

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-MSCs)
TERHADAP KADAR IL-1 β DAN IGF-1**

**(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus model *Alopecia-like* yang
diinduksi Fluconazole)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Evan Christian Sumarno
MBK2322010405

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

TESIS

**PENGARUH PEMBERIAN *EXOSOME HYPOXIA*
MESENCHYMAL STEM CELL (EH-MSCs) TERHADAP
KADAR IL-1 β DAN IGF-1
(Studi eksperimental *In Vivo* Pada Tikus model *Alopecia-like* yang
diinduksi Fluconazole)**

Disusun oleh

dr. Evan Christian Sumarno

MBK2322010405

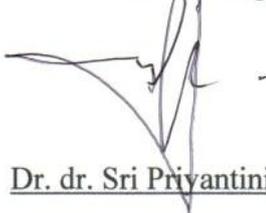
yang dipertahankan didepan Tim Penguji

pada Febuari 2025

dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A

NIP. 210.105.097

Pembimbing II



Dr. dr. Chodidjah. M.Kes

NIP. 210.186.023

Mengetahui,

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



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B FINACS

NIP. 210.113.160

PERNYATAAN

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

Semarang, Januari 2025



(dr. Evan Christian S)

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan izin-NYA, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis yang berjudul “**Pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH- MSCs) terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 (Studi eksperimental In Vivo Pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi Fluconazole)**”

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

Dengan demikian, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan ucapan terima kasih yang mendalam kepada:

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH sekaligus selaku penguji III
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr. dr. Eko Setiawan Sp. B FINACS sekaligus selaku penguji I.
4. Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Dr. dr. Joko Wahyu, M.Kes selaku penguji II yang telah memberikan banyak saran dalam penyelesaian tesis.
7. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.

8. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
9. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
10. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan, serta referensi yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih memiliki banyak kekurangan dan memerlukan pengembangan lebih lanjut agar benar-benar bermanfaat. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk penyempurnaan proposal tesis ini, serta sebagai masukan bagi penulis dalam penelitian dan penulisan karya ilmiah di masa depan.

Akhir kata , penulis menyampaikan harapan agar karya ini dapat memberikan manfaat yang berarti, baik bagi pengembangan ilmu pengetahuan maupun sebagai referensi bagi penelitian di masa mendatang. . Semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak yang memerlukan dan memberikan kontribusi positif terhadap kemajuan ilmu yang berkelanjutan

Semarang, Januari 2025

Penulis

(dr. Evan Christian S)

ABSTRAK

Latar Belakang : Alopecia adalah kondisi medis yang menyebabkan hilangnya rambut, baik secara bertahap maupun tiba-tiba, dengan dampak signifikan secara fisik dan psikologis. Peningkatan kadar *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β) sering dikaitkan dengan kerusakan folikel akibat peradangan, sementara penurunan kadar *Insulin-Like Growth Factor-1* (IGF-1) dapat mengganggu fase pertumbuhan rambut (anagen). *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSCs), yang kaya akan protein dan miRNA bioaktif, memiliki potensi untuk meregulasi kadar IL-1 β dan IGF-1, sehingga mendukung regenerasi folikel rambut. Studi ini bertujuan mengevaluasi efek EH-MSCs pada kadar IL-1 β dan IGF-1 pada model tikus *alopecia-like*.

Metode : Studi eksperimental *Post Test Only Control Group Design*. Subyek ialah 30 tikus wistar jantan model *alopecia like* diinduksi *flukonazole* dibagi dalam 5 kelompok dengan metode randomisasi. Validasi didapatkan dengan pemeriksaan makroskopik dan hematoksin eosin (HE). Kelompok sehat, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok EH-MSCs dosis 100 μ L dan kelompok EH-MSCs dosis 200 μ L. Kadar IL-1 β dan IGF-1 diukur menggunakan ELISA. ANOVA satu arah dengan pengujian perbedaan kelompok menggunakan Tamhane *post hoc* diterapkan dalam pemeriksaan statistik perbedaan antar kelompok perlakuan.

Hasil Penelitian : Dibandingkan dengan kelompok kontrol, kadar IL-1 β pada K4 (450,47 \pm 32,91) dan K5 (271,90 \pm 11,87), lebih rendah. Disisi lain, kadar IGF-1 K4 (27,91 \pm 0,31) dan K5 (31,04 \pm 1,58) lebih tinggi dengan kelompok kontrol, IGF-1 meningkat seiring dengan peningkatan dosis EH-MSCs.

Kesimpulan : Pemberian EH EH-MSCs dosis 100 μ L dan 200 μ L memberikan perubahan bermakna pada penurunan kadar IL-1 β dan peningkatan kadar IGF-1 pada tikus model *alopecia-like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Kata Kunci : *Alopecia-like*, IL-1 β , IGF-1, *Exosome*

ABSTRACT

Background: Alopecia is a medical condition that causes hair loss, either gradually or suddenly, with significant physical and psychological impacts. Increased levels of Interleukin-1 Beta (IL-1 β) are often associated with follicular damage due to inflammation, while decreased levels of Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) can disrupt the hair growth phase (anagen). Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (EH-MSCs), rich in bioactive proteins and miRNAs, has the potential to regulate IL-1 β and IGF-1 levels, thereby supporting follicular regeneration. This study aims to evaluate the effects of EH-MSCs on IL-1 β and IGF-1 levels in an alopecia-like mouse model.

Method: An experimental study using a Post Test Only Control Group Design. The subjects were 30 male Wistar rats modeled for alopecia-like conditions induced by fluconazole, divided into 5 groups through randomization. Validation was performed using macroscopic examination and hematoxylin-eosin (HE) staining. The groups consisted of healthy control, negative control, positive control, EH-MSCs 100 μ L dose group, and EH-MSCs 200 μ L dose group. Levels of IL-1 β and IGF-1 were measured using ELISA. One-way ANOVA followed by Tamhane post hoc test was applied to statistically analyze differences between treatment groups..

Results: Compared to the control group, IL-1 β levels in K4 (450.47 ± 32.91) and K5 (271.90 ± 11.87) were lower. On the other hand, IGF-1 levels in K4 (27.91 ± 0.31) and K5 (31.04 ± 1.58) were higher than those in the control group, with IGF-1 levels increasing proportionally with higher doses of EH-MSCs.

Conclusion: The administration of EH-MSCs at doses of 100 μ L and 200 μ L significantly reduced IL-1 β levels and increased IGF-1 levels in alopecia-like rat models compared to the control group.

Keywords: Alopecia-like, IL-1 β , IGF-1, Exosome

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Penelitian.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Umum	4
1.3.2 Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Teoritis	5
1.4.2 Praktis	5
1.5 Originalitas Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 <i>Interleukin-1 Beta</i>	8
2.1.1 Definisi	8
2.1.2 Peran IL-1 β pada Alopecia	9
2.2 <i>Insulin-like Growth Factor -1</i>	10
2.2.1 Definisi	10
2.2.2 Peran IGF-1 pada Alopecia	11

2.3 Alopecia	12
2.3.1 Alopecia Areata.....	12
2.3.2 Alopecia lainnya	13
2.3.3 Faktor Penyebab Alopecia	15
2.4 Folikel Rambut	17
2.4.1 Anatomi Folikel Rambut.....	17
2.4.2 Siklus Folikel Rambut.....	18
2.5 Fluconazole	20
2.5.1 Definisi	20
2.5.2 Peran Fluconazole dalam Alopecia	21
2.6 Mesenchymal Stem Cell (MSCs).....	22
2.6.1 Definisi.....	22
2.6.2 Hypoxia	23
2.7 Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell	24
2.7.1 Definisi.....	24
2.7.2 Kandungan Exosome MSC	24
2.7.3 Metode Isolasi Exosome MSC	26
2.8 Pengaruh Exosome Hypoxia MSC terhadap IL-1 β dan IGF-1....	28
2.9 Pengaruh Exosome Hypoxia MSC terhadap alopecia.....	29
III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	30
3.1 Kerangka Teori	30
3.2 Kerangka Konsep	32
3.3 Hipotesis	33
IV. METODE PENELITIAN	34
4.1 Jenis penelitian dan rancangan penelitian	34
4.2 Variable penelitian dan Definisi Operasional	34
4.3 Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	37
4.4 Teknik Pengambilan Sampel Penelitian	38
4.5 Besar sampel	39
4.6 Alat dan Bahan	40
4.7 Cara Penelitian.....	41

4.8 Tempat dan Waktu Penelitian	48
4.9 Analisa Data	48
4.10 Alur penelitian	50
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	51
5.1 Hasil Penelitian.....	51
5.1.1 Hasil Validasi EH-MSCs.....	51
5.1.2 Hasil Validasi <i>Alopecia-Like</i>	53
5.1.3 Kadar IL-1 β	55
5.1.4 Kadar IGF-1.....	58
5.2 Pembahasan Hasil Penelitian.....	60
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	65
6.1 Kesimpulan.....	65
6.2 Saran.....	65
DAFTAR PUSTAKA.....	66
LAMPIRAN.....	72



DAFTAR SINGKATAN

AA	: Alopecia Areata
ADSC-Exos	: Adipose-Derived Stem Cell Exosomes
DHT	: Dihydrotestosterone
DLK1	: Delta-like 1 homolog
EFG	: Epidermal Growth Factor
EH-MSCs	: Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell
FDA	: Food and Drug Administration
FGF	: Fibroblast Growth Factor
GH	: Growth Hormone
HIF	: Hypoxic Inducible Factor
IFN- γ	: Interferon-Gamma
IGF-1	: Insulin-Like Growth Factor- 1
IGF-1R	: Insulin-Like Growth Factor- 1 Receptor
IGFBP-1	: Insulin-like Growth Factor Binding Protein-1
IKK	: I kappa B kinase
IL- 1R1	: Interleukin -1 Receptor Type 1
IL- 1 β	: Interleukin -1 Beta
IRAK1	: IRAK1 (Interleukin-1 receptor-associated kinase 1),
MAPK/ERK	: Mitogen Activated Protein Kinase / Extracellular-Signal- Regulated Kinase
miRNA	: Micro Ribonucleic Acid
MSC	: Mesenchymal Stem Cell
NF-kB	: Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B Cells
PEG	: Polyethylene Glycol

PDGF	: <i>Platelet-Derivet Growth Factor</i>
PGE2	: <i>Prostaglandin E2</i>
PI3K	: <i>Phosphoinositide-3-kinase</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor Alpha</i>
TRAF6	: <i>TNF receptor-associated factor 6</i>
VEFG	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian	5
Tabel 5.1 Data Hasil Analisis Kadar IL-1 β dan IGF-1	56
Tabel 5.2 Perbedaan rerata kadar IL-1 β antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane.....	57
Tabel 5.3 Data Hasil Analisis Kadar IL-1 β dan IGF-1	58
Tabel 5.4 Perbedaan rerata kadar IGF-1 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane	59



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Anatomi Rambut	18
Gambar 2.2. Siklus Rambut	20
Gambar 2.3. Sumber <i>Mesenchymal Stem Cell</i>	23
Gambar 2.4. Peran <i>Exosome MCS</i> dalam <i>Alopecia</i>	29
Gambar 3.1. Kerangka Teori	32
Gambar 3.1. Kerangka Konsep	32
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian	34
Gambar 4.2. Isolasi MSC dan Pembuatan Exosome	43
Gambar 4.3. Alur Penelitian.....	50
Gambar 5.1 Morfologi MSC. (A)Morfologi MSC berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B)Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD90, CD29, CD45, dan CD31.....	51
Gambar 5.2 (A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B)Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x.	52
Gambar 5.3 Hasil Analisis Kadar Exosome menggunakan marker CD63 dan CD9	53
Gambar 5.4 Validasi Makroskopis <i>Alopecia-like</i>	54

Gambar 5.5 Validasi mikroskopis Tikus sehat dan Alopecia-like menggunakan HE
.....54

Gambar 5.6 Grafik Kadar IL-1 β pada jaringan kulit setelah pemberian EH-MSCs
.....57

Gambar 5.7 Grafik Kadar IGF-1 pada jaringan kulit setelah pemberian EH-MSCs
.....60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Penelitian.....	72
Lampiran 2. Ethical Clearance.....	75
Lampiran 3. Surat Keterangan Penelitian	76



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alopecia adalah kondisi medis yang ditandai dengan hilangnya rambut, baik secara bertahap maupun tiba-tiba, di berbagai bagian tubuh, terutama di kulit kepala.¹⁷ Kondisi ini bisa dialami oleh siapa saja, baik pria maupun wanita, dan dapat terjadi pada berbagai usia.¹⁸ Penyebab *alopecia* beragam, termasuk faktor genetik, faktor nutrisi, stres, penyakit tertentu seperti autoimun, dan penggunaan obat-obatan tertentu.^{2,4} Salah satu bentuk *alopecia* yang paling umum adalah *Alopecia Areata* (AA), suatu kondisi autoimun di mana sistem kekebalan tubuh menyerang folikel rambut, menyebabkan rambut rontok di area tertentu.¹⁹ Selain itu, terdapat jenis *alopecia* lainnya, seperti *Androgenetic Alopecia* yang lebih dikenal sebagai kebotakan pola pria atau wanita dan *Traction Alopecia*, yang disebabkan oleh kerusakan folikel akibat tarikan rambut yang terus menerus dari gaya rambut tertentu.¹⁹ *Alopecia* sangat berdampak pada fisik terutama masalah kecantikan pada Wanita oleh karena itu memiliki efek psikologis yang signifikan.²⁰ Kehilangan rambut dapat menyebabkan stres emosional, berkurangnya rasa percaya diri, dan bahkan depresi pada beberapa individu.² Oleh karena itu, upaya pengobatan untuk mengatasi *alopecia* sangat penting untuk meningkatkan kualitas hidup penderita. Saat ini, pengobatan *alopecia* masih menjadi tantangan karena sulit diobati, hanya finasteride dan minoxidil yang telah disetujui oleh Food and Drug Administration (FDA) sebagai obat untuk pengobatan *alopecia*.²⁰⁻²³ Penggunaan finasteride dalam jangka

panjang dapat menimbulkan beberapa efek samping terhadap kesehatan seksual dan reproduksi.^{20,21} Sedangkan penggunaan minoxidil menyebabkan efek samping seperti iritasi kulit dan alergi, serta tidak mengatasi penyebab utama kerontokan rambut yang terkait dengan faktor genetik, hormonal, atau kekebalan tubuh. Sehingga pengobatan pada *alopecia* masih perlu di teliti untuk mengurangi risiko kekambuhan dan resistensi.^{20–22,24,25}

Peningkatan kadar *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β) sering dikaitkan dengan peradangan berlebihan pada folikel rambut, yang dapat merusak struktur folikel dan menyebabkan kerontokan rambut.²⁶ Hal ini terutama terlihat pada penyakit autoimun seperti *Alopecia Areata*, di mana tingginya kadar IL-1 β dapat memperburuk proses autoimun dengan menyerang folikel rambut dan mempercepat kerontokan.²⁶ Sementara itu, penurunan kadar *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) dapat mengganggu fase anagen, mempercepat transisi ke fase katagen (fase penurunan) dan telogen (fase istirahat), yang menyebabkan rambut rontok dan menghambat pertumbuhannya.^{5–7} Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kekurangan IGF-1 berkontribusi pada perkembangan *Androgenetic Alopecia*.^{6,27} Salah satu area penelitian yang menarik adalah peran faktor pertumbuhan seperti *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) dan sitokin inflamasi seperti *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β) dalam *Alopecia*. IGF-1 berperan dalam membantu mempromosikan fase anagen (pertumbuhan) dan mencegah apoptosis sel-sel folikel rambut, sementara IL-1 β memicu respon inflamasi yang merusak folikel rambut.^{5,6,26,28–30}

Di Indonesia, studi pada tahun 2009-2011 juga menunjukkan bahwa

Alopecia Androgenetic adalah gangguan rambut yang paling umum (39,7%), diikuti oleh *Telogen Effluvium* (34,5%) dan *Alopecia Areata* (11,2%).³¹ *Telogen Effluvium* lebih sering dilaporkan pada wanita, terutama setelah melahirkan (*telogen gravidarum*), mempengaruhi sekitar sepertiga hingga setengah wanita pasca-kehamilan.³¹

Pemberian *Exosome* dari Sel Punca Adiposa (ADSC- Exos) pada *Alopecia* dapat meningkatkan pertumbuhan kembali rambut dengan regulasi jalur pensinyalan miR-22, Wnt / β -catenin, dan TNF- α pada *alopecia* yang dimediasi imun.³² *Exosome Hypoxia* MSC adalah mikrovesikel yang diproduksi oleh MSC dalam kondisi *Hypoxia*.³³ Studi terbaru menunjukkan bahwa EH-MSCs memiliki potensi untuk mengurangi *alopecia* melalui berbagai mekanisme, termasuk melalui jalur protein dan miRNA tertentu.³⁴ *Exosome* MSC mengandung berbagai protein, seperti faktor pertumbuhan dan sitokin, yang dapat merangsang pertumbuhan rambut dan memodulasi siklus pertumbuhan rambut.³⁴ Selain itu, *Exosome* MSC juga mengandung miRNA yang dapat mempengaruhi ekspresi gen yang terlibat dalam regulasi siklus rambut.³²⁻³⁴ Penelitian lain menunjukkan bahwa *Exosome* MSC mampu meregulasi IL-1 β dan IGF-1,^{11,35-37} tetapi penelitian tentang pengaruh *Exosome* MSC terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 masih sangat terbatas dan memerlukan penelitian lebih lanjut. Pemberian *Exosome* dari *Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* (EH-MSCs) diharapkan dapat menjadi solusi potensial untuk mengatasi *alopecia*. *Exosome Hypoxia* MSC yang diberikan pada Tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole diharapkan dapat menurunkan kadar IL-1 β dan meningkatkan kadar IGF-1. Berdasarkan latar

belakang tersebut ,saya mengusulkan judul penelitian “ *Pengaruh Pemberian Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell (EH-MSCs) terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1*”

1.2. Rumusan Penelitian

Apakah terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 pada Tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah membuktikan pengaruh pemberian EH-MSCs terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 pada model tikus galur Wistar dengan *alopecia like* yang diinduksi paparan fluconazole

1.3.2. Tujuan khusus

- a) Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan kadar IL-1 β antara kelompok Tikus yang diberikan *Exosome Hypoxia MSC* dosis 100 μ g/kgbb dan 200 μ g/kgbb dengan kelompok kontrol pada tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole.
- b) Penelitian ini bertujuan membuktikan perbedaan kadar IGF-1 antara kelompok Tikus yang diberikan *Exosome Hypoxia MSC* dosis 100 μ g/kgbb

dan 200 µg/kgbb dengan kelompok kontrol pada tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap kadar Il-1 β dan IGF-1 pada Tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole.

