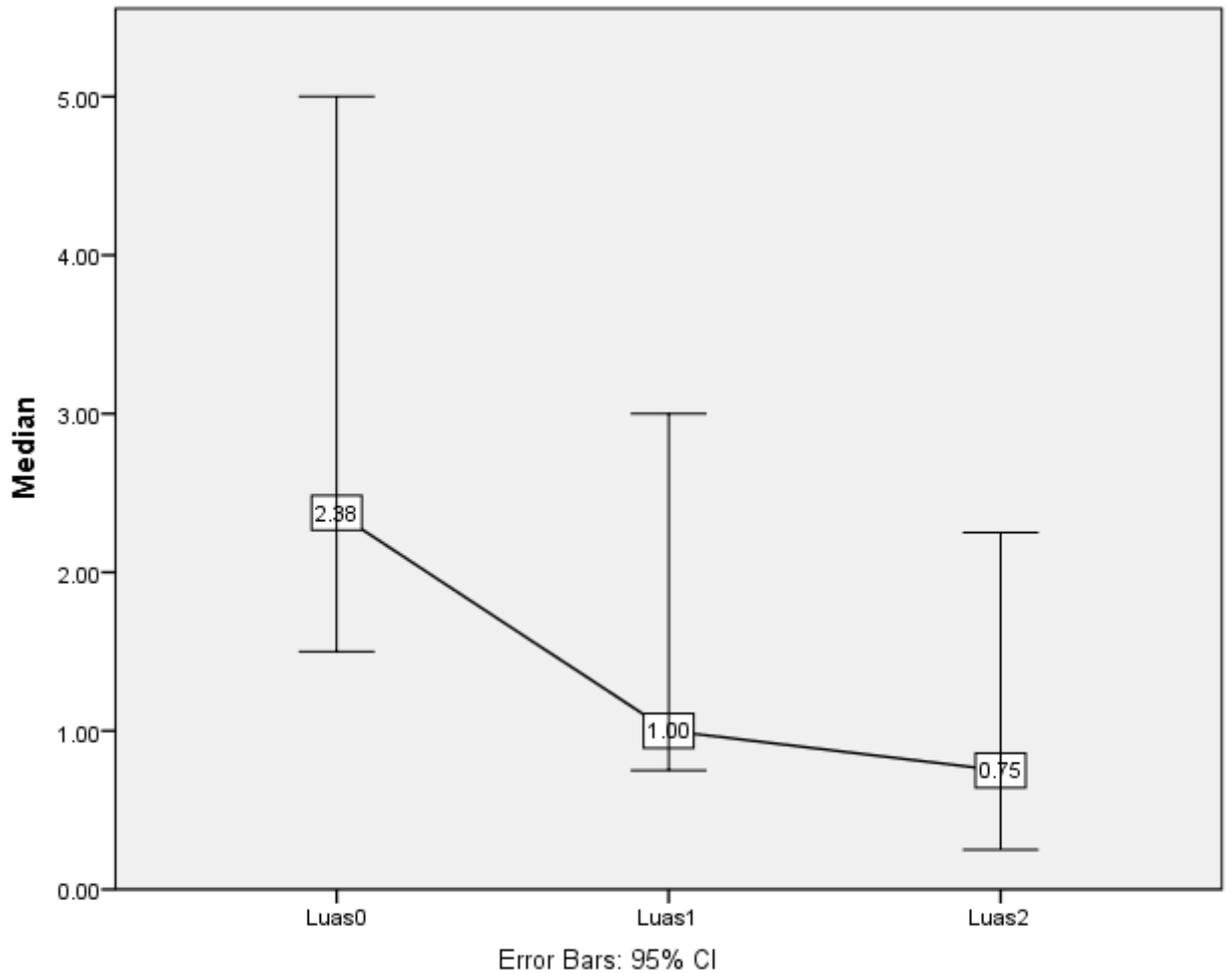
**Gambar 4. Grafik Perubahan Lebar Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua**

#### **4.2.3 Perubahan Luas Luka pada penderita Morbus Hansen dengan Intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan**

