

**PENGARUH *EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL
STEM CELLS (EH-MSCs)* TERHADAP EKSPRESI
CXCL12 DAN IL-10**

**(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Mencit c57BL6 model *Alopecia
Androgenic* yang diinduksi *Dihydrotestosterone*)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Denawati
MBK.24.23.010437

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

TESIS
**PENGARUH EXOSOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (EH-
MSCs) TERHADAP EKSPRESI CXCL12 DAN IL-10 (Studi Eksperimental
in Vivo Pada Mencit c57BL/6 model Alopecia Androgenic yang diinduksi
Dihydrotestosterone)**

disusun oleh
Denawati
MBK.24.23.010437

yang dipertahankan didepan Tim Penguji
pada tanggal 29 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima
Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

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

Dr. dr. Sri Priyanti Mulyani, Sp.A

NIP. 210.113.160

NIP. 210.105.097

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.



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Denawati
Tempat / tanggal lahir : Jambi, 17 November 1973
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Islam Said Naum Jakpus : Lulus Tahun 1978
2. SD Islam Said Naum Jakpus : Lulus Tahun 1985
3. SMP Islam Said Naum Jakpus : Lulus Tahun 1988
4. SMAN 25 Jakpus : Lulus Tahun 1991
5. S1 Fakultas Kedokteran Gigi
Prof.DR Moestopo : Lulus Tahun 1998
6. Profesi Dokter Gigi : Lulus Tahun 1998
7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2023 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Sumpono
2. Nama Anak : Fabio M. Ihsan

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga tesis dengan judul “**Pengaruh Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs) terhadap Ekspresi CXCL12 DAN IL-10 (Studi eksperimental In Vivo Pada Mencit c57BL6 model Alopecia Androgenik yang diinduksi Dihydrotestosterone)**” ini dapat penulis selesaikan.

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

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

1. Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Prof. Dr. H. Gunarto, SH, MH
2. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak DR. dr. H. Setyo Trisnadi Sp.KF. SH.
3. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, Bapak Dr.dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS dan sebagai dosen pembimbing pertama, yang telah memberikan arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi.
4. Dr. dr. Sri Priyantini Mulyani, Sp.A selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
5. Prof. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M. Kes selaku penguji pertama yang banyak memberikan tambahan ilmu, serta masukan dan pengarahan dalam tesis.

6. Prof. Dr. dr. Prasetyowati Subchan, Sp. KK, Subsp. DKE, FINS DV selaku penguji kedua yang telah memberikan banyak saran-saran dalam penyelesaian tesis.
7. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes. selaku penguji ketiga yang banyak memberikan masukan dalam pelaksanaan penulisan tesis.
8. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
9. Segenap staf administrasi program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.
10. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
11. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

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

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

Semarang, 29 Agustus 2025

Penulis

(Denawati)

DAFTAR ISI

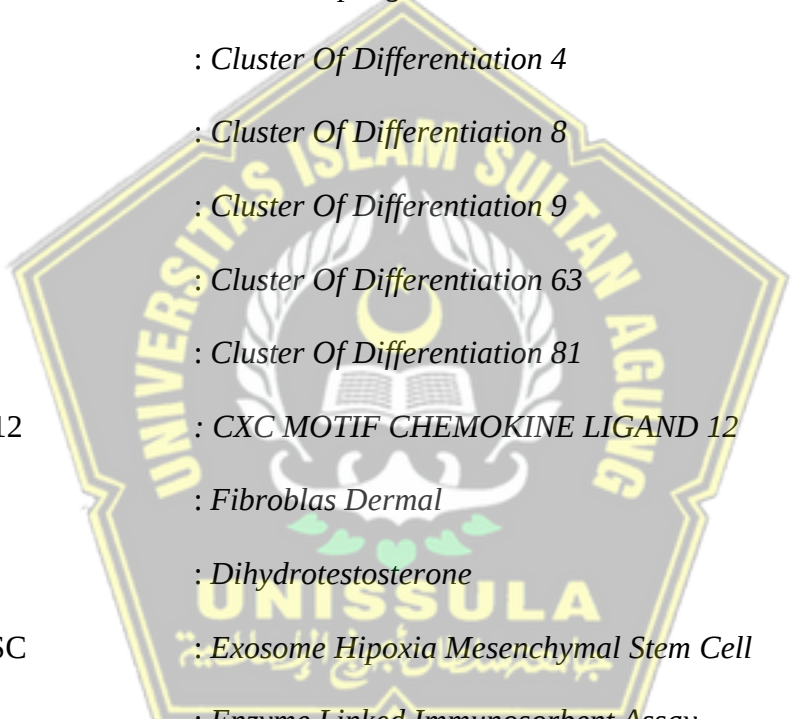
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
ABSTRAK	
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Originalitas Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.5.1 Manfaat Teoritis	10
1.5.2 Manfaat Praktis	10
II. TINJAUAN PUSTAKA	11
2.1 CXCL12	11
2.1.1 Definisi	11
2.1.2 CXCL12 pada Alopecia	12
2.2 Interleukin-10 (IL-10)	13
2.2.1 Definisi	13
2.2.2 Peran IL-10 pada Alopecia	13