1.4.2. Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini dapat memberikan pengetahuan yang berguna bagi masyarakat mengenai kegunaan EH-MSCs untuk mengobati *alopecia*

1.5. Originalitas Penelitian

Tabel 1. Originalitas penelitian

Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
Thompson III GR, Krois CR, Affolter VK, Everett AD, Katarina Varjonen E, Sharon VR, <i>et al</i> ³⁸	<i>Examination of Fluconazole- Induced Alopecia in an Animal Model and Human Cohort</i>	Eksperi mental <i>in vivo</i>	Pemberian fluconazole harian di hari ke 7 meningkatkan fase telogen

Seok-Yong Ahn, M.D et al. ⁷	<i>Effect of IGF-I on hair growth is related to the anti-apoptotic effect of IGF-I and up-regulation of PDGF-A and PDGF-B</i>	Eksperimen mental <i>in vivo</i>	Pada folikel rambut manusia yang dikultur secara organ, IGF-1 memiliki efek positif pada laju pertumbuhan rambut linear. IGF-1 mempertahankan fase anagen. IGF-1 meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan yang berasal dari platelet (PDGF)-A, PDGF-B, dan rasio ekspresi Bel-2/Bax.
Mijin Kim et al. ¹¹	<i>Exosomes from IL-1β-Primed Mesenchymal Stem Cells Inhibited IL-1β- and TNF-α-Mediated Inflammatory Responses in Osteoarthritic SW982 Cells</i>	Eksperimen mental <i>in vitro</i>	<i>Exosome</i> dari sel punca mesenkimal (MSC) yang dipicu oleh IL-1 β menunjukkan aktivitas antiinflamasi yang signifikan pada sel SW982 osteoarthritis. Aktivitas <i>Exosome</i> MSC ini dimediasi oleh miRNA seperti miR-147b dan melibatkan penghambatan jalur NF- κ B.
Yanqiao Li et al. ³²	<i>Exosomes Secreted from Adipose-Derived Stem Cells Are a Potential Treatment Agent for Immune-Mediated Alopecia</i>	Eksperimen mental <i>in vitro</i>	Terapi ADSC-Exos meningkatkan pertumbuhan kembali rambut dengan regulasi jalur pensinyalan miR-22, Wnt / β -catenin, dan TNF- α pada alopecia yang dimediasi imun.

Dong Ho Bak <i>et al.</i> ³⁰	<i>Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells engineered to overexpress growth factors accelerate outcomes in hair growth</i>	Eksperi mental <i>in vitro</i>	HUCB-MSCs meningkatkan kelangsungan hidup dan protein untuk induksi rambut secara <i>in vitro</i> . hUCB-MSC menginduksi faktor pertumbuhan rambut seperti <i>Insulin-like growth factor binding protein-1</i> (IGFBP-1) dan <i>vascular endothelial growth factor</i> (VEGF) Secara keseluruhan, hUCB-MSC meningkatkan pertumbuhan rambut melalui mekanisme parakrin.
Ch Huh <i>et al.</i> ³⁷	<i>Exosome for Hair Regeneration: from bench to bedside</i>	Eksperi mental <i>in Vivo</i>	<i>Exosome</i> dapat merangsang proliferasi folikel rambut, mempercepat transisi dari fase telogen ke anagen, dan melindungi sel-sel folikel rambut dari ROS dan androgen serta peningkatan kepadatan rambut dan ketebalan rata-rata dalam studi <i>in vivo</i>

Berdasarkan data pada tabel 1, didapatkan bahwa belum terdapat penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* secara injeksi pada dosis 100 $\mu\text{L}/\text{kgBB}$ dan 200 $\mu\text{L}/\text{kgBB}$ terhadap penurunan kadar IL-1 β dan peningkatan kadar IGF-1 pada model tikus Wistar dengan *alopecia-like* yang diinduksi secara oral menggunakan fluconazole sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Interleukin-1 Beta*

2.1.1. Definisi

Interleukin-1 Beta (IL-1 β) adalah salah satu sitokin proinflamasi utama yang berperan penting dalam respons imun dan peradangan.³⁹ IL-1 β adalah bagian dari keluarga IL-1, yang terdiri dari beberapa molekul sitokin yang berfungsi sebagai mediator dalam proses inflamasi dan pertahanan tubuh.³⁹ Molekul ini diproduksi terutama oleh makrofag, monosit, dan beberapa jenis sel imun lainnya sebagai respons terhadap infeksi atau kerusakan jaringan.^{8,40}

IL-1 β pertama kali disintesis dalam bentuk tidak aktif yang disebut pro-IL-1 β , yang memerlukan aktivasi oleh enzim caspase-1 melalui jalur inflammasome.⁴⁰ Jalur inflammasome adalah sistem yang mendeteksi bahaya atau kerusakan seluler dan mengaktifkan caspase-1, yang kemudian memotong pro-IL-1 β menjadi bentuk aktifnya.⁴⁰ Setelah diaktifkan, IL-1 β dilepaskan dari sel dan berikatan dengan reseptor spesifik di permukaan sel target, yang dikenal sebagai *Interleukin-1 Receptor Type 1* (IL-1R1).⁴⁰

Ikatan ini mengaktifkan serangkaian jalur sinyal di dalam sel, termasuk jalur NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells).⁴¹ Jalur NF- κ B ini adalah jalur utama yang mengatur respons inflamasi dengan memicu ekspresi gen yang menghasilkan berbagai sitokin dan mediator inflamasi lainnya.⁴¹ Selain itu, IL-1 β juga berperan dalam merangsang demam sebagai

respons terhadap infeksi, karena sitokin ini menginduksi sintesis *prostaglandin E2* (PGE2) di hipotalamus, yang mengatur suhu tubuh.⁹

Dalam kondisi normal, IL-1 β memainkan peran penting dalam melindungi tubuh dari infeksi dan mendukung proses penyembuhan luka. Namun, produksi IL-1 β yang berlebihan atau regulasi yang tidak tepat dapat menyebabkan peradangan yang berlebihan, yang berkontribusi terhadap berbagai penyakit inflamasi kronis, seperti rheumatoid arthritis, aterosklerosis, dan penyakit inflamasi autoimun lainnya.⁹ Oleh karena itu, IL-1 β sering menjadi target terapi dalam pengobatan penyakit inflamasi untuk mengurangi kerusakan jaringan akibat respons imun yang tidak terkontrol.

2.1.2. Peran IL-1 β pada *Alopecia*

IL-1 β berperan penting dalam kerontokan rambut yang terjadi pada *alopecia*, terutama melalui aktivasi jalur NF- κ B.⁴² Jalur ini merupakan salah satu jalur sinyal utama yang terlibat dalam respons inflamasi dan imun, serta berkontribusi pada kerusakan jaringan dan folikel rambut.⁴² Saat IL-1 β berikatan dengan reseptor IL-1R1 pada sel-sel folikel rambut, ia memicu serangkaian reaksi yang mengaktifkan kompleks *I kappa B kinase* (IKK).⁴¹ Aktivasi IKK menyebabkan fosforilasi I κ B, protein penghambat yang menahan NF- κ B dalam sitoplasma.⁴¹

Setelah I κ B terfosforilasi, ia mengalami degradasi melalui sistem proteasom, yang membebaskan NF- κ B untuk berpindah ke inti sel.⁴¹ Di dalam inti sel, NF- κ B berikatan dengan DNA dan meningkatkan ekspresi gen-gen proinflamasi, seperti TNF- α , IL-6, dan molekul adhesi seluler, yang semuanya

berperan dalam memperkuat peradangan di sekitar folikel rambut. Peningkatan peradangan ini mengganggu siklus pertumbuhan rambut, terutama dengan mempercepat transisi dari fase anagen (pertumbuhan) ke fase telogen (istirahat), yang pada akhirnya menyebabkan kerontokan rambut.⁴² Mekanisme ini menciptakan lingkungan inflamasi kronis yang memperpanjang kerusakan folikel dan mencegah regenerasi rambut secara normal

2.2. *Insulin-like Growth Factor-1*

2.2.1. Definisi

Insulin-like Growth Factor-1, atau yang juga disebut somatomedin-C, adalah protein yang terdiri dari 70 asam amino dan memiliki kesamaan struktur dengan pro-insulin.⁴³ Ekspresi gen IGF-1 secara tradisional dianggap diatur oleh stimulasi *Growth Hormone* (GH), terutama di hati. Namun, IGF-1 juga diekspresikan di hampir semua jaringan tubuh.⁴³ Stimulasi GH diketahui mengatur IGF-1 dan juga beberapa protein pengikat IGF (IGFBPs), yang berfungsi dalam mengontrol aktivitas IGF-1.⁴⁴ Reseptor IGF-1 (IGF1R) merupakan reseptor tirosin kinase transmembran yang terdiri dari dua subunit α dan dua subunit β yang disintesis dari satu prekursor mRNA.⁴³ Aktivasi IGF1R mengakibatkan autofosforilasi tirosin kinase, yang kemudian memicu aktivasi beberapa jalur sinyal di hilir, semuanya berperan dalam merangsang pertumbuhan dan proliferasi berbagai populasi sel.⁴³ Misalnya, IGFs merangsang proliferasi, kelangsungan hidup, migrasi fibroblas, serta produksi faktor pertumbuhan lain seperti platelet-derived growth factors A dan B.^{7,45}

2.2.2. Peran IGF-1 pada *Alopecia*

IGF-1 dikenal sebagai faktor pertumbuhan yang paling efektif dalam memperpanjang fase anagen (fase pertumbuhan) pada folikel rambut dan mencegah transisi dini ke fase telogen (fase istirahat), yang dapat menyebabkan kerontokan rambut atau *alopecia*.^{7,43,45} Ekspresi IGF1R ditemukan pada matriks rambut dan keratinosit pada lapisan akar luar folikel rambut kulit kepala manusia, di mana sinyalnya mendorong proliferasi sel dan mempertahankan fase anagen.⁴³ IGF-1 berinteraksi dengan berbagai reseptor dan jalur sinyal lain yang berperan dalam menjaga keseimbangan pertumbuhan dan regenerasi folikel rambut.¹⁰ Aktivasi reseptor IGF-1 (IGF1R) memicu jalur sinyal seperti PI3K/Akt dan MAPK, yang berfungsi untuk meningkatkan proliferasi sel, kelangsungan hidup sel, dan produksi protein yang diperlukan untuk pemeliharaan struktur folikel rambut.^{10,27} Selain itu IGF-1 juga berinteraksi dengan jalur Wnt/ β -catenin, yang merupakan salah satu jalur utama dalam regulasi pertumbuhan dan regenerasi folikel rambut.²⁵ Aktivasi jalur ini mengakibatkan stabilisasi β -catenin, yang kemudian berpindah ke inti sel dan mengatur ekspresi gen-gen yang mendukung proliferasi sel dan perkembangan folikel rambut.²⁵ Jalur Wnt/ β -catenin bekerja secara sinergis dengan jalur IGF-1 untuk mempertahankan fase anagen dan mencegah kerontokan rambut.²⁵ Dengan demikian, IGF-1 memainkan peran penting dalam mencegah *alopecia* dan mendukung pertumbuhan rambut yang sehat.

2.3. Alopecia

2.3.1. Alopecia Areata

Alopecia Areata adalah kondisi autoimun yang ditandai dengan kerontokan rambut secara tiba-tiba dan tidak merata pada kulit kepala atau bagian tubuh lainnya.⁴⁶ Penyakit ini terjadi ketika sistem kekebalan tubuh menyerang folikel rambut, yang menyebabkan peradangan dan kerusakan pada folikel, sehingga folikel tidak dapat menghasilkan rambut.^{46,47} Kondisi ini dapat terjadi pada siapa saja, tanpa memandang usia, jenis kelamin, atau ras, meskipun lebih sering muncul pada usia muda atau dewasa awal.^{46,47} *Alopecia Areata* ditandai dengan munculnya bercak-bercak kebotakan berbentuk bulat atau oval yang halus dan tidak berwarna di kulit kepala.²⁰ Ukuran dan lokasi bercak kebotakan ini bisa sangat bervariasi, dari kecil hingga menyebar ke seluruh kulit kepala atau bahkan seluruh tubuh.²⁰ Penyebab pasti *Alopecia Areata* belum sepenuhnya dipahami, tetapi penelitian menunjukkan bahwa faktor genetik dan lingkungan berperan dalam perkembangan penyakit ini.⁴⁷ Orang yang memiliki riwayat keluarga dengan penyakit autoimun lainnya, seperti diabetes tipe 1, rheumatoid arthritis, atau lupus, memiliki risiko lebih tinggi untuk mengalami *Alopecia Areata*.^{20,47} Faktor pemicu lingkungan seperti stres emosional, infeksi virus, atau trauma fisik juga dapat memicu timbulnya penyakit ini. Pada tingkat molekuler, *Alopecia Areata* melibatkan aktivasi sel-sel T autoreaktif, terutama sel T CD8+, yang mengenali dan menyerang antigen pada folikel rambut.^{47,48} Aktivasi sel T ini menyebabkan peradangan lokal dan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti

Interferon-Gamma (IFN- γ) dan *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β), yang memperburuk kerusakan pada folikel rambut.⁴⁸

2.3.2. Alopecia lainnya

Alopecia memiliki berbagai bentuk selain *Alopecia Areata*, masing-masing dengan karakteristik dan penyebab yang berbeda. Salah satu jenis yang paling umum adalah *Androgenetic Alopecia*, juga dikenal sebagai kebotakan pola pria atau wanita.¹ Pada pria, kondisi ini biasanya dimulai dengan garis rambut yang mundur dan penipisan di bagian atas kepala, sementara pada wanita, rambut menipis secara difus di seluruh kulit kepala, tetapi garis rambut depan biasanya tetap utuh.⁴⁹ *Androgenetic alopecia* disebabkan oleh faktor genetik dan hormonal, terutama sensitivitas folikel rambut terhadap *dihydrotestosterone* (DHT), yang menyebabkan miniaturisasi folikel dan memperpendek fase pertumbuhan rambut (anagen).^{1,49}

Jenis *alopecia* lain adalah *Telogen Effluvium*, yang terjadi ketika sejumlah besar folikel rambut memasuki fase istirahat (telogen) secara bersamaan, sehingga menyebabkan kerontokan rambut yang signifikan.⁵⁰ *Telogen effluvium* sering dipicu oleh stres fisik atau emosional, perubahan hormon, kekurangan nutrisi, atau penyakit.⁵⁰ Kondisi ini biasanya bersifat sementara, dan rambut sering tumbuh kembali setelah penyebabnya teratasi.⁵⁰

Alopecia Totalis adalah bentuk lanjutan dari *Alopecia Areata*, di mana semua rambut di kulit kepala hilang.²² Meski penyebab pastinya belum sepenuhnya dipahami, kondisi ini juga melibatkan mekanisme autoimun yang

menyerang folikel rambut. *Alopecia Totalis* dapat terjadi secara tiba-tiba dan dapat menyebabkan hilangnya semua rambut di kulit kepala dalam waktu singkat.

Selanjutnya, *Alopecia Universalis* merupakan bentuk paling parah dari *Alopecia Areata*, di mana semua rambut di tubuh rontok, termasuk alis, bulu mata, dan rambut di bagian tubuh lainnya.²² Sama seperti *Alopecia Totalis*, *Alopecia Universalis* disebabkan oleh respons autoimun yang lebih luas terhadap folikel rambut di seluruh tubuh.²² Kondisi ini jarang terjadi dan sering kali memerlukan penanganan khusus.