Hasil uji deskriptif luas luka didapatkan hasil rerata Panjang luka pada baseline adalah 2,38 (0,25 – 108) cm persegi, follow up pertama adalah 1 (0 – 38,25) cm persegi, dan follow up kedua adalah 0,75 (0 – 38,25) cm persegi. Hasil uji normalitas menggunakan uji shapiro Wilk didapatkan sebaran data yang tidak normal pada variabel luas luka di waktu baseline, follow up pertama dan follow kedua (p-value < 0,05). Oleh karena itu, pengukuran kemaknaan secara statistic menggunakan uji alternative yaitu uji Non-Parametric Wilcoxon Signed Ranks Test. Menurut hasil uji statistic Wilcoxon didapatkan perubahan luas yang bermakna antara baseline dengan follow up pertama (p-value < 0,001), baseline dengan follow up kedua (p-value < 0,001), dan follow up pertama dengan follow up kedua (p-value < 0,001). (Tabel 5.5)

**Table 5. Perubahan Luas Luka dari Awal, Folow Up Pertama, dan Follow Up Kedua**

	Mean (SD)	Med (Min – Max)	p-value		
Baseline	8,95 (21,92)	2,38 (0,25 – 108)	< 0,001	< 0,001	< 0,001
Follow up 1	4,55 (8,58)	1 (0 – 38,25)			
Follow up 2	3,54 (8,05)	0,75 (0 – 38,25)			



**Gambar 5. Grafik Perubahan Luas Luka dari Awal, Minggu Pertama, dan Minggu Kedua**

## **BAB V DISKUSI**

Luka yang terjadi pada penyakit Morbus Hansen termasuk ke dalam ulkus kronis atau ulkus tropik. Apabila tidak ditangani dengan baik, hal tersebut dapat menyebabkan deformitas dan disabilitas. (Moorthy BN, Kumar P, Chatura KR, Chandrasekhar HR, 2001) Meskipun tidak fatal, namun ulkus kronis Trofik tersebut akan sangat mengganggu aktifitas sehari-hari pasien, mengganggu pekerjaan bahkan mungkin sulit bagi pasien untuk mendapatkan pekerjaan akibat penyakit tersebut, memerlukan pengobatan dengan biaya yang besar, ulkus yang mengeluarkan bau yang tidak sedap, bahkan sangat berefek terhadap psykososial pasien, baik dalam lingkungan keluarga maupun masyarakat, bahkan dalam masyarakat mempunyai stigma yang sangat menakutkan terhadap penyakit MH tersebut.

Patofisiologis terjadinya Ulkus kronis Trofis pada MH awalnya adalah akibat dari bakteri MH yang merusak saraf tepi dan kelenjar keringat pada kulit, merusakkan saraf tepi tersebut mengakibatkan gangguan pada saraf otonom, saraf sensoris, dan kelumpuhan otot, dengan demikian saat melakukan aktifitas sehari-hari, terdapat tekanan-tekanan dan trauma-trauma kecil yang berulang dan menimbulkan penebalan kulit dan luka pada kulit tanpa disadari akan mempermudah timbulnya infeksi, hal tersebut juga diperberat oleh keadaan anhidrosis yang terjadi, dimana kulit menjadi kering dan pecah-pecah, dengan kulit yang terbuka tersebut juga memudahkan bakteri-bakteri menginfeksi kulit di daerah tersebut (1,24,27,29). Infeksi yang terjadi bila tidak dirawat dengan baik, akan menimbulkan ulkus berkepanjangan sampai menjadi ulkus kronis atau trofis. Apabila ulkus terjadi didaerah terdapat Kalus atau kulit yang menebal disekitar luka, hal ini akan memperberat keadaan luka, karena terjadi juga gangguan vaskularisasi atau iskemik local daerah luka, lingkungan hipoksia dan inflamasi yang dominan meningkatkan produksi ROS, yang merusak protein ECM dan menyebabkan kerusakan sel. Stres oksidatif juga mengarah pada penghentian siklus sel terkait kerusakan DNA (Frykberg & Banks, 2015) reseptor faktor pertumbuhan dan potensi mitogenik yang lebih rendah, ekspresi VEGF mengalami penurunan (Demidova-Rice et al., 2012) sehingga sulit untuk terjadinya granulasi dan penutupan luka. Keseluruhan faktor tersebut diatas akan semakin memperburuk kondisi luka.