2.3	<i>Exosome hypoxia</i> MSC (EH-MSC)	14
2.3.1	Definisi	14
2.3.2	Kandungan <i>Exosome</i> MSC	14
2.3.3	Metode Isolasi <i>Exosome</i> MSC	16
2.3.4	Hipoksia	18
2.4	Hubungan antara variable Pengaruh <i>Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells</i> (EH-MSCs) terhadap CXCL12 dan IL-10 model mencit Alopecia Androgenik	18
2.5	Alopecia	20
2.5.1	Definisi	20
2.5.2	Alopecia Androgenik (AGA)	21
III.	KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	24
3.1	Kerangka Teori	24
3.2	Kerangka Konsep	28
3.3	Hipotesis	28
IV.	METODE PENELITIAN	29
4.1	Jenis penelitian dan rancangan penelitian	29

4.2	Variabel penelitian dan Definisi Operasional	30
4.3	Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	33
4.4	Besar sampel	34
4.5	Alat dan Bahan	35
4.6	Cara Penelitian.....	35
4.7	Alur penelitian	43
4.8	Analisa Data	44
4.9	Tempat dan Waktu Penelitian.....	45
V.	METODE PENELITIAN	46
5.1	Hasil Penelitian.....	46
5.2	Pembahasan Hasil Penelitian	55
VI.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
6.1	Kesimpulan	59
6.2	Saran	59
	DAFTAR PUSTAKA	60
	LAMPIRAN	68



DAFTAR SINGKATAN



AA-PRP	: <i>Autologous Activated Platelet-Rich Plasma</i>
ADSC-Exos	: <i>Adipose-Derived Stem Cell Exosomes</i>
AGA	: <i>Alopecia Androgenic</i>
A-PRP	: <i>Non Activated Platelet-Rich Plasma</i>
BMPs	: <i>Bone Morphogenetic Proteins</i>
CD4	: <i>Cluster Of Differentiation 4</i>
CD8	: <i>Cluster Of Differentiation 8</i>
CD9	: <i>Cluster Of Differentiation 9</i>
CD63	: <i>Cluster Of Differentiation 63</i>
CD81	: <i>Cluster Of Differentiation 81</i>
CXCL12	: <i>CXC MOTIF CHEMOKINE LIGAND 12</i>
DF	: <i>Fibroblas Dermal</i>
DHT	: <i>Dihydrotestosterone</i>
EH-MSC	: <i>Exosome Hipoxia Mesenchymal Stem Cell</i>
ELISA	: <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
GDFs	: <i>Growth Differentiation Factors</i>
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
hORSC	: <i>Human outer root sheath cells</i>
IGF-1	: <i>Insulin-Like Growth Factor-1</i>
IL-2	: <i>Interluekin-2</i>
IL-10	: <i>Interluekin-10</i>

JAK/STAT	: <i>Janus kinase/signal transducer and activator of Transcription</i>
LAK	: <i>Lymphokine-Activated Killer</i>
MAPK/ERK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase / Extracellular-Signal-Regulated Kinase</i>
miRNA	: <i>Micro Ribonucleic Acid</i>
MSC	: <i>Mesenchymal Stem Cell</i>
NF-kB	: <i>Nuclear Factor-Kappa Beta</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
PDGF	: <i>Platelet Derived Growth Factor</i>
PEG	: <i>Polyethylene Glycol</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SCCR	: <i>Stem Cell Cancer Research</i>
TFF	: <i>Tangential Flow Filtration</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
UV	: <i>Ultraviolet</i>
VEFG	: <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Originalitas Penelitian	6
Tabel 5.1	Data Hasil Analisis ekspresi CXCL12	50
Tabel 5.2	Perbedaan rerata ekspresi CXCL12 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc LSD	51
Tabel 5.3	Data Hasil Analisis Ekspresi IL-10	52
Tabel 5.4	Perbedaan rerata ekspresi IL-10 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc Tamhane	54



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Efek yang dimediasi androgen pada siklus pertumbuhan rambut yang menyebabkan AGA	22
Gambar 2.2	Ilustrasi skematis mekanisme seluler aksi androgen, DHT, dan AR dalam memediasi alopecia androgenik	23
Gambar 3.1	Kerangka Teori	27
Gambar 3.2	Kerangka Konsep	28
Gambar 4.1	Skema Rancangan Penelitian	29
Gambar 4.2	Alur Penelitian	43
Gambar 5.1	Morfologi MSC	46
Gambar 5.2	Kemampuan MSCs berdiferensiasi	47
Gambar 5.3	Hasil Analisis Kadar <i>Exosome</i> menggunakan marker CD63 dan CD9	48
Gambar 5.4	Validasi Alopecia Anrogenik Tikus sehat.....	49
Gambar 5.5	Hasil mikroskopis pasca pemberian EH-MSCs	49
Gambar 5.6	Grafik ekspresi CXCL12.....	52
Gambar 5.2	Grafik Ekspresi IL-10	54

ABSTRAK

Latar Belakang: Alopecia adalah kehilangan rambut yang dapat memengaruhi hidup dan kesehatan mental. CXCL12 dan IL-10 berperan dalam regenerasi dan anti-inflamasi. Studi tentang pengaruh EH-MSCs terhadap keduanya masih terbatas.