Traction Alopecia adalah jenis kerontokan rambut yang disebabkan oleh tekanan atau tarikan berulang pada folikel rambut.⁵¹ Kondisi ini sering terjadi pada orang yang menggunakan gaya rambut yang menarik rambut dengan kuat, seperti keping ketat, ekor kuda, atau penggunaan hair extension.⁵¹ Jika tekanan pada folikel rambut tidak segera dihentikan, kondisi ini dapat menyebabkan kerusakan permanen dan kebotakan.⁵¹

Cicatricial Alopecia, atau *alopecia parut*, adalah bentuk kerontokan rambut yang disebabkan oleh peradangan yang merusak folikel rambut dan menggantikannya dengan jaringan parut.¹⁹ Kondisi ini dapat disebabkan oleh berbagai penyakit kulit seperti lupus eritematosus, lichen planopilaris, dan folikulitis decalvans. Rambut yang rontok pada kondisi ini tidak dapat tumbuh kembali karena folikel rambut telah rusak secara permanen.

Anagen Effluvium adalah kerontokan rambut yang terjadi selama fase pertumbuhan aktif (anagen) folikel rambut, seringkali akibat paparan bahan kimia seperti obat kemoterapi. Rambut yang rontok akibat *Anagen Effluvium* biasanya

terjadi secara cepat setelah terpapar zat penyebab, tetapi rambut dapat tumbuh kembali setelah perawatan dihentikan.⁵¹

Setiap jenis *alopecia* memiliki mekanisme, penyebab, dan prognosis yang berbeda, sehingga penting untuk diagnosis yang tepat agar pengobatan dapat disesuaikan dengan jenis kerontokan rambut yang dialami oleh pasien.

2.3.3. Faktor Penyebab *Alopecia*

Ada beberapa faktor yang dapat menyebabkan *alopecia* Faktor tersebut antara lain:

1. Faktor Inflamasi

Peradangan kronis di kulit kepala adalah salah satu faktor utama yang dapat menyebabkan *Alopecia-like*. Kondisi ini sering dipicu oleh reaksi autoimun, di mana sistem kekebalan tubuh menyerang folikel rambut yang sering dikenal sebagai *Alopecia Aerata*.^{24,26,28,52} Beberapa penyakit seperti lupus erythematosus atau psoriasis dapat menyebabkan peradangan lokal yang merusak folikel rambut dan mengganggu siklus pertumbuhan rambut. Peradangan ini sering disertai dengan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IL-6, yang dapat mempercepat transisi folikel rambut dari fase anagen (pertumbuhan) ke fase telogen (istirahat), yang pada akhirnya menyebabkan kerontokan rambut.^{53,54}

2. Faktor Stres Fisik dan Psikologis

Stres, baik fisik maupun psikologis, dapat mempengaruhi keseimbangan hormon dan metabolisme tubuh, yang pada gilirannya berdampak negatif pada kesehatan rambut. Stres dapat meningkatkan

produksi hormon kortisol, yang dapat mengganggu siklus pertumbuhan rambut dan menyebabkan kondisi yang dikenal sebagai *Telogen Effluvium*, yaitu kerontokan rambut yang terjadi secara tiba-tiba dan merata di seluruh kulit kepala. Stres yang berkepanjangan juga dapat mempengaruhi suplai darah ke folikel rambut, mengurangi nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan rambut yang sehat.^{50,54}

3. Faktor Hormonal

Ketidakseimbangan hormon merupakan faktor penyebab penting lainnya dari *Alopecia-like*. Perubahan kadar hormon seperti estrogen, progesteron, dan androgen dapat mempengaruhi siklus rambut dan menyebabkan kerontokan. Misalnya, penurunan kadar estrogen dan progesteron pada wanita setelah melahirkan atau selama menopause sering dikaitkan dengan penipisan rambut. Selain itu, peningkatan hormon androgen seperti DHT dapat menyebabkan miniaturisasi folikel rambut, yang mirip dengan pola kebotakan pada *Androgenetic Alopecia*.^{3,19,52,54}

4. Faktor Nutrisi

+Kekurangan nutrisi penting seperti zat besi, vitamin D, protein, dan seng dapat menyebabkan kerontokan rambut yang signifikan. Zat besi diperlukan untuk produksi hemoglobin, yang membawa oksigen ke folikel rambut, sedangkan vitamin D memainkan peran penting dalam siklus pertumbuhan rambut. Kekurangan protein dan seng dapat mengganggu sintesis keratin, protein utama yang membentuk struktur rambut. Oleh

karena itu, diet yang tidak seimbang atau gangguan penyerapan nutrisi dapat menyebabkan kerontokan rambut yang menyerupai *alopecia*.^{52,54}

5. Faktor obat-obatan

Beberapa jenis obat, seperti obat kemoterapi, antidepresan, dan beta-blocker, diketahui dapat menyebabkan kerontokan rambut sebagai efek samping. Obat-obatan ini dapat mengganggu siklus pertumbuhan rambut dengan menghentikan sel-sel yang membelah dengan cepat di folikel rambut, yang mengakibatkan kerontokan rambut yang signifikan.^{4,52}

2.4. Folikel Rambut

2.4.1. Anatomi Folikel Rambut

Rambut adalah filamen yang terdiri terutama dari sel-sel mati yang terkeratinisasi. Struktur rambut terdiri dari dua bagian: folikel rambut dan batang rambut.⁵⁵ Struktur folikel rambut dapat dibagi menjadi dua bagian, yaitu bagian atas dan bagian bawah. Bagian atas meliputi infundibulum dan isthmus, sedangkan bagian bawah disebut sebagai bulb dan wilayah suprabulbar. Bulb rambut dibentuk oleh papila dermal (yang mencakup kelompok fibroblas khusus, kapiler darah, dan ujung saraf) dan matriks rambut (terdiri dari keratinosit yang berkembang biak dengan cepat).⁵⁵ Folikel rambut pada kulit kepala tertanam di subkutan dan mengalami siklus pertumbuhan berulang. Batang rambut terbagi menjadi tiga lapisan: kutikula, korteks, dan medula.⁵⁵ Medula adalah bagian paling luar dari rambut yang terlihat di atas kulit. Medula dikelilingi oleh lapisan

Fase anagen adalah fase pertumbuhan aktif dari folikel rambut. Pada fase ini, sel-sel matriks di bagian bawah folikel rambut mengalami pembelahan cepat dan menghasilkan batang rambut yang terus memanjang.^{56,57} Fase ini dapat berlangsung antara 2 hingga 7 tahun, tergantung pada faktor genetik, hormonal, dan kesehatan individu.⁵⁶ Sekitar 85-90% dari semua folikel rambut pada kulit kepala berada dalam fase anagen pada waktu tertentu. Semakin lama durasi fase anagen, semakin panjang rambut yang dapat tumbuh.⁵⁶

2) Fase Katagen

Fase katagen adalah fase transisi singkat yang menandai akhir dari fase pertumbuhan aktif.⁵⁷ Fase ini berlangsung selama sekitar 2 hingga 3 minggu dan hanya mencakup sekitar 1-2% dari total folikel rambut pada kulit kepala pada waktu tertentu.⁵⁶ Selama fase ini, aktivitas sel-sel matriks di folikel rambut menurun, dan folikel rambut mulai menyusut atau mengalami involusi. Batang rambut yang sebelumnya tertanam kuat di dermis mulai terlepas dari papila dermal, struktur yang menyediakan nutrisi dan sinyal pertumbuhan bagi folikel. Pada akhir fase katagen, folikel rambut memasuki fase telogen.⁵⁶

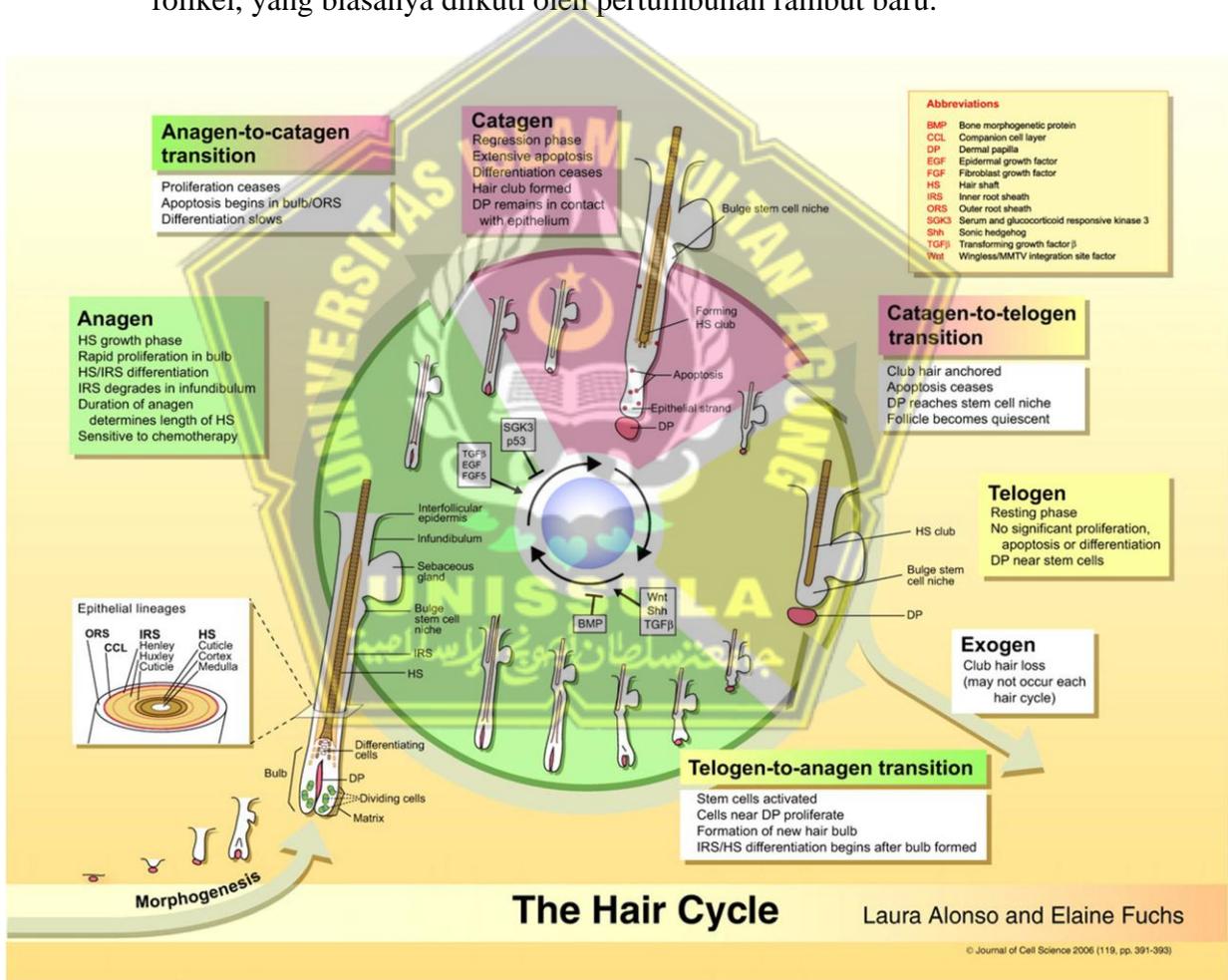
3) Fase Telogen

Fase telogen adalah fase istirahat di mana folikel rambut tidak aktif dan rambut tidak mengalami pertumbuhan. Fase ini berlangsung selama sekitar 3 hingga 4 bulan dan melibatkan sekitar 10-15% dari folikel rambut pada kulit kepala.⁵⁵ Selama fase telogen, rambut yang disebut rambut telogen

tetap berada di folikel tetapi tidak terhubung dengan papila dermal, sehingga tidak menerima nutrisi atau sinyal pertumbuhan.

4) Fase Eksogen

Beberapa literatur menambahkan fase eksogen sebagai fase terpisah dalam siklus rambut.⁵⁷ Fase ini mengacu pada pelepasan rambut telogen dari folikel, yang biasanya diikuti oleh pertumbuhan rambut baru.⁵⁷



Gambar 2.2. Siklus Rambut⁵⁷

2.5. Fluconazole

2.5.1. Definisi

Fluconazole adalah obat antijamur yang termasuk dalam golongan azole dan secara luas digunakan untuk mengobati berbagai infeksi jamur, termasuk kandidiasis pada kulit, mulut, dan sistemik, serta cryptococcal meningitis.⁵⁸ Mekanisme kerja utama fluconazole adalah dengan menghambat enzim lanosterol 14- α -demethylase, yang merupakan enzim penting dalam biosintesis ergosterol, komponen utama membran sel jamur.⁵⁸ Penghambatan enzim ini menyebabkan akumulasi lanosterol toksik dan mengganggu integritas serta fungsi membran sel jamur, yang akhirnya menyebabkan kematian sel jamur.⁵⁸ Namun, penggunaan fluconazole tidak tanpa risiko, terutama dalam konteks stres oksidatif.

Salah satu efek samping yang signifikan dari penggunaan fluconazole adalah peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS), yang dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada sel-sel tubuh.⁵⁸ Peningkatan kadar ROS terjadi ketika keseimbangan antara produksi dan eliminasi radikal bebas terganggu, menyebabkan stres oksidatif. Fluconazole dapat menginduksi stres oksidatif dengan menghambat aktivitas enzim mitokondria dan meningkatkan pelepasan elektron dari rantai transpor elektron mitokondria, yang kemudian bereaksi dengan oksigen untuk menghasilkan ROS, seperti superoksida ($O_2^{\bullet-}$), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil ($\bullet OH$).⁵⁸

2.5.2. Peran fluconazole dalam alopecia

Pada folikel rambut, peningkatan ROS yang disebabkan oleh fluconazole dapat mengganggu fungsi normal sel-sel folikel rambut, mempercepat transisi dari fase anagen (fase pertumbuhan) ke fase katagen (fase penurunan) dan telogen (fase istirahat), yang mengakibatkan kerontokan rambut yang lebih cepat.³⁸

Selain itu, stres oksidatif yang dipicu oleh fluconazole dapat mengaktifkan jalur sinyal pro-inflamasi seperti NF- κ B, yang meningkatkan ekspresi sitokin pro-inflamasi seperti *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β) dan faktor *tumor necrosis alpha* (TNF- α). Peningkatan kadar sitokin ini dapat memperburuk kondisi peradangan lokal, menghambat regenerasi sel, dan mengurangi ekspresi faktor pertumbuhan seperti *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1), yang sangat penting untuk pertumbuhan dan pemeliharaan folikel rambut.⁵⁹

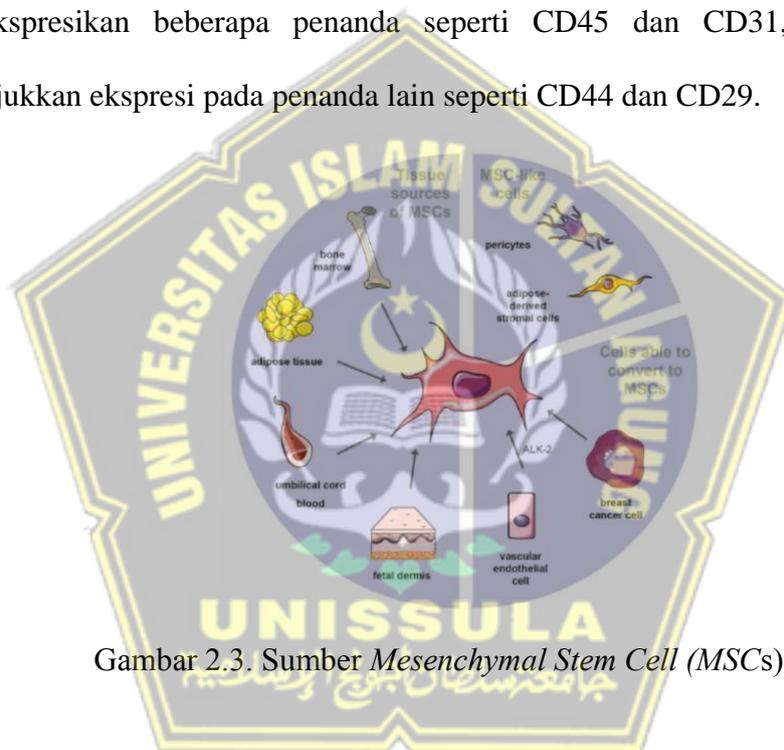
Oleh karena itu, meskipun fluconazole efektif sebagai agen antijamur, penggunaannya harus dipertimbangkan dengan hati-hati pada individu yang berisiko terhadap stres oksidatif atau kerusakan jaringan yang terkait dengan peningkatan kadar ROS. Pengawasan yang ketat dan penggunaan suplemen antioksidan mungkin diperlukan untuk mengurangi risiko kerusakan seluler akibat stres oksidatif yang diinduksi oleh fluconazole.

2.6. Mesenchymal Stem Cell (MSCs)

2.6.1. Definisi

Mesenchymal stem cell (MSC) adalah jenis sel punca multipoten yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel jaringan, seperti osteoblas (sel

pembentuk tulang), kondroblas (sel pembentuk tulang rawan), dan adipoblas (sel pembentuk lemak). Awalnya, MSC ditemukan dalam sumsum tulang, tetapi juga dapat ditemukan di berbagai jaringan lain seperti jaringan lemak, tali pusat, dan gigi. MSC memiliki bentuk yang mirip dengan fibroblas atau sel berbentuk jarum dan mampu menempel pada permukaan plastik dalam kultur. Dari segi fenotip, MSC yang diisolasi dari tikus memperlihatkan sifat osteogenik dan mengekspresikan beberapa penanda seperti CD45 dan CD31, tetapi tidak menunjukkan ekspresi pada penanda lain seperti CD44 dan CD29.