Oleh sebab itu, hal tersebut diatas bisa menjadi "titik masuk" untuk intervensi terapeutik CM yang mengandung beberapa faktor pertumbuhan yang mempunyai sifat stimulus mitogenik bersama dengan aktivator diferensiasi keratinosit, meningkatkan daya tanggap faktor pertumbuhan sel yang berada dalam luka kronis dengan meningkatkan kepadatan reseptor faktor pertumbuhan untuk proliferasi sel, migrasi, dan pembentukan sprout angiogenik (Demidova-Rice et al., 2012)

Pada penelitian ini, pemberian CM dengan cara injeksi intralesi/intrakutan, selain bertujuan untuk memasukkan CM kedalam jaringan, juga dengan melakukan injeksi akan melukai sekitar ulkus, hal ini akan membuat luka luka mikro menjadi fase inflamasi luka akut di daerah luka kronis yang sekalian merangsang keluarnya trombosit untuk mengeluarkan kemokin *epidermal growth factor* (EGF), fibronektin, fibrinogen, histamin, *platelet derived growth factor* (PDGF), serotonin, dan faktor von Willebrand, juga sekalian menarik dan mengaktifkan makrofag ke daerah luka untuk memfagosit sel sel mati, bakteri dan plasma yang sering terdapat pada ulkus trofik MH. Selain fagositosis bakteri dan bahan asing, makrofag mengeluarkan banyak enzim dan sitokin; kolagenase, untuk mendegradasi kolagen; interleukin dan *tumor necrosis factor* (TNF), yang merangsang fibroblas dan meningkatkan angiogenesis; dan *transforming-growth factor* (TGF), yang merangsang keratinosit. Makrofag juga mengeluarkan *platelet derived growth factor* dan *vascular endothelial growth factor* yang memulai pembentukan jaringan granulasi dan dengan demikian memulai transisi ke fase proliferasi dan regenerasi jaringan.

Pemberian CM intrakutan pada kasus-kasus ulkus Trofis MH yang sebelumnya sudah diterapi dengan perawatan luka secara konvensional tidak menyembuhkan, menunjukkan hasil yang bermakna sesudah dipantau setiap minggu selama 2 minggu, terlihat pertumbuhan jaringan granulasi pada dasar luka, menandakan adanya angiogenesis dan neovaskularisasi, ukuran lebar dan Panjang berkurang, menandakan adanya epitelisasi dan pembentukan prokolagen dan kolagen di lapisan epidermis dan dermis. Tanda-tanda perubahan secara klinis yang disebut diatas menunjukkan adanya proses fase proliferasi penyembuhan luka. Proses tersebut diatas terjadi karena CM yang diberikan mengandung faktor pertumbuhan Keratinosit ( KGF) merangsang epitelisasi epidermis dan dermis, adanya VEGF untuk memicu timbulnya

neovaskularisasi dan angiogenesis, adanya  $\beta$  FGF untuk memicu fibroblast memproduksi prokolagen dan kolagen, dan adanya prokolagen dalam kandungan CM yang membantu mempercepat pembentukan jaringan matriks dalam luka.

Fase proliferasi berakhir dengan pembentukan jaringan granulasi, Neovaskularisasi yang pada luka diperlukan untuk memberikan nutrisi dan membantu menjaga jaringan granulasi luka. Pembuluh darah baru ini akan memfasilitasi titik masuk sel-sel ke dalam luka seperti makrofag dan fibroblas. Makrofag terus memasok faktor pertumbuhan yang merangsang angiogenesis dan fibroplasia lebih lanjut. *Platelet derived growth factor* yang disekresikan dan *transforming growth factor  $\beta$*  bersama dengan molekul matriks ekstraseluler merangsang diferensiasi fibroblas untuk menghasilkan bahan dasar dan kemudian kolagen. Fibroblast adalah kunci dalam sintesis, deposisi, dan renovasi matriks ekstraseluler yang memberikan kekuatan dan substansi pada luka.