Metode: Studi eksperimental in vivo secara *Randomized Post Test only Control Group Design*. Penelitian ini menggunakan model Mencit c57BL6 jantan yang diinduksi alopecia oleh DHT. Mencit c57BL6 dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, termasuk kelompok kontrol sehat, kontrol DHT, terapi minoxidil, serta dua dosis injeksi EH-MSCs (100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB). Analisis ekspresi CXCL12 dan IL-10 dilakukan menggunakan metode PCR pada sampel kulit Mencit c57BL6. ANOVA satu arah dengan pengujian hubungan antar kelompok, dilakukan uji Post Hoc LSD diterapkan dalam pemeriksaan statistik perbedaan antar kelompok perlakuan.

Hasil: Dibandingkan dengan kelompok kontrol, analisis ekspresi CXCL12 pada K2 ($3,15 \pm 0,53$) dan K3 ($2,17 \pm 0,68$) tertinggi. Di sisi lain, ekspresi IL-10 pada K5 ($3,29 \pm 0,67$) dan K4 ($3,10 \pm 0,75$) tertinggi. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB EH-MSC dapat menurunkan ekspresi CXCL12 dan meningkatkan ekspresi IL-10 secara signifikan.

Kesimpulan: Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB terhadap penurunan ekspresi CXCL12 dan peningkatan ekspresi IL-10 pada Mencit c57BL6 model alopecia androgenik dibandingkan dengan kelompok control.

Kata Kunci: alopecia androgenik, CXCL12, IL-10 dan EH-MSCs

ABSTRACT

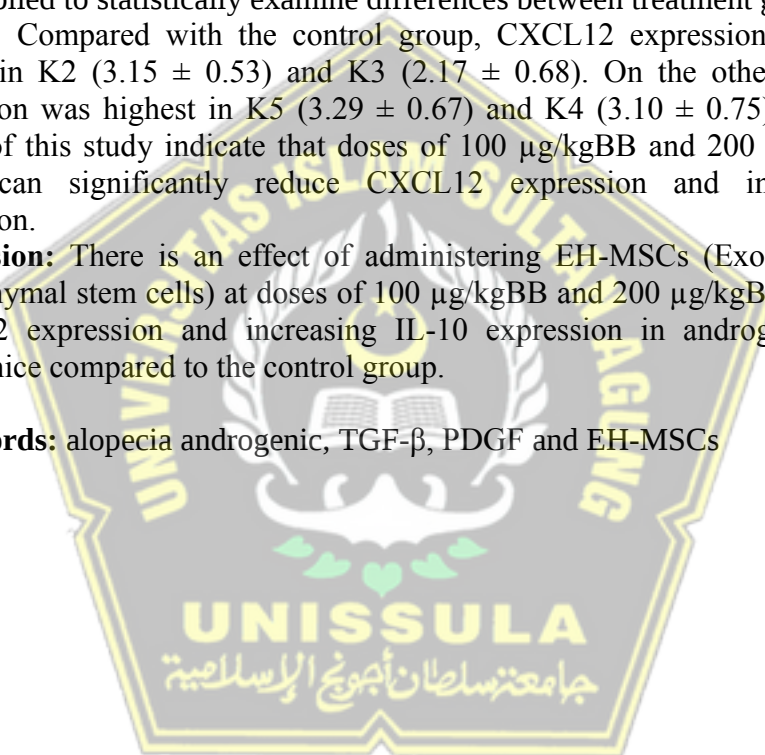
Background: Alopecia is hair loss that can impact life and mental health. CXCL12 and IL-10 play a role in regeneration and anti-inflammation. Studies on the effects of EH-MSCs on both are limited.

Methods: An in vivo experimental study using a randomized post-test only control group design. This study used a male Wistar rat model induced by DHT. Mice were divided into five treatment groups: healthy controls, DHT control, minoxidil therapy, and two doses of EH-MSCs (100 µg/kgBB and 200 µg/kgBB). CXCL12 and IL-10 expression were analyzed using PCR on mouse skin samples. One-way ANOVA with intergroup correlation testing and post hoc LSD tests were applied to statistically examine differences between treatment groups.

Results: Compared with the control group, CXCL12 expression analysis was highest in K2 (3.15 ± 0.53) and K3 (2.17 ± 0.68). On the other hand, IL-10 expression was highest in K5 (3.29 ± 0.67) and K4 (3.10 ± 0.75). Overall, the results of this study indicate that doses of 100 µg/kgBB and 200 µg/kgBB EH-MSCs can significantly reduce CXCL12 expression and increase IL-10 expression.

Conclusion: There is an effect of administering EH-MSCs (Exosome hypoxia mesenchymal stem cells) at doses of 100 µg/kgBB and 200 µg/kgBB on reducing CXCL12 expression and increasing IL-10 expression in androgenic alopecia model mice compared to the control group.