Gambar 2.3. Sumber *Mesenchymal Stem Cell* (MSCs)

2.6.2. *Hypoxia*

Hypoxia adalah kondisi ketika jaringan tidak menerima cukup oksigen, yang dapat berdampak pada berbagai fungsi sel. Dalam banyak kasus, *Hypoxia* dianggap merugikan karena dapat memicu stres oksidatif, gangguan metabolisme, dan pada akhirnya kematian sel melalui proses apoptosis jika berlangsung dalam waktu lama. Sebagian besar sel bergantung pada oksigen untuk menjalankan fungsi metabolisme mereka secara normal, sehingga kekurangan oksigen dapat

mengakibatkan kerusakan fungsi seluler. Meskipun *Hypoxia* umumnya diasosiasikan dengan dampak negatif, penelitian terkini mengungkapkan bahwa kondisi ini dapat memberikan manfaat bagi beberapa jenis sel, termasuk *Mesenchymal Stem Cell (MSC)*.¹²

Salah satu mekanisme utama yang memungkinkan MSC beradaptasi dalam kondisi *Hypoxia* adalah aktivasi molekul Hypoxic Inducible Factor (HIF). HIF merupakan faktor transkripsi yang diaktifkan saat oksigen rendah dan berperan penting dalam memungkinkan MSC bertahan dan berfungsi di lingkungan *Hypoxia*.¹² HIF mengatur respons MSC terhadap *Hypoxia* dengan mendorong produksi sitokin dan faktor pertumbuhan. Sitokin-sitokin ini membantu MSC memperbaiki jaringan yang rusak melalui mekanisme parakrin, di mana MSC melepaskan molekul-molekul sinyal yang merangsang regenerasi jaringan di sekitarnya.¹²

2.7. Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell

2.7.1. Definisi

Exosome dari *Mesenchymal Stem Cell (MSC)* adalah vesikel ekstraseluler berukuran 30-150 nm yang berperan dalam komunikasi antar sel. Mereka memiliki marker permukaan spesifik seperti CD63, CD81, dan CD9, yang digunakan untuk identifikasi dan isolasi. *Exosome* dibagi berdasarkan ukuran menjadi tiga jenis utama: small *Exosome* (30-50 nm), medium *Exosome* (50-100 nm), dan large *Exosome* (100-150 nm). *Exosome* MSC mengandung berbagai molekul bioaktif seperti miRNA, protein, dan lipida yang berkontribusi pada

regenerasi jaringan, anti-inflamasi, dan modulasi imun, menjadikannya potensi besar dalam terapi medis.⁶⁰⁻⁶²

2.7.2. Kandungan *Exosome* MSC

Exosome dari *Mesenchymal Stem Cell (MSC)* mengandung berbagai molekul bioaktif yang memainkan peran penting dalam mengatasi *alopecia*, suatu kondisi yang ditandai oleh kehilangan rambut yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor seperti genetika, hormon, stres, dan peradangan. Berikut adalah beberapa komponen utama dari *Exosome* MSC yang berkontribusi dalam mengatasi *alopecia*:

a. *MicroRNA* (miRNA)

Exosome MSC mengandung sejumlah miRNA yang diketahui mengatur ekspresi gen dan memiliki peran penting dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel. Misalnya, miRNA-218 dan miRNA-31 telah terbukti mendorong proliferasi sel dermal papilla dan merangsang pertumbuhan folikel rambut.^{63,64} Selain itu, miRNA-92a dan miRNA-146a memiliki sifat anti-inflamasi yang membantu mengurangi peradangan kulit kepala, yang sering dikaitkan dengan kerontokan rambut.^{65,66}

b. Protein dan Enzim

Exosome MSC mengandung berbagai protein dan enzim yang mendukung regenerasi jaringan dan pertumbuhan sel. Protein seperti Wnt dan *Platelet-Derivet Growth Factor* (PDGF) berperan dalam jalur

sinyal yang penting untuk siklus pertumbuhan rambut.^{67,68} Wnt, misalnya, terlibat dalam aktivasi fase anagen folikel rambut, sementara PDGF membantu dalam regulasi siklus rambut dan mencegah apoptosis sel dermal papilla.

c. Lipida

Komponen lipida dalam *Exosome* MSC juga memainkan peran dalam memodulasi respon seluler dan menjaga integritas membran sel. Lipida seperti ceramide dan sphingomyelin dapat berperan dalam proses penyembuhan luka dan perbaikan jaringan, yang mendukung lingkungan yang sehat untuk pertumbuhan rambut.⁶⁹

d. Cytokine dan Growth Factors

Exosome MSC mengandung berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan seperti PDGF, VEGF, dan IGF yang berperan dalam angiogenesis, proliferasi sel, dan penyembuhan luka. PDGF dan VEGF khususnya membantu meningkatkan suplai darah ke folikel rambut, memberikan nutrisi dan oksigen yang diperlukan untuk pertumbuhan rambut. *Insulin-like Growth Factor 1* membantu merangsang pertumbuhan dan proliferasi sel dermal papilla.^{70,71}

2.7.3. Metode Isolasi *Exosome* MSC

Isolasi *Exosome* dari *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) dari medium kultur adalah proses penting untuk mempelajari fungsi dan aplikasi terapinya. Beberapa

metode isolasi telah dikembangkan untuk memastikan kemurnian dan integritas *Exosome* yang diisolasi. Berikut adalah beberapa metode yang umum digunakan:

a. Ultracentrifugasi Diferensial

Metode ini adalah yang paling umum digunakan untuk isolasi *Exosome*. Proses ini melibatkan beberapa tahap centrifugasi pada kecepatan yang berbeda untuk menghilangkan sel, debris seluler, dan partikel-partikel yang lebih besar. Pertama, medium kultur disentrifugasi pada kecepatan rendah untuk menghilangkan sel-sel dan debris besar. Supernatan kemudian disentrifugasi pada kecepatan lebih tinggi untuk mengendapkan mikrovesikel dan partikel yang lebih besar dari *Exosome*. Akhirnya, supernatan disentrifugasi pada kecepatan sangat tinggi (100,000-120,000 x g) untuk mengendapkan *Exosome*. Pellet *Exosome* kemudian dicuci dan disentrifugasi ulang untuk meningkatkan kemurnian.⁷²

b. Ultrafiltrasi

Metode ini menggunakan membran filter dengan ukuran pori tertentu untuk memisahkan *Exosome* berdasarkan ukuran. Medium kultur difiltrasi melalui membran untuk menghilangkan partikel yang lebih besar dan molekul kecil, sementara *Exosome* tertahan di membran. Ultrafiltrasi sering digunakan sebagai langkah tambahan setelah ultracentrifugasi untuk meningkatkan kemurnian *Exosome*.⁷²

c. Kromatografi Afinitas

Metode ini memanfaatkan interaksi spesifik antara molekul di permukaan *Exosome* dengan ligan yang terikat pada matriks kromatografi. Antibodi yang spesifik terhadap marker permukaan *Exosome* seperti CD63, CD81, dan CD9 sering digunakan. Medium kultur dilewatkan melalui kolom yang mengandung ligan ini, sehingga *Exosome* yang mengandung marker permukaan yang sesuai akan terperangkap dan kemudian dielusi.⁷²

d. Presipitasi Polimer

Metode ini melibatkan penggunaan polimer, seperti *polyethylene glycol* (PEG), yang menginduksi presipitasi *Exosome* dari medium kultur. Polimer ini ditambahkan ke medium kultur dan diinkubasi, kemudian campuran disentrifugasi pada kecepatan rendah untuk mengendapkan *Exosome*. Metode ini relatif cepat dan sederhana, namun bisa menghasilkan *Exosome* dengan kemurnian yang lebih rendah dibandingkan metode lain.⁷²

e. Isolasi Berdasarkan Densitas

Metode ini melibatkan penggunaan gradien densitas, seperti gradien *sucrose* atau *iodixanol*, untuk memisahkan *Exosome* berdasarkan densitas mereka. Medium kultur ditempatkan pada gradien densitas dan disentrifugasi pada kecepatan tinggi. *Exosome* akan terpisah pada

lapisan yang sesuai dengan densitas mereka, yang kemudian dapat diambil secara terpisah.⁷²

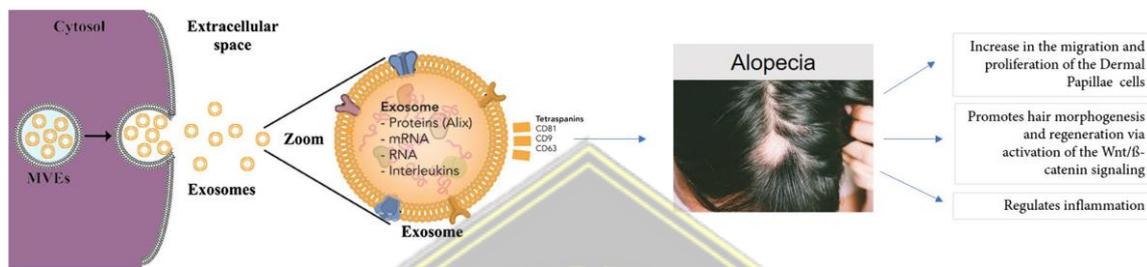
2.8. Pengaruh *Exosome Hypoxia* MSC terhadap IL-1 β dan IGF-1

Exosome yang dihasilkan oleh *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) dalam kondisi *hypoxia* memiliki pengaruh besar pada pengaturan IL-1 β dan IGF-1. Sebagai sitokin pro-inflamasi utama, IL-1 β berperan penting dalam respons inflamasi akut dan kronis.^{8,39} *Exosome Hypoxia MSC* (EH-MSCs) diketahui mampu mengurangi ekspresi IL-1 β berkat kandungan microRNA (miRNA) seperti miR-146a serta protein yang menghambat jalur NF- κ B, yang merupakan pengendali utama produksi sitokin inflamasi.¹⁴ Penekanan jalur ini berkontribusi pada pengurangan peradangan. Di sisi lain, IGF-1, sebagai faktor pertumbuhan utama, memainkan peran penting dalam regenerasi jaringan dengan mendukung proliferasi, migrasi, dan diferensiasi sel. *Exosome* dari MSC yang terpapar *hypoxia* mampu meningkatkan produksi IGF-1 dengan cara mengaktifkan jalur PI3K/AKT dan MAPK melalui miRNA seperti miR-126.^{12,15,16} Aktivasi jalur ini mendukung perbaikan jaringan seperti otot, tulang, dan kulit.¹²

2.9. Pengaruh *Exosome Hypoxia* MSC terhadap Alopecia

Exosome Hypoxia dari *Mesenchymal Stem Cell* mengandung beberapa komponen seperti miRNA, protein, enzim, lipida, sitokin dan *Growth Factors* diantaranya yang berkontribusi dalam mengatasi alopecia.³³ *Exosome* MSC dapat memulai jalur sinyal Wnt/ β -catenin, mengantarkan faktor pertumbuhan, dan mengatur peradangan yang dapat semakin memperkuat potensinya sebagai terapi yang efektif untuk kerontokan rambut.³⁴ Selain itu penelitian *Exosome* terutama

dari jaringan adiposa, dapat mengurangi gejala *Alopecia Areata* dan merangsang pertumbuhan rambut baru. Studi ini menunjukkan hasil positif dalam meningkatkan kepadatan rambut dan mengurangi area kebotakan.³²



Gambar 2.4. Peran *Exosome* MCS dalam *Alopecia*¹³



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

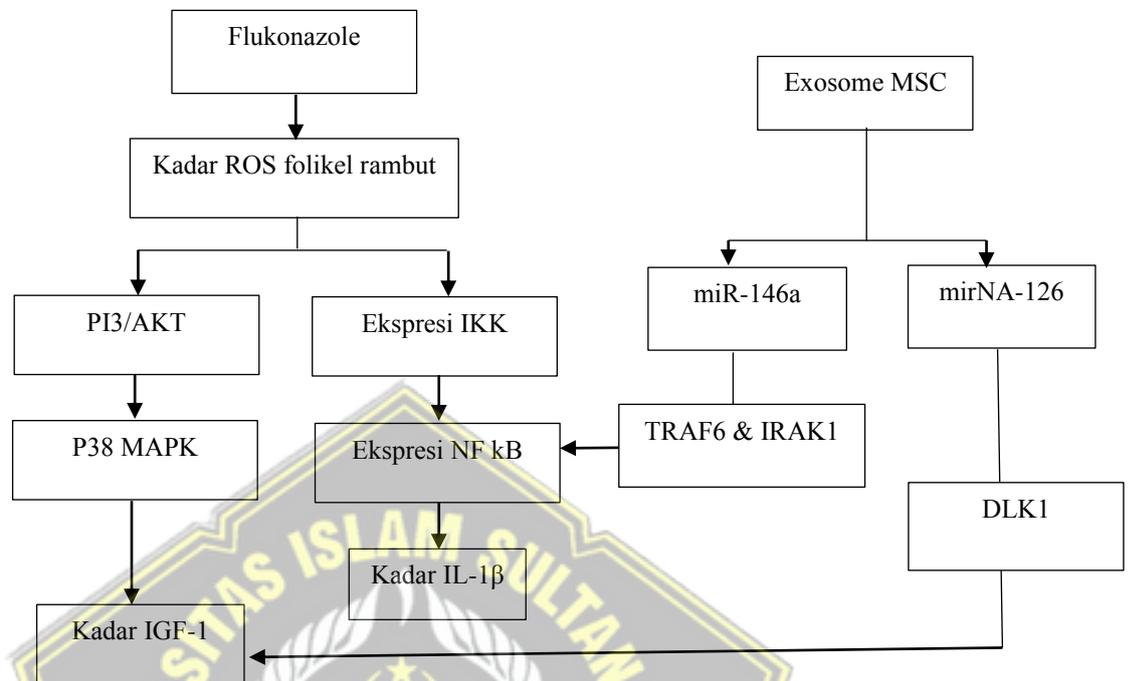
3.1. Kerangka Teori

Fluconazole adalah obat antijamur yang digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh jamur, seperti kandidiasis, kriptokokosis, dan infeksi lainnya. Obat ini bekerja dengan menghambat enzim yang diperlukan untuk sintesis ergosterol, komponen esensial dari membran sel jamur, sehingga mengganggu integritas membran dan menyebabkan kematian sel jamur.

Namun, penggunaan fluconazole dapat menyebabkan efek samping yang tidak diinginkan, termasuk *alopecia*. Kondisi ini dikaitkan dengan peningkatan produksi Reactive Oxygen Species (ROS) dalam sel. ROS yang tinggi dapat merusak komponen seluler seperti DNA, protein, dan lipid membran. Peningkatan produksi Reactive Oxygen Species (ROS) sebagai akibat dari paparan fluconazole akan mengaktifasi proses fosforilasi pada enzim I kappa β Kinase (IKK). Aktivasi ini menyebabkan enzim IKK memfosforilasi inhibitor I kappa B (IKB). Ketika IKB terfosforilasi, ia kemudian berikatan dengan subunit p50 dan p65 untuk membentuk kompleks protein tertentu. Akibatnya, kompleks ini menandai IKB untuk degradasi melalui sistem ubiquitin-proteasom. Ubiquitin akan berperan sebagai penanda yang menempel pada IKB, yang mengarahkan enzim ini ke proteasom untuk dihancurkan. Setelah IKB terdegradasi, subunit p50 dan p65 yang sebelumnya dihambat oleh IKB, akan terlepas dan berpindah ke inti sel untuk mengatur ekspresi gen-gen target yang terkait dengan respons peradangan

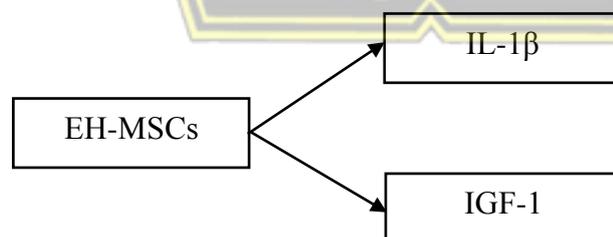
dan stress seluler, salah satunya adalah sitokin pro inflamasi IL-1 β . Selain itu, aktivasi jalur sinyal NF- κ B oleh ROS dapat mengalihkan sinyal dari jalur PI3K/Akt ke p38 MAPK meningkatkan ekspresi protein penekan transkripsi yang menghambat ekspresi IGF-1. Akibatnya, penurunan IGF-1 mengganggu siklus pertumbuhan rambut, mempercepat transisi ke fase katagen dan telogen, serta menyebabkan kerontokan rambut.

Exosome yang dihasilkan oleh MSC memiliki peran penting dalam mengatur proses *alopecia* melalui kandungan protein dan miRNA yang terdapat di dalamnya. Protein seperti *Fibroblast Growth Factor* (FGF), *Epidermal Growth Factor* (EGF), dan *Insulin-like Growth Factor* (IGF) berkontribusi dalam merangsang proliferasi sel-sel folikel rambut serta memperbaiki kerusakan jaringan pada kulit kepala. Di sisi lain, miRNA seperti miRNA-146a berfungsi untuk menekan peradangan dan memodulasi respons imun pada area kulit kepala yang terdampak *alopecia*. Selain itu, miRNA-126 berperan dalam pengaturan siklus pertumbuhan rambut dengan mengatur ekspresi gen-gen yang berkaitan dengan proliferasi sel folikel rambut. Secara keseluruhan, kombinasi protein dan miRNA dalam *Exosome* MSC bekerja secara sinergis untuk memengaruhi berbagai aspek *alopecia*, baik melalui pengaturan respon inflamasi, regenerasi jaringan, maupun regulasi langsung terhadap siklus pertumbuhan rambut. Pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme ini sangat penting untuk mengembangkan terapi yang lebih efektif dalam menangani masalah kerontokan rambut akibat *alopecia*.



Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

- 3.3.1. Terdapat pengaruh pemberian *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 pada tikus model *Alopecia - like* yang diinduksi fluconazole

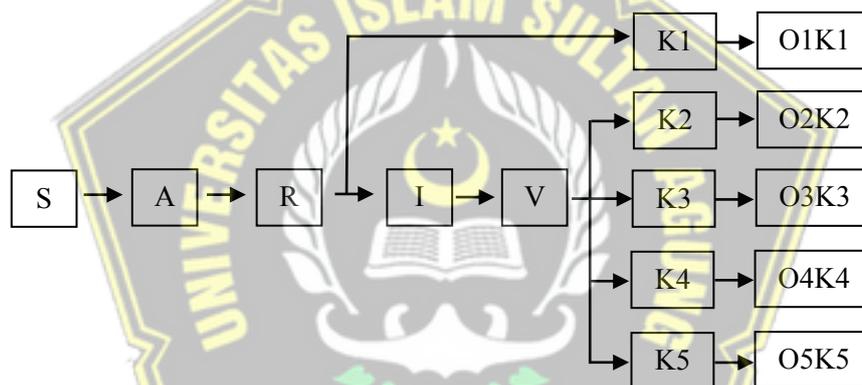


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

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



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian⁷³

Keterangan:

S = Sampel

A = Aklimatisasi hewan coba

R = Randomisasi hewan coba

I = Induksi Fluconazole

V = Validasi

K1 = Tikus sehat, tidak diberi perlakuan

K2 = Tikus diinduksi Fluconazole dengan diberi NaCL 0.9 %

K3 = Tikus diinduksi Fluconazole dengan diberi Minoxidil 5%

K4 = Tikus diinduksi Fluconazole dengan diberi *Exosome Hypoxia* MSC
dosis 100µg/kgbb

K5 = Tikus diinduksi Fluconazole dengan diberi *Exosome Hypoxia* MSC
dosis 200µg/kgbb

O1K1 = Observasi kadar IL-1β DAN IGF-1 kelompok K1

O2K2 = Observasi kadar IL-1β DAN IGF-1 kelompok K2

O3K3 = Observasi kadar IL-1β DAN IGF-1 kelompok K3

O4K4 = Observasi kadar IL-1β DAN IGF-1 kelompok K4

O5K5 = Observasi kadar IL-1β DAN IGF-1 kelompok K5

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1. Variabel penelitian

- a. Variabel Bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Exosome Hypoxia* MSC
- b. Variabel Tergantung penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar Kadar IL-1β dan IGF-1
- c. Variabel Prakondisi penelitian ini adalah pemberian fluconazole secara oral.

4.2.2. Definisi Operasional

- a. Injeksi *Exosome Hypoxia* MSC (EH-MSCs)

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

b. Kadar IL-1 β

IL-1 β adalah satu sitokin proinflamasi utama yang berperan penting dalam respons imun dan peradangan. Pada tikus model *alopecia* yang diinduksi oleh fluconazole, pemberian *Exosome* MSC dapat mengurangi kadar IL-1 β pada tikus yang diinduksi *alopecia*. Diukur menggunakan metode ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) dari sampel kulit tikus setelah perlakuan dengan *Exosome* MSC. Skala : Rasio

c. Kadar IGF-1

IGF-1 adalah protein yang berperan dalam regulasi banyak proses seluler, termasuk pertumbuhan sel, apoptosis, dan diferensiasi. Pada tikus model *alopecia* yang diinduksi oleh fluconazole, pemberian *Exosome* MSC dapat meningkatkan kadar IGF-1 pada tikus yang diinduksi *alopecia*. Diukur menggunakan metode

ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) dari sampel kulit tikus setelah perlakuan dengan *Exosome* MSC. Skala : Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

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

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria inklusi

- a. Tikus galur Wistar
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Usia 6-8 minggu
- d. Berat badan 200-250 g
- e. Tidak memiliki kelainan anatomis
- f. Tikus bergerak secara aktif.

4.3.2.2. Kriteria eksklusi

- a. Tikus yang tidak tervalidasi *Alopecia-like*
- b. Sudah pernah digunakan untuk penelitian sebelumnya.

4.3.2.3. Kriteria drop out

- a. Tikus yang sakit selama masa penelitian
- b. Tikus mati selama penelitian.

4.4. Teknik Pengambilan Sampel Penelitian

- Lakukan pengambilan sampel jaringan kulit yang telah diberi perlakuan menggunakan peralatan steril dan dilakukan di atas es secara cepat untuk mencegah degradasi oleh protease.
- Letakkan jaringan yang telah diambil ke dalam tabung cryovial dan rendam dalam nitrogen cair untuk melakukan "snap freeze".
- Simpan sampel pada suhu -80°C untuk digunakan nanti atau simpan di atas es untuk homogenisasi segera.
- Untuk potongan jaringan sekitar ~ 5 mg, tambahkan sekitar ~ 300 μL larutan RIPA buffer ditambah dengan protease inhibitor ke dalam tabung dan homogenkan menggunakan homogenizer Listrik selama 2 menit pada suhu 4°C
- Bilas mata homogenizer dua kali dengan menggunakan 300 μL larutan RIPA buffer
- Lakukan sentrifugasi hasil homogenisasi selama 20 menit pada 13.000 rpm pada suhu 4°C .
- Setelah itu, letakkan tabung di atas es, ambil supernatan ke dalam tabung yang baru dan dingin, dan simpan sampel pada suhu -80°C hingga proses analisis berikutnya dilakukan.

4.5. Besar Sampel

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

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

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

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan lima ekor sampel per perlakuan. Untuk menghadapi risiko mortalitas pada tikus, setiap kelompok ditambah sampel sebanyak satu ekor dari jumlah hitungan menjadi total enam ekor per perlakuan. Dengan demikian, jumlah total sampel yang digunakan adalah 30 ekor.



4.6. Alat dan Bahan

4.6.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam kultur MSC dan isolasi *Exosome* meliputi BSC, inkubator CO₂, sentrifuge, uPulse tangential flow filtration, serta membran filtrasi TFF berukuran 100 kDa dan 500 kDa untuk isolasi *Exosome* dari medium kultur MSC. Alat yang digunakan untuk validasi MSC dan *Exosome Hypoxia* MSC mencakup flowcytometer, mikroskop inverted, dan inkubator. Peralatan lain yang digunakan termasuk mikropipet, tabung sentrifuge, pelat kultur sel, botol beher, shaker, pH meter, autoclave, serta lampu UV.

4.6.2. Bahan Penelitian

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

Bahan penelitian yang dibutuhkan dalam proses pembuatan animal model dan pengambilan sampel antara lain alkohol 70% dan kapas steril, ketamin, xylazine, vial tube, RIPA buffer dan pisau bisturi. Bahan-bahan yang diperlukan untuk analisis ELISA antara lain Elisa Kit Rat IL-1 β (Elabscience No Cat: E-EL-R0012) dan IGF-1 (Elabscience No Cat: E-EL-R3001).

4.7. Cara Penelitian

4.7.1. Ethical clearance

Setelah mendapatkan persetujuan dari pembimbing dan penguji, pengajuan Ethical clearance dilakukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung Semarang.

4.7.2. Prosedur Isolasi *Mesenchymal Stem Cell* dari Umbilical Cord

Seluruh prosedur dilakukan di kabinet *biosafety* kelas 2 dengan tingkat sterilitas dan peralatan steril yang tinggi.

1. Setelah dikumpulkan, *umbilical cord* dimasukkan ke dalam wadah steril yang diberi NaCl 0,9%.
2. Dengan menggunakan pinset, masukkan *umbilical cord* ke dalam cawan petri dan gunakan PBS untuk membersihkannya secara menyeluruh.
3. *Umbilical cord* janin tikus dipotong dan pembuluh darahnya dibuang.
4. Setelah *umbilical cord* dicincang halus, diletakkan secara merata di dalam labu 25T dan diamkan selama tiga menit agar tisu menempel pada permukaan labu.
5. Media (DMEM, fungizon, penstrep, dan FBS) ditambahkan sedikit demi sedikit hingga jaringan tertutup.
6. Eksplan disimpan dalam inkubator dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C.
7. Setelah prosedur kultur dimulai, sel akan berkembang setelah sekitar 14 hari.
8. Setiap tiga hari, media diganti dengan cara membuang setengahnya

dan menambahkan yang baru dan penuh sebagai gantinya.

9. Pemeliharaan sel berlanjut hingga 80% sel konfluensi.

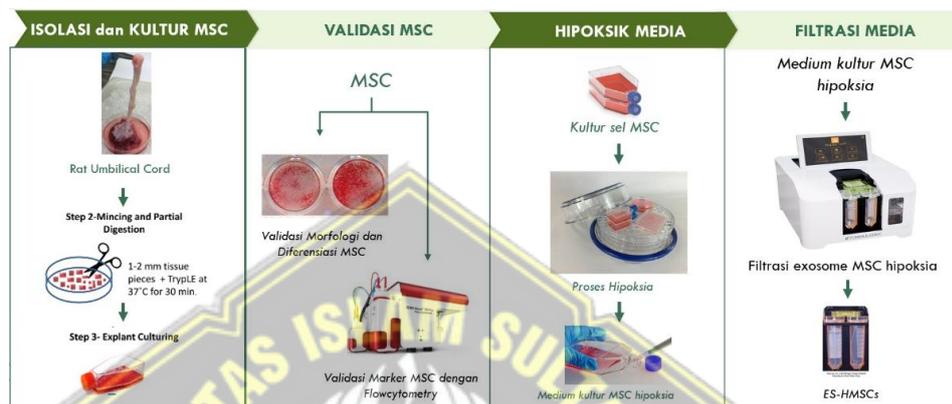
4.7.3. Proses *Hypoxia*

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

4.7.4. Pembuatan *Exosome Hypoxia* MSCs

Exosome Hypoxia MSCs diisolasi menggunakan metode TFF. Prosesnya meliputi pengumpulan media kultur *Hypoxia* MSCs dalam botol steril, yang kemudian disaring menggunakan alat uPulse TFF dengan filter berukuran 100 kDa dan 500 kDa untuk memisahkan partikel besar. Hasil penyaringan kemudian

divalidasi kandungan *Exosome Hypoxia* MSCs menggunakan flowcytometri dengan penanda permukaan CD63, dan CD9. Setelah tervalidasi, *Exosome Hypoxia* MSC disimpan dalam tabung 2,5 mL pada suhu 2-8°C.



Gambar 4.2. Isolasi MSC dan Pembuatan *Exosome*

4.7.5. Pembuatan Alopesia dan Pemberian Perlakuan pada Subjek Percobaan

1. Setelah satu minggu adaptasi, tikus diberikan kombinasi xylazine (20 mg/kgbb) dan ketamine (60 mg/kgbb) untuk menginduksi anestesi.
2. Mencukur rambut pada punggung tikus
3. Tikus kelompok K1 tidak di berikan treatmen apapun.
4. Hewan disonde dengan *fluconazole* 35 mg/kgBB per oral selama 14 hari.
5. Dilakukan validasi secara makroskopis dengan mengukur panjang rambut dan mikroskopis menggunakan Hematoksilin Eosin untuk menganalisis folikel rambut

6. Setelah itu , diinjeksi secara Subkutan pada punggung tikus . Injeksi NaCL pada K2, Injeksi Minoxidil 5% pada K3, injeksi *Exosome Hypoxia* MSC dosis 100µg/kgbb pada K4 , dan Injeksi *Exosome Hypoxia* MSC dosis 200µg/kgbb pada K5

4.7.6. Metode Validasi

- Pemantauan makroskopis dengan menggunakan foto sampel dan mikroskopis dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE).
- Sampel kulit diperoleh dari masing-masing kelompok dan digunakan untuk membuat potongan histologis menggunakan pewarnaan HE dan teknik paraffin Sampel kulit tikus diperoleh dari masing-masing kelompok dan diawetkan dalam larutan NBF 10% atau *Neutral Buffer Formalin*.
- Sampel kulit dibersihkan dari sisa larutan fiksatif dengan membilasnya menggunakan alkohol 70%.
- Sampel ditandai dan ditempatkan dalam keranjang tisu setelah difiksasi dalam larutan BNF 10%.
- Alkohol absolut dan alkohol bergradasi 70, 80%, 90%, dan 96% digunakan untuk mendehidrasi sampel jaringan.
- Sampel dimasukkan ke dalam toluol selama satu jam, atau hingga menjadi bening atau transparan.
- Sampel kemudian diinfiltrasi menggunakan parafin dalam oven bersuhu 560°C. Caranya dengan memasukkannya ke dalam kombinasi

toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Masing-masing selama tiga puluh menit, sampel kulit direndam dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III.

- Kemudian sampel ditanam (*embedding*) dalam parafin dan blocking ditunggu hingga paraffin mengeras.
- Dengan menggunakan mikrotom, potong blok jaringan menjadi irisan berukuran 6µm. Kemudian letakkan potongan-potongan tersebut di atas permukaan kaca yang telah dilapisi perekat Mayer Albumin, ditetesi sedikit air suling, dan dipanaskan di atas hot plate hingga menempel sempurna.
- Sebelum pewarnaan jaringan, parafin dihilangkan (deparaffinisasi) dengan xylol selama sehari penuh.
- Pewarna HE digunakan untuk pewarnaan. Kertas kering digunakan untuk menyerap kandungan xylol, yang kemudian secara bertahap ditambahkan ke air sulingan dan larutan alkohol dengan persentase yang semakin rendah (96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30%), masing-masing, untuk durasi 1- 2 menit
- Setelah jaringan diwarnai selama 5–10 detik dengan hematoksilin, jaringan dibilas lagi selama 10 menit dengan air mengalir.
- Selama 3-5 menit, preparata direndam dalam alkohol masing-masing 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%.
- Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2

menit. Kemudian dikeringkan dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 96%) masing-masing selama 3-5 menit.

- Setelah 15 menit *clearing* xylol, balsam Kanada diteteskan ke dalam sediaan histologi..
- Memasang slide jaringan dengan kaca penutup, memberi label, dan memasukkannya ke dalam kotak sediaan melengkapi prosedur ini.

4.7.7. Terminasi dan pengambilan jaringan ^{66,67}

1. Sebelum mengeluarkan organnya, matikan tikus dengan dosis koktail yang mematikan. Ketamine 60 mg/kgBB dan Xylazine 20 mg/kgBB diperlukan untuk membuat 10 mL cocktail.
2. Organ kulit diambil dari bangkai tikus dan diawetkan dalam RNA later pada suhu -80°C dalam cryotube bebas RNAase

4.7.8. Preparasi Sampel

- Lakukan pengambilan sampel jaringan kulit yang telah diberi perlakuan menggunakan peralatan steril dan dilakukan di atas es secara cepat untuk mencegah degradasi oleh protease.
- Letakkan jaringan yang telah diambil ke dalam tabung cryovial dan rendam dalam nitrogen cair untuk melakukan "snap freeze".

- Simpan sampel pada suhu -80°C untuk digunakan nanti atau simpan di atas es untuk homogenisasi segera.
- Untuk potongan jaringan sekitar ~ 5 mg, tambahkan sekitar ~ 300 μL larutan RIPA buffer ditambah dengan protease inhibitor ke dalam tabung dan homogenkan menggunakan homogenizer Listrik selama 2 menit pada suhu 4°C
- Bilas mata homogenizer dua kali dengan menggunakan 300 μL larutan RIPA buffer
- Lakukan sentrifugasi hasil homogenisasi selama 20 menit pada 13.000 rpm pada suhu 4°C .
- Setelah itu, letakkan tabung di atas es, ambil supernatan ke dalam tabung yang baru dan dingin, dan simpan sampel pada suhu -80°C hingga proses analisis berikutnya dilakukan.

4.7.9. Analisis ELISA

- Tentukan sumuran untuk standar, blanko, dan sampel yang akan dianalisis
- Tambahkan sebanyak 100 μL larutan standar, blanko, dan sampel ke sumur yang telah ditentukan
- Tutup pelat sumuran menggunakan plastik penutup hingga rapat untuk mencegah terjadinya penguapan reagen, kemudian inkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C .

- Buang cairan dari setiap sumur, tanpa pembilasan. Segera tambahkan 100 μ L larutan Antibodi Deteksi Biotinilasi ke setiap sumur.
- Tutupi pelat dengan penutup baru dan inkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.
- Lakukan pencucian dengan menambahkan 350 μ L larutan *wash buffer* ke setiap sumur, diulangi sebanyak 3 kali.
- Tambahkan 100 μ L Konjugat HRP ke setiap sumur.
- Tutupi pelat dengan penutup baru, inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- Buang larutan dari setiap sumur, dan lakukan proses pembilasan sebanyak 5 kali seperti pada langkah 3.
- Tambahkan 90 μ L Reagen Substrat ke setiap sumur.
- Tutupi pelat dengan penutup baru, inkubasi selama sekitar 15 menit pada suhu 37°C.
- Tambahkan 50 μ L larutan Stop ke setiap sumur.
- Ukur Optical Density (OD) dari setiap sumur sekaligus menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

4.8. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian yang mencakup pembuatan *Exosome Hypoxia* MSC, perlakuan terhadap hewan uji, hingga analisis variabel terikat dilakukan di Laboratorium SCCR Semarang, pada bulan Desember hingga Januari 2025.