Penelitian ini dilakukan untuk melihat hasil terapi sesudah 2 minggu, diharapkan sudah masuk dalam fase transisi ke fase maturasi yang berlangsung 2 minggu sesudah fase proliferasi, dan bila luka sudah masuk dalam fase maturasi, maka diharapkan selanjutnya penyembuhan luka akan berlanjut sampai luka menutup sempurna, dan pasien di edukasi untuk tetap memperhatikan, merawat, menjaga kelembaban kulitnya dan segera kontrol ke dokter bila mulai terjadi kelainan kulit di kaki dan tangan mereka. Penelitian ini sebaiknya dilanjutkan untuk menilai efek jangka panjang CM terhadap anestesi, anhidrosis di sekitar lukanya.

## **BAB VI**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **6.1 Kesimpulan**

1. Pada penelitian injeksi CM-WJMISC terhadap seluruh pasien ulkus kronik atau ulkus tropik pada penderita MH tidak ditemukan adanya keluhan atau efek samping yang timbul selama 2 minggu dan sesudah 2 bulan post terapi sesuai pemantauan kami sampai saat laporan ini dilaporkan.
2. Injeksi CM secara intrakutan pada ulkus tropik penderita Morbus Hansen menunjukkan hasil bermakna, dengan Rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropik pada penderita Morbus Hansen sebelum dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan berturut-turut adalah 2,0 (0,5 – 9,0) cm, 1,1 (0,3 – 12,0) cm, dan 2,38 (0,25 – 108) cm persegi.
3. Rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropic pada penderita Morbus Hansen setelah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan pada followup pertama berturut-turut sebesar 1,5 (0 – 8,5) cm, 1,0 (0 – 4,5) cm, dan 1,0 (0 – 38,25) cm persegi serta pada followup kedua berturut-turut sebesar 1,5 (0 – 8,5) cm, 0,5 (0 – 4,5) cm, dan 0,75 (0 – 38,25) cm persegi
4. Terdapat perubahan rerata Panjang, lebar, serta luas ulkus tropik pada penderita Morbus Hansen yang bermakna antara sebelum dan sesudah dilakukannya intervensi injeksi CM MSC secara intrakutan (p-value < 0,001)
5. Injeksi CM secara intrakutan diduga dapat merangsang fase inflamasi, fase proliferasi dan fase maturase pada ulkus kronik, termasuk ulkus tropic Morbus Hansen.
6. Injeksi CM intrakutan pada ulkus kronik termasuk Ulkus Tropik pada MH dapat memicu Ulkus kronik Kembali menjadi ulkus akut untuk dapat mempercepat penyembuhan luka. Dimana fase inflamasi pada ulkus akut sangat diperlukan untuk merangsang pengeluaran sel-sel trombosit, sel makrofag ke daerah luka dan mengeluarkan factor-faktor pertumbuhan yang dibutuhkan untuk proses penyembuhan luka.
7. Pada pasien-pasien dengan ulkus kronis termasuk ulkus tropik pada MH yang mempunyai kontra indikasi untuk dilakukan debrideman baik dengan atau tanpa anestesi umum, atau pasien yang dengan kontraindikasi akibat penyakit atau

keadaan tertentu, dapat dilakukan injeksi CM secara intrakutan untuk mempercepat penyembuhan luka kronis atau luka tropik

8. CM WJMISC mengandung prokolagen, VEGF, KGF, dan FGF dapat digunakan sebagai terapi inovasi untuk luka kronis termasuk ulkus Tropik pada MH, yang sudah sulit disembuhkan dengan terapi konvensional
9. Terapi inovasi dengan CM WJMISC pada ulkus kronis dapat mempercepat penyembuhan luka, mengurangi biaya perawatan luka, ekonomis, praktis, mudah dilakukan, tanpa debrideman, mengurangi rasa nyeri pada saat debrideman, atau yang mempunyai kontraindikasi debrideman.
10. Terapi CM WJMISC selanjutnya dapat dimodifikasi dengan cara terapi mandiri, seperti cara pemberian terapi injeksi insulin, yaitu dalam bentuk CM Pen.
11. Inovasi terapi CM-WJMISC dapat dipatenkan menjadi suatu produk mandiri untuk ulkus kronis dimanapun pasien berada, praktis mudah murah dengan konsentrasi yang telah distandarisasi.
12. Terapi CM- WJMISC dapat diajukan sebagai gold standar terapi ulkus kronis termasuk ulkus Tropik pada MH