Key Words: alopecia androgenic, TGF-β, PDGF and EH-MSCs



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alopecia adalah kondisi umum yang memengaruhi kedua jenis kelamin di seluruh dunia. Dalam hidup mereka, sekitar setengah dari pria dan sepertiga wanita akan mengalami alopecia. Alopecia androgenik (AGA) adalah salah satu kategori alopecia non-jaringan parut, dan dianggap sebagai jenis kerontokan rambut yang paling umum di seluruh dunia. Alopecia androgenik memiliki dua jenis yaitu alopecia androgenik pola pria dan alopecia androgenik pola wanita, dengan pola pria lebih umum. Rambut berperan penting dalam penampilan fisik dan kerontokan rambut dapat sangat memengaruhi harga diri dan kesehatan mental.¹ Studi menunjukkan bahwa orang dengan kerontokan rambut yang jelas secara klinis dan tidak terdeteksi mungkin mengalami penurunan kualitas hidup *quality of life* (QoL) secara drastis.¹ Kualitas hidup pasien alopecia cenderung sangat terpengaruh, termasuk harga diri, kepercayaan diri, hubungan, dan pekerjaan mereka. Sebuah studi cross-sectional yang dilakukan pada 120 pasien menyimpulkan bahwa Alopecia androgenik memiliki pengaruh psikologis yang signifikan terhadap pikiran, perasaan, dan bagaimana masyarakat berinteraksi dengan masalah mereka.² Selain itu, pasien dengan Alopecia androgenik mungkin memiliki kepuasan citra tubuh yang berkurang dan takut akan penolakan sosial.³ Sebuah penelitian yang dilakukan di Polandia menunjukkan bahwa 60% pria Polandia merasa malu dengan kebotakan mereka, 81,3% dari

mereka menghadapi stres dalam kehidupan sehari-hari, dan 66,7% dari mereka memiliki pengaruh negatif yang signifikan terhadap harga diri mereka.⁴ Sebuah studi di Nigeria menyimpulkan bahwa 80,6% dari peserta studi yang usianya berkisar antara 20 sampai 29 tahun menderita alopecia.⁵ Studi lain menyimpulkan bahwa prevalensi kerontokan rambut pada alopecia adalah 59% berbanding 41,0% pada pria.⁶ Sebuah studi menyimpulkan bahwa alopecia lebih sering terjadi pada pria dibandingkan wanita.⁷ Jadi dapat dikatakan Alopecia merupakan masalah yang umum, dapat terjadi pada siapapun dan dapat mempengaruhi psikologi. Pasien kemoterapi sebanyak 47% merasakan trauma pada alopecia androgenik.⁸

Sel inflamasi mengelilingi folikel rambut dalam biopsi kulit kepala pria dengan alopecia androgenik, terutama di sekitar segmen tengah hingga bawah batang rambut, tetapi tidak diketahui apakah androgen memengaruhi proses inflamasi dan apakah langkah inflamasi paling awal ini mungkin merupakan jalur umum ke semua jalur sinyal rambut yang menghentikan pertumbuhan rambut. Mungkin ada jalur umum atau jalur yang tumpang tindih dalam patologi rumit yang terjadi pada banyak penyakit rambut yang memengaruhi pria, wanita, dan anak-anak. finasterida memengaruhi pertumbuhan rambut pada pria dengan alopecia androgenik. Studi ini telah menjelaskan beberapa temuan yang sangat penting yang mungkin relevan secara menyeluruh dengan peristiwa paling awal yang terjadi dalam jalur respons inflamasi. Pengetahuan ini mungkin penting dalam strategi terapi masa depan untuk mengobati penyakit rambut dan penyakit kulit lainnya

secara lebih efektif. Studi ini juga menyediakan hubungan antara ilmu saraf dan endokrinologi dengan dermatologi.^{9,10,11} Minoxidil merupakan salah satu terapi yang banyak digunakan untuk terapi alopecia. Minoxidil berfungsi sebagai vasodilatator untuk meningkatkan aliran darah ke area yang terpapar. Meskipun diketahui memiliki efek untuk dapat meningkatkan pertumbuhan rambut, pemakaian minoxidil dapat menimbulkan beberapa efek seperti alergi dan iritasi. Selain itu Minoxidil tidak dapat menurunkan inflamasi yang menjadi sumber permasalahan dari alopecia sehingga akan terjadi *reccurence* dan resistensi. Beberapa efek sampingnya yaitu hipertrikosis, hilangnya libido, disfungsi ereksi, volume ejakulasi, serta ginekomastia.¹² Selama ini harapannya bisa diatasi dengan obat standar 'Minoxidil' ternyata hasilnya belum memuaskan dan mungkin banyaknya efek samping tersebut diatas sehingga saya memberikan alternatif pemecahan masalah dimana *exosome* dapat menjadi salah satu terapi potensial untuk alopecia androgenik.