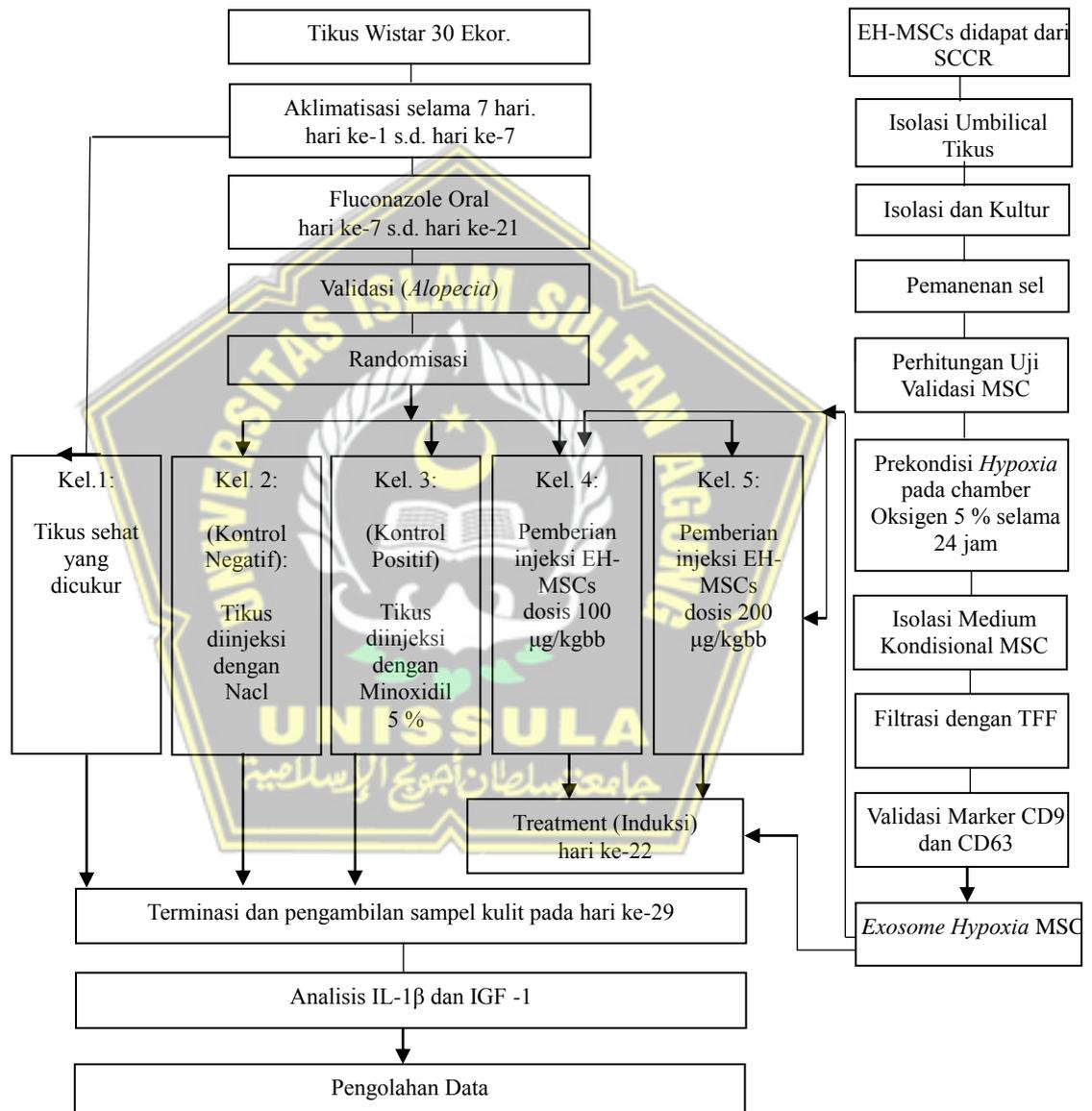
4.9. Analisa Data

Selanjutnya, analisis normalitas dan variasi data dilakukan menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene's Test. Jika hasil menunjukkan data berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$), maka uji One-Way ANOVA akan digunakan. Jika terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) di antara kelompok setelah uji One-Way ANOVA, uji Post Hoc LSD akan diterapkan untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan perbedaan signifikan antar kelompok.

Jika data berdistribusi normal ($p > 0,05$) tetapi tidak homogen ($p < 0,05$), uji One-Way ANOVA tetap dilakukan. Jika perbedaan signifikan ditemukan ($p < 0,05$) antar kelompok, uji Post Hoc Tamhane akan digunakan untuk analisis lebih lanjut. Nilai $p < 0,05$ menandakan perbedaan signifikan.

Jika data tidak berdistribusi normal ($p < 0,05$), uji Kruskal-Wallis akan digunakan. Jika ada perbedaan signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok setelah uji ini, uji Mann-Whitney akan dilakukan untuk mengevaluasi perbedaan antar kelompok. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok.

4.10. Alur Penelitian



Gambar 4.3. Alur Penelitian

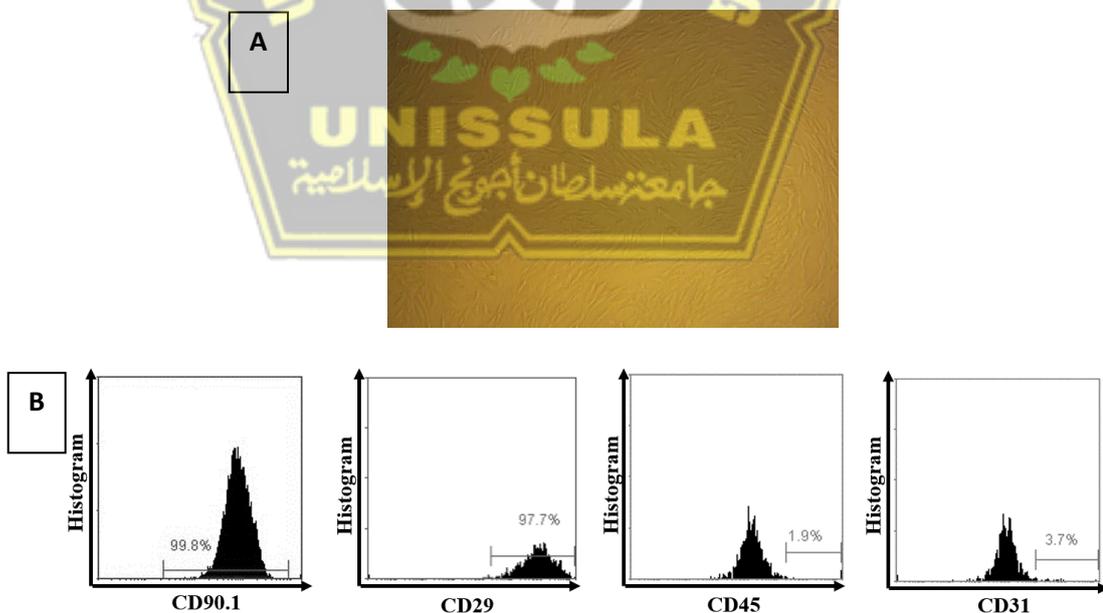
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Hasil Validasi EH-MSCs

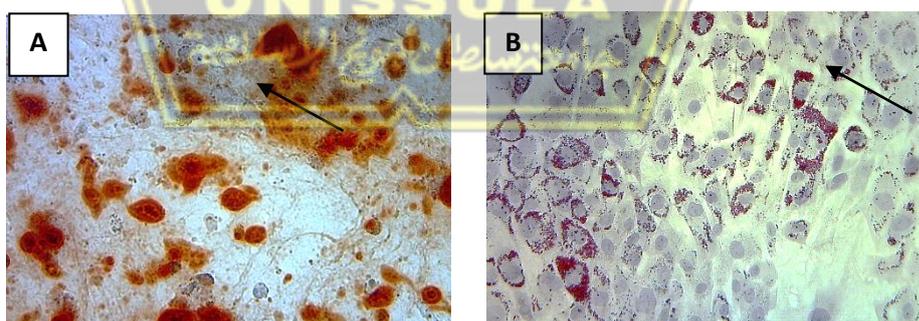
Mesenchymal Stem Cell didapat dari Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat tikus pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam Flask kultur yang berisi media DMEM. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi sel,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



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

Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode flow cytometry menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (99,80%) dan CD29 (97,70%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (1,90%) dan CD31 (3,70%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

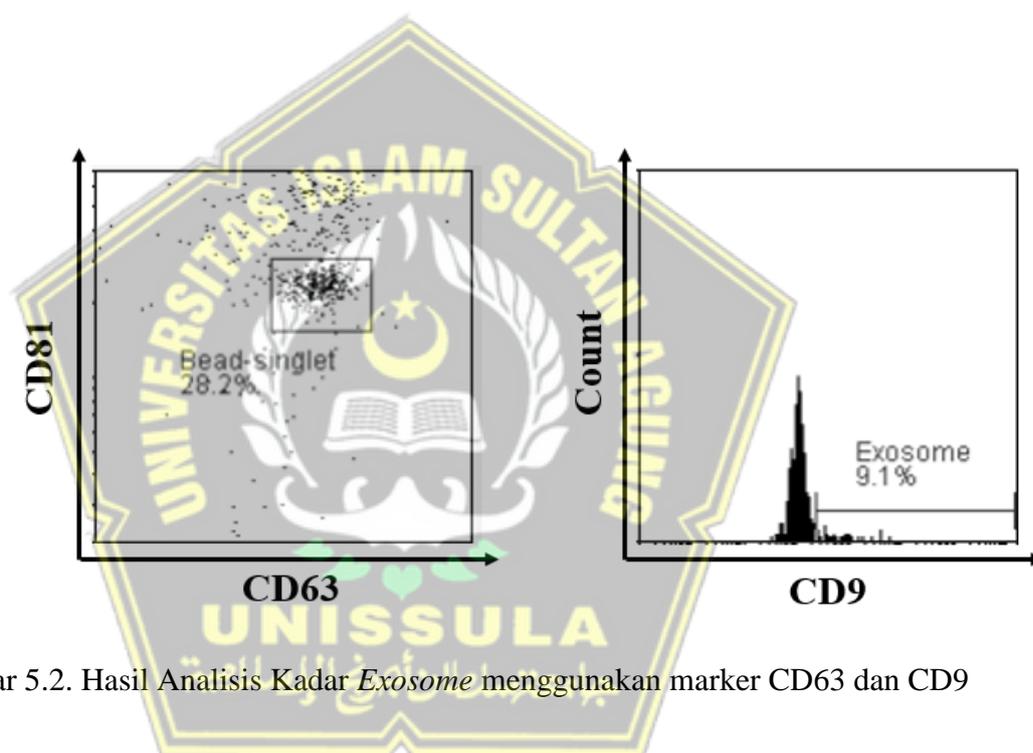
Penelitian ini juga memastikan kapasitas MSC dalam diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa seperti sel osteosit dan sel adipositas yaitu dengan cara memberi medium spesifik menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun adiposit. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami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



Gambar 5.2. (A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna alizarin red dan (B) Adiposit pada pewarnaan oil red o (ditunjukkan dengan panah hitam, perbesaran 400x).

Setelah tervalidasi, MSC kemudian diinkubasi dalam kondisi *Hypoxia*

dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box *Hypoxia*. Setelah itu, medium kultur MSC yang mengandung sekretom MSC dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 100-500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-MSCs. Setelah diisolasi kadar *Exosome* dianalisis menggunakan metode flowcytometry dan didapatkan bahwa kadar *Exosome* yang didapatkan sebesar 0.74 ug/mL (Gambar 5.3).

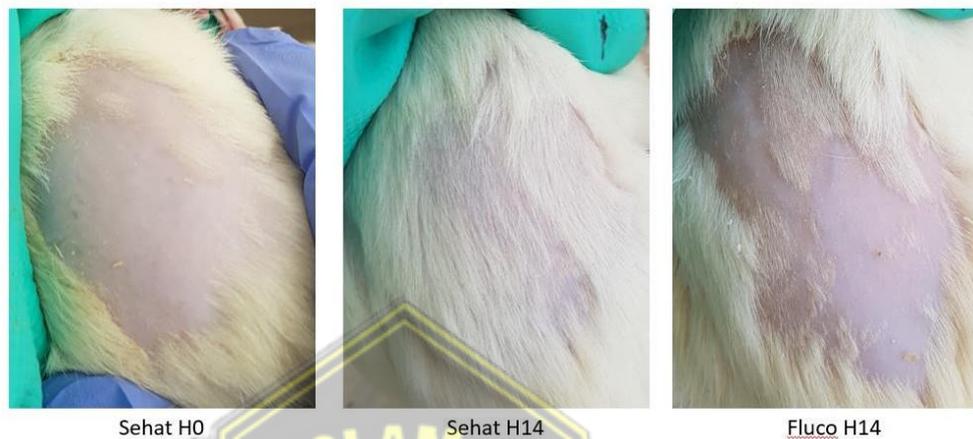


Gambar 5.2. Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker CD63 dan CD9

5.1.2. Hasil Validasi *Alopecia-like*

Validasi pembentukan model alopecia-like pada tikus dilakukan secara makroskopis dengan membandingkan densitas rambut antara tikus sehat dan tikus yang diinduksi fluconazole melalui pengamatan visual. Sebelum induksi, rambut tikus dicukur terlebih dahulu, kemudian pertumbuhan rambut diamati setelah induksi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tikus sehat mampu menumbuhkan rambut kembali dengan densitas yang lebih tinggi, sedangkan tikus

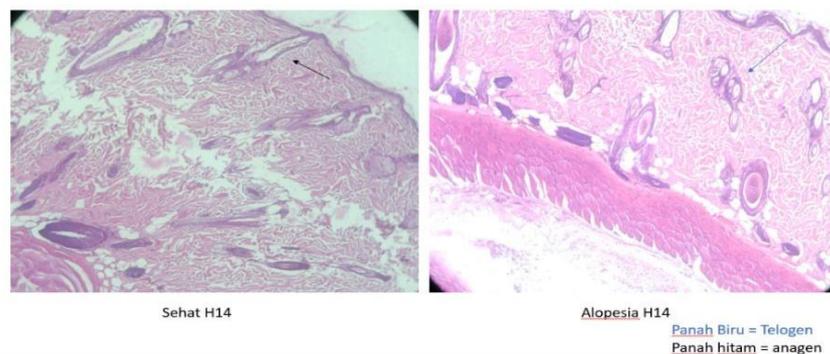
yang diinduksi fluconazole memiliki densitas rambut yang lebih rendah setelah pencukuran, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 5.4



Gambar 5.4. Validasi makroskopis *Alopecia-like*.

Hari ke-14 setelah dicukur, tikus sehat menunjukkan pertumbuhan rambut yang baik, sedangkan tikus yang dipapar fluconazole gagal menunjukkan pertumbuhan rambut yang adekuat

Selain itu, dilakukan juga pengamatan mikroskopis pada kulit punggung yang telah diberi pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE). Hasil analisis menunjukkan bahwa folikel pada model tikus alopecia-like didominasi fase telogen pada kelompok K2, K3, K4 dan K5 dibandingkan dengan kelompok sehat (K1). Hasil validasi dengan pewarnaan HE ditunjukkan pada gambar 5.5



Gambar 5.5. Validasi mikroskopis Tikus sehat dan *Alopecia-like* menggunakan HE. Panah hitam menunjukkan fase anagen dan panah biru menunjukkan fase

telogen

Setelah tikus tervalidasi mengalami *Alopecia-like*, tikus yang tanpa induksi fluconazole digunakan sebagai kontrol sehat (K1), sedangkan tikus yang mengalami *Alopecia-like* akibat induksi fluconazole dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (tikus *Alopecia-like* dengan injeksi Aquabides dengan dosis 100 uL secara subkutan), K3 (tikus *Alopecia-like* dengan injeksi minoxidil dengan dosis 100 uL secara subkutan), K4 dan K5 (tikus *Alopecia-like* dengan injeksi EH-MSCs dengan dosis masing-masing 100 uL dan 200 uL secara subkutan).

Injeksi EH-MSCs diberikan sekali pada hari ke-1 setelah tikus dinyatakan mengalami *Alopecia-like*, dan pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-14 setelah injeksi. Jaringan kulit kemudian dihomogenisasi menggunakan RIPA buffer yang telah ditambahkan inhibitor proteinase untuk menghambat kerusakan protein. Setelah jaringan terhomogenisasi menjadi suspensi, proses sentrifugasi dilakukan, dan supernatan dikumpulkan untuk analisis kadar IL-1 β dan IGF-1 menggunakan metode ELISA.

5.1.3. Kadar IL-1 β

Data kadar IL-1 β dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan antar kelompok. Kelompok K2 memiliki kadar IL-1 β tertinggi, yaitu $1157,20 \pm 109,72$ pg/mL, diikuti oleh K3 dengan $799,10 \pm 95,07$ pg/mL, dan K4 dengan $450,47 \pm 32,91$ pg/mL. Kelompok K1 memiliki kadar

yang lebih rendah sebesar $277,70 \pm 10,13$ pg/mL, sementara kadar terendah ditemukan pada K5 dengan $271,90 \pm 11,87$ pg/mL.