## **6.2 Saran**

Bagi Masyarakat:

- Terapi inovasi dengan CM WJMISC pada ulkus kronis dapat mempercepat penyembuhan luka, mengurangi biaya perawatan luka, ekonomis, praktis, mudah dilakukan, tanpa debrideman, mengurangi rasa nyeri pada saat debrideman, atau yang mempunyai kontraindikasi debrideman
- Pengobatan serta kontrol secara rutin dalam penggunaan injeksi CM MSC secara intrakutan agar hasil yang ditimbulkan lebih baik dan mempercepat proses penyembuhan
- Senantiasa menjaga kebersihan dan melakukan perawatan luka secara teratur, baik serta bersih.

Bagi Peneliti selanjutnya:

- Penelitian dapat dilanjutkan dengan cara sebelum dilakukan injeksi luka, dilakukan debrideman luka sebelumnya, untuk mengembalikan ulkus kronis ke

fase inflamasi ulkus akut, untuk mempercepat penyembuhan, dengan menaikkan dosis, dan menginjeksi lebih luas disekitar luka.

- Melakukan perbandingan dengan metode pengobatan lainnya baik dari segi pemberian maupun penggunaan terhadap bahan aktif lainnya
- Melakukan penelitian dengan evidence based medicine yang lebih tinggi misal dengan Randomized Controlled Trial (RCT) dan metode lainnya guna memperoleh level evidence pengobatan yang lebih baik dan terpercaya
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk kasus kasus Ulkus Trofik, apakah CM WJMSC dapat memperbaiki kerusakan saraf tepi, kerusakan kelenjar dan kelainan pigmen sebagai penyebab utama timbulnya ulkus trofik pada kasus MH maupun Ulkus kronis yang lain.
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk kasus kasus Ulkus Trofik, seberapa efektif CM WJMSC dapat memperbaiki vaskularisasi pada ulkus kronis dengan menggunakan scan, doppler atau angiometri.
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk kasus kasus Ulkus Trofik, seberapa besar dosis efektif CM WJMSC dapat memperbaiki vaskularisasi pada ulkus kronis dengan menggunakan scan, doppler atau angiometri.
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk kasus kasus Ulkus akut seberapa efektif CM WJMSC dalam memperbaiki epitelisasi dan granulasi luka, dan bagaimana hasilnya, apakah bisa mengurangi jaringan parut maupun hiperpigmentasi yang sering terjadi pada trauma post inflamasi
- Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk kasus kasus luka akut, konsentrasi, dosis, bentuk sediaan untuk mempercepat penyembuhan luka akut, baik derajat 1 sampai derajat 4

Bagi Institusi:

- Turut membantu serta mendukung terlaksananya penelitian sejenis guna meningkatkan pengetahuan, referensi, serta mengoptimalkan pengobatan terhadap masyarakat yang lebih baik

### **DAFTAR PUSTAKA**

Alberts, C. J., Smith, W. C. S., Meima, A., Wang, L., & Richardus, J. H. (2011).