Exosome hipoxia mesenchymal stem cell (EH-MSC) diketahui bersifat antiinflamasi karena mengandung IL-10 serta berperan dalam proliferasi sel karena mengandung berbagai jenis *growth factor* dan materi genetic seperti micro RNA (miRNA).^{13,14} Interleukin 10 adalah sitokin yang berperan dalam proses percepatan penyembuhan dan pertumbuhan rambut.¹⁵ Selain IL-10, faktor kemotaktik seperti CXCL12 (*CXC Motif Chemokine Ligand 12*) memainkan peran penting dalam migrasi sel dan pengaturan ekspresi inflamasi. Peran *exosome* dalam regenerasi folikel alopecia androgenik dalam pertumbuhan dan regenerasinya diatur oleh sel induknya sendiri meliputi sel

induk folikel rambut (HFSC), sel papila dermal (DPC), dan sel induk melanosit (McSC), di antaranya sel papila dermal dan folikel rambut.¹⁶ Pada alopecia androgenik, IL-10 merupakan antiinflamasi sedangkan CXCL12 (*CXC Motif Chemokine Ligand 12*) meningkat dalam kaitannya dengan inflamasi. CXCL12 (*CXC Motif Chemokine Ligand 12*) pada alopecia androgenik maupun pada alopecia areata diekspresikan secara tinggi dalam fibroblas dermal (DF). Androgen meningkatkan sekresi CXCL12 (*CXC Motif Chemokine Ligand 12*) dari DF melalui reseptor androgen. CXCL12 yang disekresikan dari DF meningkatkan ekspresi reseptor androgen dan *CXC Motif Chemokine Receptor 4* (CXCR4) pada sel papila dermal, yang menginduksi kerontokan rambut pada alopecia androgenik.¹⁷

Penelitian lain melaporkan Efektivitas Pengobatan *Exosome* pada Alopecia Androgenik.¹⁸ Namun demikian, penelitian mengenai pengaruh EH- MSC terhadap Ekspresi IL-10 dan CXCL12 masih sangat terbatas sehingga masih perlu untuk dilakukan kajian.

1.2.Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 pada Mencit c57BL6 yang diinduksi *Dihydrotestosterone*?

1.3.Tujuan Penelitian

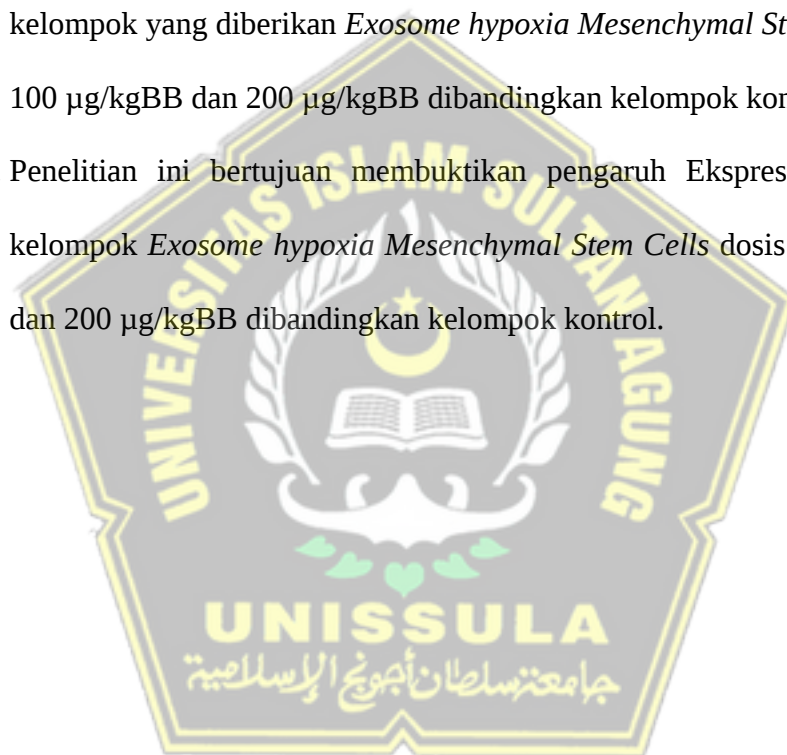
1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah mengetahui pengaruh *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 yang diinduksi *Dihydrotestosterone* pada Mencit c57BL6.

1.3.2. Tujuan khusus

1.3.2.1. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Ekspresi CXCL12 antar kelompok yang diberikan *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB dibandingkan kelompok kontrol.

1.3.2.2. Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh Ekspresi IL-10 antar kelompok *Exosome hypoxia Mesenchymal Stem Cells* dosis 100 µg/kgBB dan 200 µg/kgBB dibandingkan kelompok kontrol.



1.4. Originalitas Penelitian

Tabel 1.1 Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Variabel Bebas	Hasil
1.	Guiyue Wang, et al 2023. ¹⁹	<i>Treatment of androgenetic alopecia by exosomes secreted from hair papilla cells and the intervention effect of LTF</i>	Pemberian LTF, minoksidil 5%, dan LTF-DPC-EXO.	Regenerasi rambut signifikan pada tikus kelompok LTF, kelompok minoksidil, dan kelompok LTF-DPC-EXO, dan pertumbuhan rambut hanya terlihat pada kulit lokal pada kelompok model.
2.	Yongcui Mao, et al. 2024. ²²	<i>Exosomes derived from Umbilical cord mesenchymal stem cell promote hair regrowth in C57BL6 mice through upregulation of the RAS/ERK signaling pathway</i>	Pemberian Eksosom yang berasal dari sel induk mesenkimal tali pusat	efek terapeutik eksosom yang berasal dari MSC tali pusat pada alopecia androgenik dan memverifikasi bahwa eksosom mengatur stemness sel induk folikel rambut melalui jalur RAS/ERK untuk meningkatkan proliferasi rambut
3.	Qu H, et al 2024. ⁵⁵	<i>Investigator-blinded, controlled, and randomized comparative study on 1565 nm non-</i>	Jenis perawatan yang diberikan (laser NAFL	NAFL 1565 nm menunjukkan kemanjuran klinis yang