Analisis distribusi data menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan bahwa distribusi data pada setiap kelompok adalah normal ($p > 0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test mengonfirmasi bahwa data kadar IL-1 β pada kelima kelompok memiliki varians yang tidak homogen ($p < 0,05$).

Analisis perbedaan kadar IL-1 β antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Dengan kata lain, perlakuan atau kondisi pada setiap kelompok memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar IL-1 β .

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis Kadar IL-1 β

Variabel	Kelompok					P
	K1 (pg/mL) Rerata \pm SD	K2 (pg/mL) Rerata \pm SD	K3 (pg/mL) Rerata \pm SD	K4 (pg/mL) Rerata \pm SD	K5 (pg/mL) Rerata \pm SD	
IL-1β	277,70	1157,20	799,10	450,47	271,90	
Std. deviasi	10,13	109,72	95,07	32,91	11,87	
Shapiro Wilk						>0,05
Lavene test						<0,05
One Way Anova						0,00

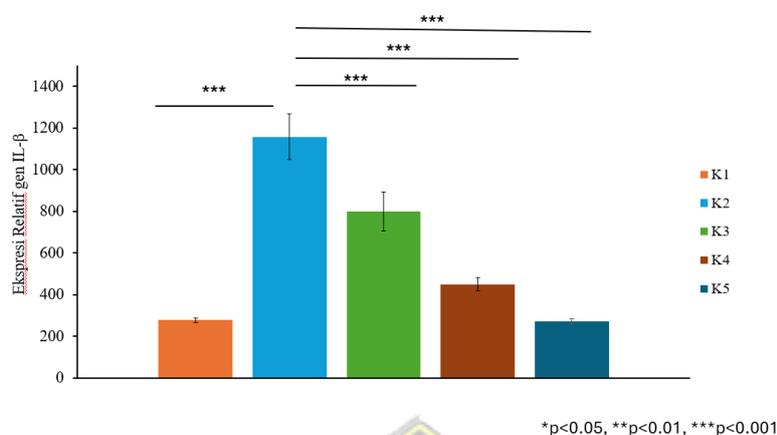
Berdasarkan data kadar IL-1 β yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc Tamhane, karena data bersifat normal, namun

tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.2.

Tabel 5.2. Perbedaan rerata kadar IL-1 β antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,000
	K3	0,000
	K4	0,000
	K5	0,992
K2	K3	0,001
	K4	0,000
	K5	0,000
K3	K4	0,001
	K5	0,000
K4	K5	0,000

Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dibanding dengan seluruh kelompok ($p < 0,05$), sedangkan K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2, K3, dan K4 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kadar IL-1 β pada kelompok K5 memiliki kadar IL-1 β yang sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.6. Grafik Kadar IL-1 β pada jaringan kulit setelah pemberian EH-MSCs

5.1.4 Kadar IGF-1

Data kadar IGF-1 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan antar kelompok. Kelompok K1 memiliki kadar IGF-1 tertinggi, yaitu $32,97 \pm 6,91$ pg/mL, diikuti oleh K5 dengan $31,04 \pm 1,58$ pg/mL, dan K4 dengan $27,91 \pm 0,31$ pg/mL. Kelompok K3 memiliki kadar yang lebih rendah, yaitu $23,25 \pm 1,25$ pg/mL, sedangkan kadar IGF-1 terendah ditemukan pada kelompok K2 dengan $17,19 \pm 1,90$ pg/mL.

Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data kadar IGF-1 pada semua kelompok memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Selanjutnya, uji homogenitas varians menggunakan Levene test mengonfirmasi bahwa data kadar IGF-1 pada kelima kelompok memiliki varians yang tidak homogen ($p < 0,05$). Hasil analisis ini kemudian dilanjutkan dengan analisis perbedaan kadar IGF-1 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang memberikan hasil signifikan secara

statistik ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada kadar IGF-1 antar kelompok.

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Kadar IGF-1

Variabel	Kelompok					P
	K1 (pg/mL) Rerata±SD	K2 (pg/mL) Rerata±SD	K3 (pg/mL) Rerata±SD	K4 (pg/mL) Rerata±SD	K5 (pg/mL) Rerata±SD	
IGF-1	32,97	17,19	23,25	27,91	31,04	
Std. deviasi	6,91	1,90	1,25	0,31	1,58	
Shapiro Wilk						>0,05
Lavene test						<0,05
One Way Anova						0,00

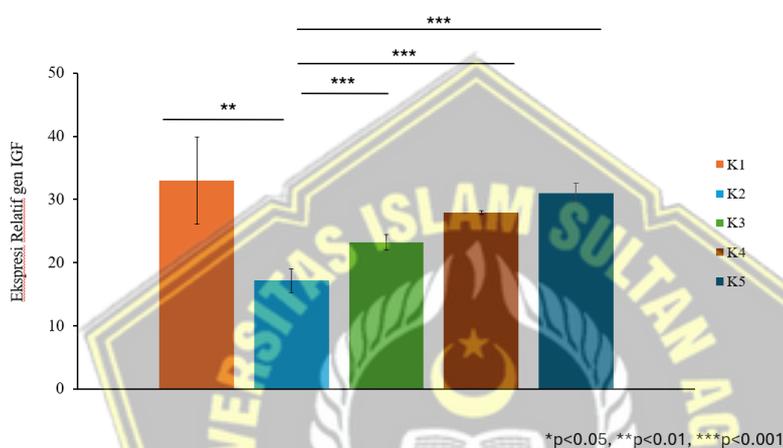
Berdasarkan data kadar IGF-1 yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc Tamhane, karena data bersifat normal, namun tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Perbedaan rerata kadar IGF-1 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0.019
	K3	0,162
	K4	0,759
	K5	0,999
K2	K3	0,001
	K4	0,000
	K5	0,000
K3	K4	0,002
	K5	0,000
K4	K5	0,041

Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K4 berbeda signifikan dibanding dengan K2, K3 dan K5 ($p < 0,05$) dan tidak berbeda signifikan dibanding

dengan K1 ($p > 0,05$), sedangkan K5 berbeda secara signifikan dengan kelompok K2, K3 dan K4 ($p < 0,05$), dan tidak berbeda secara signifikan dibanding dengan K1 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa kadar IGF-1 pada kelompok K4 dan K5 memiliki kadar IGF-1 yang sama dengan kelompok sehat.



Gambar 5.7. Grafik Kadar IGF-1 pada jaringan kulit setelah pemberian EH-MSCs

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Salah satu penyebab *Alopecia-like* adalah fluconazole, obat yang termasuk dalam kelompok triazole dan diketahui berinteraksi dengan enzim P-450.³⁸ Enzim P-450, yang merupakan hemoprotein, berperan sebagai katalis dalam metabolisme asam lemak, xenobiotik, obat-obatan, racun, dan karsinogen.⁷⁴ Penggunaan fluconazole dalam dosis tinggi dapat meningkatkan kadar retinoid endogen, yang dapat menyebabkan kerontokan rambut bersifat reversibel. *Interleukin-1 β* (IL-1 β) adalah sitokin yang secara signifikan menginduksi kerontokan rambut dan menghambat pertumbuhan rambut manusia, sementara penurunan kadar *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1) juga berkontribusi pada *alopecia-like*.^{5,26}

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efek injeksi EH-MSCs terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 pada tikus model alopecia-like, yang diinduksi melalui paparan fluconazole selama dua minggu. Peradangan kronis memainkan peran penting dalam alopecia-like, dengan faktor transkripsi NF- κ B sebagai pengatur utama sistem imun bawaan dan adaptif serta mediator kunci dalam respons inflamasi. NF- κ B mengatur ekspresi gen pro-inflamasi, termasuk sitokin dan kemokin, yang memperburuk proses inflamasi. Aktivasi NF- κ B yang tidak terkontrol dapat memicu berbagai penyakit inflamasi. Proses inflamasi dimulai ketika sel-sel inflamasi merespons molekul sinyal bahaya yang dilepaskan akibat kerusakan jaringan atau paparan mikroorganisme patogen maupun faktor lain.

Pada penelitian sebelumnya pernah diteliti potensi terapeutik *Exosome* yang berasal dari sel induk jaringan adiposa (ADSC-Exos) untuk alopecia yang dimediasi oleh sistem imun. ADSC-Exos terbukti meningkatkan proliferasi, migrasi, dan menghambat apoptosis sel papila dermal (DPC) secara in vitro.³² Secara in vivo, menggunakan model tikus C57BL/6, injeksi subkutan ADSC-Exos saja atau dikombinasikan dengan minoksidil secara signifikan meningkatkan pertumbuhan rambut dengan memperbaiki jumlah folikel rambut dan ketebalan dermis.³² Secara mekanisme, ADSC-Exos menurunkan ekspresi miR-22 dan jalur sinyal TNF- α , serta mengaktifkan jalur Wnt/ β -catenin, mendukung perannya sebagai strategi terapi bebas sel yang menjanjikan untuk pengobatan alopecia.³²

Dalam studi ini EH-MSCs (exosome hypoxia-mesenchymal stem cells) telah diidentifikasi sebagai alternatif terapeutik menjanjikan untuk berbagai kondisi regeneratif dan inflamasi, termasuk *Alopecia-like*. Salah satu mekanisme

utamanya adalah melalui pengiriman miRNA yang terkandung dalam *Exosome*. MiRNA, molekul kecil pengatur gen, dapat menarget mRNA spesifik untuk menghambat translasi atau menyebabkan degradasi. MiRNA dalam EH-MSCs, seperti miR-146a dan miR-126, memiliki peran penting dalam mengatur jalur biologis terkait pengendalian kadar IL-1 β dan IGF-1.¹²⁻¹⁶

miR-146a dikenal dalam konteks pengendalian inflamasi yang dapat menghambat jalur NF- κ B, yang merupakan pengendali utama produksi sitokin inflamasi, miRNA-146a menghambat NF- κ B melalui mekanisme *post-transcriptional gene silencing*. miRNA-146a berikatan dengan mRNA target seperti TRAF6 (*TNF receptor-associated factor 6*) dan IRAK1 (Interleukin-1 receptor-associated kinase 1), dua adaptor kunci dalam jalur sinyal NF- κ B. Ikatan ini memicu degradasi mRNA target atau menghambat translasi protein, sehingga mengurangi ekspresi TRAF6 dan IRAK1.¹⁴ Dengan penurunan adaptor ini, aktivasi NF- κ B oleh stimulus inflamasi, seperti IL-1 β atau TNF- α , menjadi terhambat. Akibatnya, transkripsi gen pro-inflamasi yang diatur oleh NF- κ B, seperti IL-6, TNF- α , dan IL-1 β , berkurang. miRNA-146a bertindak sebagai regulator negatif dalam inflamasi untuk mencegah respon inflamasi berlebihan.

Sementara miR-126 berperan dalam meningkatkan ekspresi IGF-1 yang mendukung regenerasi jaringan, terutama folikel rambut. miR-126 meningkatkan ekspresi IGF-1 melalui mekanisme yang melibatkan DLK1 (*Delta-like 1 homolog*) dan jalur PI3K/Akt. miR-126 menekan ekspresi target negatif DLK1, sebuah regulator yang dapat menghambat aktivitas jalur PI3K/Akt.^{15,16} Dengan menekan DLK1, miR-126 secara tidak langsung meningkatkan aktivasi PI3K/Akt,

yang merupakan jalur hilir utama dalam regulasi sintesis dan aktivitas IGF-1.^{15,16} PI3K/Akt yang aktif mendukung ekspresi IGF-1 melalui aktivasi faktor transkripsi.^{15,16} Melalui penghambatan DLK1 dan aktivasi PI3K/Akt, miR-126 memainkan peran penting dalam meningkatkan ekspresi dan fungsi IGF-1, mendukung pertumbuhan sel dan regenerasi jaringan IGF-1 membantu mempromosikan fase anagen (pertumbuhan) dan mencegah apoptosis sel-sel folikel rambut, dan memperbaiki kerusakan akibat alopecia.⁷

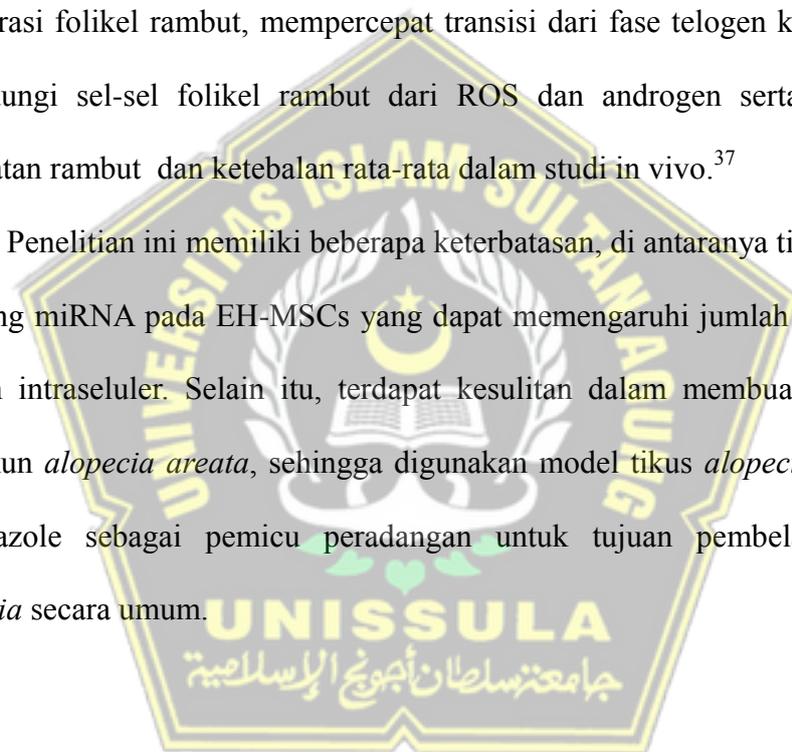
Temuan riset ini memperlihatkan bahwasanya kelompok K4 dan K5 memiliki kadar IL-1 β yang jauh lebih rendah dan kadar IGF-1 yang lebih tinggi dibanding kelompok lainnya. Uji One way Anova ($p < 0,05$) hasilnya $p = 0,000$ untuk kadar IL-1 β , dan uji One way Anova ($p < 0,05$) hasilnya $p = 0,000$ untuk kadar IGF-1. Dibandingkan dengan kelompok sehat, kelompok K5 menunjukkan kadar IL-1 β yang setara dengan kelompok sehat. Uji Post hoc tamhane (0,992). Selain itu, kadar IGF-1 pada kelompok K4 dan K5 juga sebanding dengan yang ditemukan pada kelompok sehat. Uji Post hoc tamhane K1 dengan K4 (0,759). Uji Post hoc tamhane K1 dengan K5 (0,999).

Temuan ini memperlihatkan bahwasanya pemberian EH-MSCs bisa memodulasi imunitas dan mengurangi respons inflamasi. Penurunan IL-1 β mengindikasikan aktivasi jalur biologis yang mengurangi inflamasi di sekitar folikel rambut. IL-1 α dan IL-1 β , diketahui menyebabkan perubahan patologis pada folikel rambut, seperti vakuolisasi sel matriks, disorganisasi melanosit, dan keratinisasi abnormal pada kasus Alopecia Areata.²⁶

Sebaliknya, peningkatan IGF-1 mendorong pertumbuhan kembali rambut dengan membantu mempromosikan fase anagen (pertumbuhan) dan mencegah apoptosis sel-sel folikel rambut. Dengan demikian, peningkatan ekspresi IGF-1 pada keratinosit folikel rambut dapat mempercepat pertumbuhan rambut, meningkatkan ukuran folikel, dan menambah ketebalan rambut.^{5,7}

Riset ini konsisten Ch Huh et al (2019) Exosome dapat merangsang proliferasi folikel rambut, mempercepat transisi dari fase telogen ke anagen, dan melindungi sel-sel folikel rambut dari ROS dan androgen serta peningkatan kepadatan rambut dan ketebalan rata-rata dalam studi in vivo.³⁷

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, di antaranya tidak dilakukan profiling miRNA pada EH-MSCs yang dapat memengaruhi jumlah serta ekspresi protein intraseluler. Selain itu, terdapat kesulitan dalam membuat model tikus autoimun *alopecia areata*, sehingga digunakan model tikus *alopecia-like* dengan fluconazole sebagai pemicu peradangan untuk tujuan pembelajaran terkait *alopecia* secara umum.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi EH-MSCs secara subcutan terhadap kadar IL-1 β dan IGF-1 pada tikus jantan galur Wistar model *Alopecia-like* menunjukkan hal-hal berikut:

1. Terdapat perbedaan kadar IL-1 β antara kelompok Tikus yang diberikan *Exosome Hypoxia* MSC dosis 100 μ g/kgbb dan 200 μ g/kgbb dengan kelompok kontrol pada tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole.
2. Terdapat perbedaan kadar IGF-1 antara kelompok Tikus yang diberikan *Exosome Hypoxia* MSC dosis 100 μ g/kgbb dan 200 μ g/kgbb dengan kelompok kontrol pada tikus model *alopecia-like* yang diinduksi fluconazole.