- Potential effect of the World Health Organization's 2011–2015 global leprosy strategy on the prevalence of grade 2 disability: a trend analysis. *Bulletin of the World Health Organization*. <https://doi.org/10.2471/blt.10.085662>
- Arno, A. I., Amini-Nik, S., Blit, P. H., Al-Shehab, M., Belo, C., Herer, E., ... Jeschke, M. G. (2014). Human Wharton's jelly mesenchymal stem cells promote skin wound healing through paracrine signaling. *Stem Cell Research and Therapy*. <https://doi.org/10.1186/scrt417>
- Balasubramanian, S., Thej, C., Walvekar, A., Swamynathan, P., Gupta, P. K., Seetharam, R. N., & Majumdar, A. S. (2017). Evaluation of the Secretome Profile and Functional Characteristics of Human Bone Marrow Mesenchymal Stromal Cells-Derived Conditioned Medium Suggest Potential for Skin Rejuvenation. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*. <https://doi.org/10.4236/jcdsa.2017.71010>
- Beckermann, B. M., Kallifatidis, G., Groth, A., Frommhold, D., Apel, A., Mattern, J., ... Herr, I. (2008). VEGF expression by mesenchymal stem cells contributes to angiogenesis in pancreatic carcinoma. *British Journal of Cancer*. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604508>
- Bluestein, D., & Javaheri, A. (2008). Pressure ulcers: Prevention, evaluation, and management. *American Family Physician*.
- Chang, C. P., Chio, C. C., Cheong, C. U., Chao, C. M., Cheng, B. C., & Lin, M. T. (2013). Hypoxic preconditioning enhances the therapeutic potential of the secretome from cultured human mesenchymal stem cells in experimental traumatic brain injury. *Clinical Science*. <https://doi.org/10.1042/CS20120226>
- Coleman, S., Gorecki, C., Nelson, E. A., Closs, S. J., Defloor, T., Halfens, R., ... Nixon, J. (2013). Patient risk factors for pressure ulcer development: Systematic review. *International Journal of Nursing Studies*. <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2012.11.019>
- Cruz, R. C. da S., Penna, M. L. F., Talhari, S., Bühner-Sékula, S., & Penna, G. O. (2017). Leprosy: Current situation, clinical and laboratory aspects, treatment history and perspective of the uniform multidrug therapy for all patients. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20176724>
- Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M. (2012). Acute and impaired wound healing: Pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: Normal and chronic wounds: Biology, causes, and approaches to care. *Advances in Skin and Wound Care*. <https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0>
- European Pressure Ulcer Advisory Panel and National Pressure Ulcer Advisory Panel, P. P. P. I. A. (2014). Prevention and Treatment of Pressure Ulcers: Quick Reference Guide. In *Clinical Practice Guideline*.
- Fernandes, T. R. M. D. O., Lopes, R. R. D. M., & Dos Santos, T. S. S. (2016). Leg ulcer in lepromatous leprosy - case report. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. <https://doi.org/10.1590/abd1806-4841.20164149>
- Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in Wound Care*. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
- Ghieh, F., Jurjus, R., Ibrahim, A., Geagea, A. G., Daouk, H., El Baba, B., ... Jurjus, A. (2015). The Use of Stem Cells in Burn Wound Healing: A Review. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2015/684084>
- Global leprosy update, 2016: accelerating reduction of disease burden. (2017). *Releve Epidemiologique Hebdomadaire*.