		<i>ablative fractional laser versus 5% minoxidil for treatment of androgenetic alopecia</i>	vs. minoksidil 5%).	lebih unggul dalam beberapa aspek pertumbuhan rambut dibandingkan minoksidil topikal. Ini adalah modalitas yang aman dan efektif dalam mengobati AGA.
4.	Zheng, Kim, Park, Kim, Oh, Sung, 2024. ¹⁷	<i>CXCL12 Neutralizing Antibody Promotes Hair Growth in Androgenic Alopecia and Alopecia Areata</i>	<i>CXCL12 (kemokin), Androgen (DHT, TP), IFN-γ</i>	Antibodi penetral CXCL12 secara signifikan meningkatkan pertumbuhan rambut dan mencegah kerontokan pada model AGA dan AA.
5.	Deborah A. Vanderford, Paula K. Greer, Julie M. Sharp, Maciej Chichlowski, D. Clayburn Rouse, M. Angelica Selim, Laura P. Hale, 2010. ⁵⁶	<i>Alopecia in IL-10-deficient Mouse Pups is c-Kit-Dependent and Can Be Triggered by Iron Deficiency</i>	Defisiensi IL-10, status mast cell, tingkat zat besi dalam diet ibu	Alopecia pada anak tikus Il10 ^{-/-} disebabkan oleh aktivasi mast cell dan dapat dipicu oleh diet ibu yang rendah zat besi. Depleksi mast cell secara genetik atau farmakologis mencegah alopecia. Diet rendah besi meningkatkan insiden alopecia

				hingga 100% pada tikus dengan mast cell.
6.	JMD Legrand et al., 2016. ⁶⁰	<i>STAT5 Activation in the Dermal Papilla Is Important for Hair Follicle Growth Phase Induction</i>	Aktivasi STAT5 di papila dermal (DP); Penghapusan gen STAT5A/B secara kondisional	Aktivasi STAT5 di DP terbukti penting untuk memicu masuknya fase anagen pada siklus rambut. Penghapusan STAT5 menunda masuknya anagen, menurunkan ekspresi gen seperti Wnt6, FGF7, FGF10, follistatin, dan TNF- α , serta meningkatkan

Penelitian-penelitian ini memiliki nilai kebaruan (novelty) yang jelas dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya dalam Tabel baik dari komposisi eksosom yang digunakan, target molekul inflamasi, maupun desain eksperimen yang spesifik menggunakan model mencit AGA yang diinduksi DHT. Penelitian pertama meneliti efek eksosom dari hair papilla cells yang dikombinasikan dengan LTF dan minoksidil. Fokus penelitian ini lebih pada kombinasi faktor pertumbuhan dan minoksidil, serta tidak menyentuh molekul inflamasi seperti CXCL12 dan IL-10. Sementara itu, penelitian ini secara spesifik mengamati dampak imunomodulasi dari EH-MSCs terhadap ekspresi dua biomarker imun tersebut, menjadikannya unik dari sisi fokus molekuler. Dengan mengeksplorasi eksosom dari umbilical cord MSCs dan efeknya melalui jalur

RAS/ERK. Meski menggunakan eksosom dan model tikus yang serupa, penelitian tersebut berfokus pada aktivasi proliferasi melalui jalur sinyal proliferaatif, bukan pada mekanisme imun yang melibatkan CXCL12 (kemokin) dan IL-10 (sitokin antiinflamasi).

Penelitian selanjutnya membandingkan efektivitas laser NAFL 1565 nm dan minoksidil. Penelitian ini merupakan studi klinis manusia yang bersifat intervensi mekanik dan tidak membahas peran eksosom ataupun biomarker imun seperti CXCL12 maupun IL-10. Penelitian ketiga meneliti penggunaan antibodi netralisasi CXCL12 sebagai terapi AGA dan AA. Penelitian ini memang menyentuh molekul CXCL12, namun pendekatannya menggunakan intervensi imun langsung dengan antibodi monoklonal, bukan terapi berbasis regeneratif seperti eksosom. Penelitian ini memperluas pemahaman tersebut dengan menggunakan EH-MSCs untuk memodulasi CXCL12 dan IL-10 secara simultan, menunjukkan bahwa eksosom bisa menjadi agen terapi regeneratif sekaligus imunomodulator. Penelitian terakhir berfokus pada defisiensi IL-10 dan status mast cell pada anak Mencit c57BL6 serta keterkaitannya dengan diet rendah zat besi. Penelitian ini bersifat patofisiologis, bukan intervensional. Tidak ada pemberian eksosom atau target CXCL12 dalam penelitian ini. Penelitian ini berbeda karena mengeksplorasi kemungkinan peningkatan IL-10 akibat pemberian EH-MSCs sebagai strategi intervensi aktif untuk mengatasi AGA.