6.2. Saran

1. Studi yang akan datang diharapkan untuk mengukur kadar, ekspresi protein intraseluler, dan ekspresi miRNA
2. Studi yang akan datang diharapkan dapat menggunakan model tikus *Alopecia Areata*

3. Studi yang akan datang dapat menilai pemberian *Exosome* dengan injeksi microneedle di daerah lesi kebotakan dan varian dosis yang berbeda

DAFTAR PUSTAKA

1. Santos Z, Avci P, Hamblin MR. Drug discovery for alopecia: Gone today, hair tomorrow. *Expert Opin Drug Discov.* 2015;10(3):269-292. doi:10.1517/17460441.2015.1009892
2. Workman K, Piliang M. Approach to the patient with hair loss. *J Am Acad Dermatol.* 2023;89(2):S3-S8. doi:10.1016/j.jaad.2023.05.040
3. Ntshingila S, Oputu O, Arowolo AT, Khumalo NP. Androgenetic alopecia: An update. *JAAD Int.* 2023;13:150-158. doi:10.1016/j.jdin.2023.07.005
4. Alhanshali L, Buontempo M, Shapiro J, Lo Sicco K. Medication-induced hair loss: An update. *J Am Acad Dermatol.* 2023;89(2):S20-S28. doi:10.1016/j.jaad.2023.04.022
5. Trüeb RM. Further clinical evidence for the effect of IGF-1 on hair growth and alopecia. *Skin Appendage Disord.* 2018;4(2):90-95. doi:10.1159/000479333
6. Panchaprateep R, Asawanonda P. Insulin-like growth factor-1: Roles in androgenetic alopecia. *Exp Dermatol.* 2014;23(3):216-218. doi:10.1111/exd.12339
7. Ahn SY, Pi LQ, Hwang ST, Lee WS. Effect of IGF-I on hair growth is related to the anti-apoptotic effect of IGF-I and up-regulation of PDGF-A and PDGF-B. *Ann Dermatol.* 2012;24(1):26-31. doi:10.5021/ad.2012.24.1.26
8. Mantovani A, Dinarello CA, Molgora M, Garlanda C. Interleukin-1 and Related Cytokines in the Regulation of Inflammation and Immunity. *Immunity.* 2019;50(4):778-795. doi:10.1016/j.immuni.2019.03.012
9. Dinarello CA. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood.* 2011;117(14):3720-3732. doi:10.1182/blood-2010-07-273417
10. Weger N, Schlake T. IGF-I signalling controls the hair growth cycle and the differentiation of hair shafts. *Journal of Investigative Dermatology.* 2005;125(5):873-882. doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23946.x

11. Kim M, Shin D Il, Choi BH, Min BH. Exosomes from IL-1 β -Primed Mesenchymal Stem Cells Inhibited IL-1 β - and TNF- α -Mediated Inflammatory Responses in Osteoarthritic SW982 Cells. *Tissue Eng Regen Med.* 2021;18(4):525-536. doi:10.1007/s13770-020-00324-x
12. Dong J, Wu B, Tian W. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells (hypoMSCs-Exo): advantages in disease treatment. *Cell Tissue Res.* 2023;392(3):621-629. doi:10.1007/s00441-023-03758-6
13. Ajit A, Nair MD, Venugopal B. Exploring the Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes for the Treatment of Alopecia. *Regen Eng Transl Med.* 2021;7(2):119-128. doi:10.1007/s40883-021-00204-3
14. Lv Q, Wang Y, Tian W, et al. Exosomal miR-146a-5p derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells can alleviate antiphospholipid antibody-induced trophoblast injury and placental dysfunction by regulating the TRAF6/NF- κ B axis. *J Nanobiotechnology.* 2023;21(1). doi:10.1186/s12951-023-02179-5
15. Kim W, Noh H, Lee Y, et al. MiR-126 Regulates Growth Factor Activities and Vulnerability to Toxic Insult in Neurons. *Mol Neurobiol.* 2016;53(1):95-108. doi:10.1007/s12035-014-8989-x
16. Kim W, Noh H, Lee Y, et al. MiR-126 Regulates Growth Factor Activities and Vulnerability to Toxic Insult in Neurons. *Mol Neurobiol.* 2016;53(1):95-108. doi:10.1007/s12035-014-8989-x
17. Rambawasvika H. Alopecia types, current and future treatment. *Journal of Dermatology & Cosmetology.* 2021;5(4):93-99. doi:10.15406/jdc.2021.05.00190
18. Xu W, Wan S, Xie B, Song X. Novel potential therapeutic targets of alopecia areata. *Front Immunol.* 2023;14. doi:10.3389/fimmu.2023.1148359
19. Bagherani N, Hasić-Mujanović M, Smoller B, et al. Disorders of Hair. In: *Atlas of Dermatology, Dermatopathology and Venereology: Inflammatory Dermatoses: Volume 1,2.* Vol 1. Springer International Publishing; 2021:669-742. doi:10.1007/978-3-319-53808-2_53
20. Wolff H, Fischer TW, Blume-Peytavi U. Diagnostik und Therapie von Haar- und Kopfhauterkrankungen. *Dtsch Arztebl Int.* 2016;113(21):377-386. doi:10.3238/arztebl.2016.0377

21. Zhou Y, Jia L, Zhou D, Chen G, Fu Q, Li N. Advances in microneedles research based on promoting hair regrowth. *Journal of Controlled Release*. 2023;353:965-974. doi:10.1016/j.jconrel.2022.12.040
22. Santos Z, Avci P, Hamblin MR. Drug discovery for alopecia: Gone today, hair tomorrow. *Expert Opin Drug Discov*. 2015;10(3):269-292. doi:10.1517/17460441.2015.1009892
23. Goldberg LJ. Alopecia – New building blocks. *J Am Acad Dermatol*. 2023;89(2):S1-S2. doi:10.1016/j.jaad.2023.05.048
24. Phillips TG, Slomiany ; W Paul, Allison R. *Hair Loss: Common Causes and Treatment*. Vol 96.; 2017. www.aafp.org/afp
25. Abdin R, Zhang Y, Jimenez JJ. Treatment of Androgenetic Alopecia Using PRP to Target Dysregulated Mechanisms and Pathways. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9. doi:10.3389/fmed.2022.843127
26. Gregoriou S, Papafragkaki D, Kontochristopoulos G, Rallis E, Kalogeromitros D, Rigopoulos D. Cytokines and other mediators in alopecia areata. *Mediators Inflamm*. 2010;2010. doi:10.1155/2010/928030
27. Li K, Sun Y, Liu S, et al. The AR/miR-221/IGF-1 pathway mediates the pathogenesis of androgenetic alopecia. *Int J Biol Sci*. 2023;19(11):3307-3323. doi:10.7150/ijbs.80481
28. Peterle L, Sanfilippo S, Borgia F, Cicero N, Gangemi S. Alopecia Areata: A Review of the Role of Oxidative Stress, Possible Biomarkers, and Potential Novel Therapeutic Approaches. *Antioxidants*. 2023;12(1). doi:10.3390/antiox12010135
29. Lurie R, Ben-Amitai D, Laron Z. Laron syndrome (Primary growth hormone insensitivity): A unique model to explore the effect of insulin-like growth factor 1 deficiency on human hair. *Dermatology*. 2004;208(4):314-318. doi:10.1159/000077839
30. Bak DH, Choi MJ, Kim SR, et al. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells engineered to overexpress growth factors accelerate outcomes in hair growth. *Korean Journal of Physiology and Pharmacology*. 2018;22(5):555-566. doi:10.4196/kjpp.2018.22.5.555
31. Legiawati L, Suseno LS, Sitohang IBS, Pratama AI. Hair disorder in dr. Cipto Mangunkusumo cosmetic dermatology and venereology outpatient clinic of Jakarta, Indonesia: A socio-demographic and clinical evaluation. *Dermatol Reports*. 2022;14(3). doi:10.4081/dr.2022.9341
32. Li Y, Wang G, Wang Q, Zhang Y, Cui L, Huang X. Exosomes Secreted from Adipose-Derived Stem Cells Are a Potential Treatment Agent for

- Immune-Mediated Alopecia. *J Immunol Res.* 2022;2022.
doi:10.1155/2022/7471246
33. Dong J, Wu B, Tian W. Exosomes derived from hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells (hypoMSCs-Exo): advantages in disease treatment. *Cell Tissue Res.* 2023;392(3):621-629. doi:10.1007/s00441-023-03758-6
 34. Ajit A, Nair MD, Venugopal B. Exploring the Potential of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes for the Treatment of Alopecia. *Regen Eng Transl Med.* 2021;7(2):119-128. doi:10.1007/s40883-021-00204-3
 35. Zhao C, Li J, Cai H, et al. An injectable hydrogel scaffold with IL-1 β -activated MSC-derived exosomes for the treatment of endometritis. *Biomater Sci.* 2022;11(4):1422-1436. doi:10.1039/d2bm01586b
 36. Ke Ma, Huiyou Xu, Jian Zhang, et al. Insulin-like growth factor-1 enhances neuroprotective effects of neural stem cell exosomes after spinal cord injury via an miR-219a-2-3p/YY1 mechanism. *Aging.* 2019;11(24).
 37. Hospital D, Seongnam G. *Exosome for Hair Regeneration: From Bench to Bedside.* www.tcpdf.org
 38. Thompson Iii GR, Krois CR, Affolter VK, et al. Examination of Fluconazole-Induced Alopecia in an Animal Model and Human Cohort. Published online 2019. doi:10.1128/AAC
 39. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8-27. doi:10.1111/imr.12621
 40. Axel Weber, Peter Wasiliew, Michael Kracht. Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Sci Signal.* 2010;3(105).
 41. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther.* 2017;2. doi:10.1038/sigtrans.2017.23
 42. Shin JM, Choi DK, Sohn KC, et al. Double-stranded RNA induces inflammation via the NF- κ B pathway and inflammasome activation in the outer root sheath cells of hair follicles. *Sci Rep.* 2017;7. doi:10.1038/srep44127
 43. Horesh EJ, Chéret J, Paus R. Growth hormone and the human hair follicle. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24). doi:10.3390/ijms222413205
 44. Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A. *The Somatomedin Hypothesis: 2001.*; 2001.
<https://academic.oup.com/edrv/article/22/1/53/2424011>

45. Ahn SY, Pi LQ, Hwang ST, Lee WS. Effect of IGF-I on hair growth is related to the anti-apoptotic effect of IGF-I and up-regulation of PDGF-A and PDGF-B. *Ann Dermatol*. 2012;24(1):26-31. doi:10.5021/ad.2012.24.1.26
46. Strazzulla LC, Wang EHC, Avila L, et al. Alopecia areata: Disease characteristics, clinical evaluation, and new perspectives on pathogenesis. *J Am Acad Dermatol*. 2018;78(1):1-12. doi:10.1016/j.jaad.2017.04.1141
47. Sibbald C. *Alopecia Areata: An Updated Review for 2023*. Vol 27.; 2023.
48. Żeberkiewicz M, Rudnicka L, Malejczyk J. Immunology of alopecia areata. *Central European Journal of Immunology*. 2021;45(3):325-333. doi:10.5114/CEJI.2020.101264
49. Phillips TG, Slomiany ; W Paul, Allison R. *Hair Loss: Common Causes and Treatment*. Vol 96.; 2017. www.aafp.org/afp
50. Asghar F, Shamim N, Farooque U, Sheikh H, Aqeel R. Telogen Effluvium: A Review of the Literature. *Cureus*. Published online May 27, 2020. doi:10.7759/cureus.8320
51. Rambawasvika H. Alopecia types, current and future treatment. *Journal of Dermatology & Cosmetology*. 2021;5(4):93-99. doi:10.15406/jdc.2021.05.00190
52. Harrison S, Bergfeld W. Diffuse hair loss: Its triggers and management. *Cleve Clin J Med*. 2009;76(6):361-367. doi:10.3949/ccjm.76a.08080
53. Concha JSS, Werth VP. Alopecias in lupus erythematosus. *Lupus Sci Med*. 2018;5(1). doi:10.1136/lupus-2018-000291
54. Natarelli N, Gahoonia N, Sivamani RK. Integrative and Mechanistic Approach to the Hair Growth Cycle and Hair Loss. *J Clin Med*. 2023;12(3). doi:10.3390/jcm12030893
55. Grymowicz M, Rudnicka E, Podfigurna A, et al. Hormonal effects on hair follicles. *Int J Mol Sci*. 2020;21(15):1-13. doi:10.3390/ijms21155342
56. Du F, Li J, Zhang S, Zeng X, Nie J, Li Z. Oxidative stress in hair follicle development and hair growth: Signalling pathways, intervening mechanisms and potential of natural antioxidants. *J Cell Mol Med*. 2024;28(12). doi:10.1111/jcmm.18486
57. Alonso L, Fuchs E. The hair cycle. *J Cell Sci*. 2006;119(3):391-393. doi:10.1242/jcs02793

58. Peng CA, Gaertner AAE, Henriquez SA, et al. Fluconazole induces ROS in *Cryptococcus neoformans* and contributes to DNA damage in vitro. *PLoS One*. 2018;13(12). doi:10.1371/journal.pone.0208471
59. Li Y, Wang J, Wang Y, He W, Zhang Y, Liu Y. IL-1 β /NF- κ B signaling inhibits IGF-1 production via let-7f-5p in dendritic epidermal T cells. *J Leukoc Biol*. 2022;112(6):1677-1690. doi:10.1002/JLB.3MA0322-171R
60. An T, Chen Y, Tu Y, Lin P. Mesenchymal Stromal Cell-Derived Extracellular Vesicles in the Treatment of Diabetic Foot Ulcers: Application and Challenges. *Stem Cell Rev Rep*. Published online 2021. doi:10.1007/s12015-020-10014-9
61. Novello S, Pellen-Mussi P, Jeanne S. Mesenchymal stem cell-derived small extracellular vesicles as cell-free therapy: Perspectives in periodontal regeneration. *J Periodontol Res*. 2021;56(3):433-442. doi:10.1111/JRE.12866
62. Casado-Díaz A, Quesada-Gómez JM, Dorado G. Extracellular Vesicles Derived From Mesenchymal Stem Cells (MSC) in Regenerative Medicine: Applications in Skin Wound Healing. *Front Bioeng Biotechnol*. 2020;8(March):1-19. doi:10.3389/fbioe.2020.00146
63. Kazi T, Nagata A, Nakagawa T, Matsuzaki T, Inui S. Dermal Papilla Cell-Derived Extracellular Vesicles Increase Hair Inductive Gene Expression in Adipose Stem Cells via β -Catenin Activation. *Cells*. 2022;11(2). doi:10.3390/cells11020202
64. Zhang X, Bao P, Zheng Q, et al. Comparative Analysis of mRNA and miRNA Expression between Dermal Papilla Cells and Hair Matrix Cells of Hair Follicles in Yak. *Cells*. 2022;11(24). doi:10.3390/cells11243985
65. Winkler I, Engler JB, Vieira V, et al. MicroRNA-92a-CPEB3 axis protects neurons against inflammatory neurodegeneration. *Sci Adv*. 2023;9(47). doi:10.1126/SCIADV.ADI6855
66. Liao Z, Zheng R, Shao G. Mechanisms and application strategies of miRNA-146a regulating inflammation and fibrosis at molecular and cellular levels (Review). *Int J Mol Med*. 2023;51(1). doi:10.3892/ijmm.2022.5210
67. Chairoungdua A, Smith DL, Pochard P, Hull M, Caplan MJ. Exosome release of β -catenin: A novel mechanism that antagonizes Wnt signaling. *Journal of Cell Biology*. 2010;190(6):1079-1091. doi:10.1083/jcb.201002049

68. Choi JS, Yoon HI, Lee KS, et al. Exosomes from differentiating human skeletal muscle cells trigger myogenesis of stem cells and provide biochemical cues for skeletal muscle regeneration. *Journal of Controlled Release*. Published online 2016. doi:10.1016/j.jconrel.2015.12.018
69. Ruvolo PP, Jacamo R, Ruvolo VR, et al. Exosomes Mediate Communication Between the Microenvironment and Leukemic Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Blood*. 2012;120(21):3469-3469. doi:10.1182/blood.v120.21.3469.3469
70. Qu Q, Pang Y, Zhang C, Liu L, Bi Y. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells inhibit vein graft intimal hyperplasia and accelerate reendothelialization by enhancing endothelial function. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1). doi:10.1186/s13287-020-01639-1
71. Kang K, Ma R, Cai W, et al. Exosomes Secreted from CXCR4 Overexpressing Mesenchymal Stem Cells Promote Cardioprotection via Akt Signaling Pathway following Myocardial Infarction. *Stem Cells Int*. 2015;2015. doi:10.1155/2015/659890
72. González-Cubero E, González-Fernández ML, Gutiérrez-Velasco L, Navarro-Ramírez E, Villar-Suárez V. Isolation and characterization of exosomes from adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J Anat*. 2021;238(5):1203-1217. doi:10.1111/joa.13365
73. Widayati RE. *PENGARUH EKSTRAK ALOE VERA TOPIKAL TERHADAP EKSPRESI MMP-1 DAN RASIO KOLAGEN TIPE I DAN III Studi Eksperimental Pada Kulit Mencit Balb/c Yang Dipapar Radiasi UVB*. Universitas Islam Sultan Agung; 2017.
74. Lu Y, Cederbaum AI. *CYP2E1 and Oxidative Liver Injury by Alcohol*.