- González Sarasúa, J., Pérez López, S., Álvarez Viejo, M., Pérez Basterrechea, M., Fernández Rodríguez, A., Ferrero Gutiérrez, A., ... Otero Hernández, J. (2011). Treatment of pressure ulcers with autologous bone marrow nuclear cells in patients with spinal cord injury. *Journal of Spinal Cord Medicine*. <https://doi.org/10.1179/2045772311Y.0000000010>
- Gottrup, F. (2004). A specialized wound-healing center concept: Importance of a multidisciplinary department structure and surgical treatment facilities in the treatment of chronic wounds. *American Journal of Surgery*. [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(03\)00303-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(03)00303-9)
- Hemanta KK, A. C. (2017). *Text Book of Leprosy* (2nd ed.). New Delhi: Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Jin, H. J., Bae, Y. K., Kim, M., Kwon, S. J., Jeon, H. B., Choi, S. J., ... Chang, J. W. (2013). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood as sources of cell therapy. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms140917986>
- Kar, H. K., & Gupta, R. (2015). Treatment of leprosy. *Clinics in Dermatology*. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2014.07.007>
- Kemenkes, R. (2012). Pedomana Nasional Program Pengendalian Penyakit Kusta. In *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Kemenkes RI. (2018a). Data dan Informasi profil Kesehatan Indonesia 2018. *Data Dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia*.
- Kemenkes RI. (2018b). Hapuskan Stigma dan Diskriminasi terhadap Kusta. In *InfoDatin Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI*.
- Kemenkes RI. (2018c). Hasil Utama Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. *Kementrian Kesehatan Republik Indonesia*. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.12.001> Desember 2013
- Khosrotehrani K. (2013). Mesenchymal stem cell therapy in skin: Why and what for? *Exp Dermatol*, 22(5), 307–310.
- Kim, W. S., Park, B. S., Kim, H. K., Park, J. S., Kim, K. J., Choi, J. S., ... Sung, J. H. (2008). Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: Protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *Journal of Dermatological Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2007.08.004>
- Klopp, A. H., Gupta, A., Spaeth, E., Andreeff, M., & Marini, F. (2011). Concise review: Dissecting a discrepancy in the literature: Do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? *Stem Cells*. <https://doi.org/10.1002/stem.559>
- Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Percoraro, R. E., Rodeheaver, G., & Robson, M. C. (1994). Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Regeneration*. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1994.20305.x>
- Lee, J. H., Park, C. H., Chun, K. H., & Hong, S. S. (2015). Effect of adipose-derived stem cell-conditioned medium on the proliferation and migration of B16 melanoma cells. *Oncology Letters*. <https://doi.org/10.3892/ol.2015.3360>
- Li, C. Y., Wu, X. Y., Tong, J. B., Yang, X. X., Zhao, J. L., Zheng, Q. F., ... Ma, Z. J. (2015). Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Research and Therapy*. <https://doi.org/10.1186/s13287-015-0066-5>
- Liang, X., Ding, Y., Zhang, Y., Tse, H. F., & Lian, Q. (2014). Paracrine mechanisms of mesenchymal stem cell-based therapy: Current status and perspectives. *Cell*

- Transplantation*. <https://doi.org/10.3727/096368913X667709>
- Liu, Y. L., Liu, W. H., Sun, J., Hou, T. J., Liu, Y. M., Liu, H. R., ... Deng, F. M. (2014). Mesenchymal stem cell-mediated suppression of hypertrophic scarring is p53 dependent in a rabbit ear model. *Stem Cell Research and Therapy*. <https://doi.org/10.1186/scrt526>
- Maria, V., Camila, S., Fred, B., Lorena, B., Mariana, C., & Mariana, P. (2013). Leprosy: Care for the prevention of plantar ulcer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 68(4), AB120. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2012.12.496>
- McDaniel, J. C., & Browning, K. K. (2014). Smoking, chronic wound healing, and implications for evidence-based practice. *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*. <https://doi.org/10.1097/WON.0000000000000057>
- Moorthy BN, Kumar P, Chatura KR, Chandrasekhar HR, B. P. (2001). Histopathological correlation of skin biopsies in leprosy. *Ind J Dermatol Venereol Leprol*, 67(6), 299–301.
- Mosby's medical dictionary. (2010). *Choice Reviews Online*. <https://doi.org/10.5860/choice.47-2356>
- Nazarov, I., Lee, J. W., Soupene, E., Etemad, S., Knapik, D., Green, W., ... Serikov, V. B. (2012). Multipotent Stromal Stem Cells from Human Placenta Demonstrate High Therapeutic Potential. *STEM CELLS Translational Medicine*. <https://doi.org/10.5966/sctm.2011-0021>
- Ojeh, N., Pastar, I., Tomic-Canic, M., & Stojadinovic, O. (2015). Stem cells in skin regeneration, wound healing, and their clinical applications. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms161025476>
- Park, B. S., Jang, K. A., Sung, J. H., Park, J. S., Kwon, Y. H., Kim, K. J., & Kim, W. S. (2008). Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging. *Dermatologic Surgery*. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2008.34283.x>
- Parolini, O., & M. Soncini. (2006). Human Placenta: a Source of Progenitor/Stem Cells? *J Reproduktionsmed Endokrinol*, 3(2), 117–126.
- Pawitan, J. A. (2014). Prospect of stem cell conditioned medium in regenerative medicine. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2014/965849>
- Puri, V., Venkateshwaran, N., & Khare, N. (2012). Trophic ulcers-Practical management guidelines. *Indian Journal of Plastic Surgery*. <https://doi.org/10.4103/0970-0358.101317>
- Riyaz, N., & Sehgal, V. N. (2017). Leprosy: Trophic skin ulcers. *SKINmed*.
- Sehgal, V. N., Prasad, P. V. S., Kaviarasan, P. K., & Rajan, D. (2014). Trophic skin ulceration in leprosy: Evaluation of the efficacy of topical phenytoin sodium zinc oxide paste. *International Journal of Dermatology*. <https://doi.org/10.1111/ijd.12457>
- Seong, M. K., Jung, Y. L., Sang, I. P., Chang, H. J., Ji, H. O., Jeong, M., ... Jeun, S. S. (2008). Gene therapy using TRAIL-secreting human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells against intracranial glioma. *Cancer Research*. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-0451>
- Singh, R., Singh, R., Rohilla, R. K., Siwach, R., Verma, V., & Kaur, K. (2010). Surgery for pressure ulcers improves general health and quality of life in patients with spinal cord injury. *Journal of Spinal Cord Medicine*. <https://doi.org/10.1080/10790268.2010.11689718>