Berdasarkan kajian beberapa penelitian terdahulu, ditemukan bahwa telah dilakukan penelitian mengenai terapi alopecia androgenik, namun demikian belum ada penelitian yang mengkaji pengaruh pemberian *Exosome hypoxia*

Mesenchymal Stem Cells terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 pada mencit c57BL6 sehingga penelitian ini layak untuk dilakukan.

1.5. Manfaat penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

Manfaat yang ingin didapat dari penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah peran *exosome mesenchymal stem cell* terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 pada Mencit c57BL6 yang diinduksi *Dihydrotestosterone*.

1.5.2. Manfaat Praktis

1.5.2.1. Hasil penelitian ini dapat digunakan untuk alternatif terapi lanjutan

1.5.2.2. Hasil Hasil penelitian ini dapat menjadi tambahan landasan teori bagi penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan peran *exosome hypoxia mesenchymal stem cell* terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 pada Mencit c57BL6 yang diinduksi *Dihydrotestosterone*.

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

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. CXCL12 (*CXC Motif Chemokine Ligand 12*)

2.1.1. Definisi

CXCL12 adalah anggota sitokin kecil dari keluarga kemokin. Kemokin mengaktifkan leukosit dan sering dihasilkan oleh rangsangan pro-inflamasi seperti lipopolisakarida , faktor nekrosis tumor , dan interleukin 1. CXCL12 ditemukan terekspresi dalam berbagai jaringan Mencit c57BL6, termasuk otak, timus, jantung, paru-paru, hati, ginjal, limpa, dan sumsum tulang. Ini mengatur migrasi sel hematopoietik dari hati janin ke sumsum tulang serta pembentukan pembuluh darah besar selama embriogenesis. Telah diasumsikan bahwa CXCL12 hanya mengikat satu reseptor, reseptor kemokin motif CXC 4 (CXCR4), tetapi penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa CXCL12 juga dapat mengikat reseptor CXCR7. Selain itu, CXCL12 dan reseptornya CXCR4 mengatur migrasi dan lokasi melanoblas selama pembentukan dan siklus folikel rambut. CXCL12 berperan dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, termasuk perkembangan embrionik, pembentukan pembuluh darah, dan proses perbaikan jaringan setelah cedera.

2.1.2. Peran CXCL12 pada Alopecia Androgenik

Michel et al. mengidentifikasi ekspresi gen diferensial pada alopecia androgenik pria (AGA).²⁵ CXCL12 menunjukkan ekspresi dan peran fungsional selama perkembangan siklus rambut. CXCL12 diekspresikan secara tinggi dalam sel stroma seperti DF, sedikit dalam sel selubung akar luar (ORS), dan levelnya meningkat selama fase katagen dan telogen dari siklus rambut. Kerontokan rambut disebabkan oleh terapi CXCL12 rekombinan, yang menunda transisi telogen ke anagen dalam model hewan.²⁶ Awalnya, CXCL12 dianggap sebagai kemokin dengan peran multifaset dalam migrasi seluler, homeostasis jaringan, dan penyembuhan luka; namun, kami pertama kali menunjukkan keterlibatannya dalam regulasi siklus rambut. Selain itu, mediator inflamasi dan mediator imun seperti ekspresi CXCL12 meningkat secara signifikan di kulit kepala pasien AGA. Khususnya, CXCL12 tampaknya berinteraksi dengan jalur pensinyalan androgen, yaitu, DHT dan testosteron meningkatkan ekspresi CXCL12 melalui AR. Oleh karena itu, dihipotesiskan bahwa androgen menginduksi miniaturisasi rambut melalui CXCL12 yang diinduksi AR dan Reseptor Kemokin Motif CXC 4 (CXCR4) pada sel papila dermal (DPC) dan/atau fibroblas dermal (DF).²⁶

2.2. Interleukin-10 (IL-10)

2.2.1. Definisi

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin dengan sifat antiinflamasi yang kuat yang memainkan peran utama dalam membatasi respons imun host terhadap patogen, sehingga mencegah kerusakan pada host dan mempertahankan homeostasis jaringan normal. Disregulasi IL-10 dikaitkan dengan peningkatan imunopatologi sebagai respons terhadap infeksi serta peningkatan risiko perkembangan banyak penyakit autoimun.²⁷

2.2.2. Peran IL-10 pada Alopecia

Adanya mikroinflamasi di sekitar folikel rambut pada alopecia androgenik, IL-10 memiliki peran dalam menyeimbangkan respons imun lokal untuk mencegah kerusakan folikel lebih lanjut. IL-10 berfungsi sebagai regulator negatif respons imun dengan menekan produksi sitokin pro-inflamasi dan aktivitas sel imun alopecia androgenik ditandai oleh miniaturisasi progresif folikel rambut yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan hormonal. Meskipun alopecia androgenik sering dianggap sebagai kondisi non-inflamasi, bukti menunjukkan adanya mikroinflamasi kronis di sekitar folikel rambut, khususnya pada segmen atas folikel. Studi oleh Kwack, et al mengidentifikasi adanya respons imun abnormal dan infiltrasi sel imun di area ini, yang dapat berkontribusi pada perkembangan alopecia androgenik.²⁸