- Sinno, H., & Prakash, S. (2013). Complements and the Wound Healing Cascade: An Updated Review. *Plastic Surgery International*. <https://doi.org/10.1155/2013/146764>
- Society, T. W. . (2006). Chronic Wound Care Guidelines. *Florida : The WHS*.
- Tang, S. F. T., Chen, C. P. C., Lin, S. C., Wu, C. K., Chen, C. K., & Cheng, S. P. (2015). Reduction of plantar pressures in leprosy patients by using custom made shoes and total contact insoles. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. [https://doi.org/10.1016/S0303-8467\(15\)30005-6](https://doi.org/10.1016/S0303-8467(15)30005-6)
- Turner, N. J., & Badylak, S. F. (2015). The Use of Biologic Scaffolds in the Treatment of Chronic Nonhealing Wounds. *Advances in Wound Care*. <https://doi.org/10.1089/wound.2014.0604>
- UNAIDS. (2016). Global AIDS Update 2016. *World Health Organization*. [https://doi.org/ISBN 978-92-9253-062-5](https://doi.org/ISBN%20978-92-9253-062-5)
- Utomo, W., Dewi, Y. I., & Abdurrasyid, T. (2014). Efektifitas Nigella Sativa Oil Untuk Mencegah Terjadinya Ulkus Dekubitus Pada Pasien Tirah Baring Lama. *Jurnal Ners Indonesia*, 2(2), 151–157.
- Vizoso, F. J., Eiro, N., Cid, S., Schneider, J., & Perez-Fernandez, R. (2017). Mesenchymal stem cell secretome: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. <https://doi.org/10.3390/ijms18091852>
- Werdin, F., Tennenhaus, M., Schaller, H.-E., & Rennekampff, H.-O. (2009). Evidence-based management strategies for treatment of chronic wounds. *Eplasty*.
- WHO. (2016a). Global Leprosy Strategy 2016-2020: accelerating towards a leprosy-free world. In *Weekly Epidemiological record*. <https://doi.org/https://policies.worldbank.org/sites/ppf3/PPFDocuments/090224b0822f7384.pdf>
- WHO. (2016b). Global Leprosy Strategy 2016-2020. In *World Health Organization*. <https://doi.org/978-92-9022-509-6>
- World Health Organization. (2019). Global leprosy update, 2018: moving towards a leprosy free world. *Weekly Epidemiological Record*. [https://doi.org/94\(35/36\), 389 - 411](https://doi.org/94(35/36),389-411)
- Xu, Y., Guo, S., Wei, C., Li, H., Chen, L., Yin, C., & Zhang, C. (2016). The Comparison of Adipose Stem Cell and Placental Stem Cell in Secretion Characteristics and in Facial Antiaging. *Stem Cells International*. <https://doi.org/10.1155/2016/7315830>
- Yolanda, M.-M. (2014). Adult Stem Cell Therapy in Chronic Wound Healing. *Journal of Stem Cell Research & Therapy*. <https://doi.org/10.4172/2157-7633.1000162>