2.3. *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (EH-MSCs)*

2.3.1. Definisi

Exosome dari *mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) 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.^{29,30}

2.3.2. Kandungan *Exosome* MSC

Exosome dari *mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) 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. miRNA (*MicroRNA*)

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.^{31,32} Selain itu, miRNA-92a dan miRNA-146a memiliki sifat anti-inflamasi yang membantu mengurangi peradangan kulit kepala, yang sering dikaitkan dengan kerontokan rambut.^{33,34}

b. Protein dan Enzim

Exosome yang mengandung IL-10 berpotensi dalam mengatur respons imun dengan menekan peradangan. *Exosome MSC Exosome-encapsulated* miRNAs dapat meningkatkan polarisasi M2 makrofag. CXCL12 adalah kemokin homeostatis yang menginduksi migrasi dan aktivasi sel progenitor hematopoietik, sel endotel, dan beberapa leukosit.

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.³⁵

d. Cytokine dan Growth Factors

Exosome yang mengandung IL-10 dapat membantu mengatur atau meredakan peradangan dan mengendalikan proses inflamasi dalam

tubuh. CXCL12 memiliki hubungan erat dengan sitokin (cytokine) dan faktor pertumbuhan (growth factors) dan sebagai Hematopoiesis.

2.3.3. Metode Isolasi *Exosome* MSC

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

a. Ultrasentrifugasi Diferensial

Metode ini adalah yang paling umum digunakan untuk isolasi *exosome*. Proses ini melibatkan beberapa tahap sentrifugasi 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.³⁶

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*.³⁶

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.³⁶

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 eksosom dengan kemurnian yang lebih rendah dibandingkan metode lain.³⁶

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.³⁶

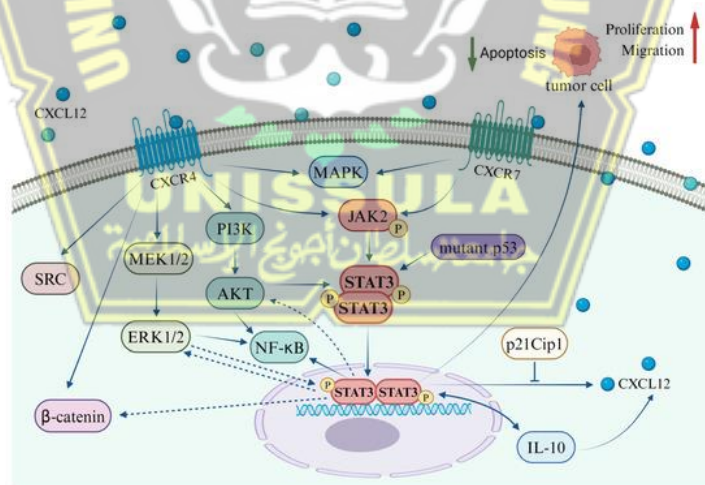
2.4.4 Hipoksia

Hipoksia mengacu pada tidak adanya suplai oksigen ke jaringan. Berbagai jenis sel berada dalam keadaan hipoksia dalam waktu lama yang dapat menyebabkan apoptosis sel. Sejumlah besar penelitian menunjukkan bahwa lingkungan hipoksia dapat menyebabkan adhesi, proliferasi, dan pembaruan sel induk mesenkim. Lingkungan hipoksia menyebabkan sintesis molekul faktor yang diinduksi hipoksia (HIF), yang membantu sel induk mesenkim menghasilkan lebih banyak sitokin.

2.4. Hubungan antara variabel Pengaruh *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (EH-MSCs) terhadap CXCL12 dan IL-10 model mencit Alopecia Androgenik

Alopecia Androgenik (AGA) merupakan bentuk umum kerontokan rambut yang disebabkan oleh sensitivitas genetik terhadap androgen di folikel rambut. Kondisi ini juga melibatkan aktivitas inflamasi kronik tingkat rendah yang memengaruhi mikro-lingkungan folikel. Salah satu mediator inflamasi yang terlibat adalah CXCL2, sebuah chemokine pro-inflamasi yang berperan

dalam rekrutmen neutrofil dan aktivasi respons imun lokal. Di sisi lain, IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi penting yang menjaga homeostasis sistem imun dan menghambat ekspresi sitokin inflamasi seperti CXCL2.⁵⁷ Selain itu, dalam kultur organ rambut, media terkonidisi dari DF dengan siRNA CXCL12 secara signifikan meningkatkan panjang rambut dan menginduksi proliferasi sel DP dan ORS. CXCL12, melalui aktivasi CXCR4, meningkatkan fosforilasi STAT3 dan STAT5 dalam sel DP dan ORS. Sebaliknya, pemblokiran CXCL12 dan CXCR4 menurunkan fosforilasi STAT3 dan STAT5. Singkatnya, temuan ini menunjukkan bahwa CXCL12 menghambat pertumbuhan rambut melalui jalur pensinyalan CXCR4/STAT dan bahwa penghambat jalur CXCL12/CXCR4 merupakan pilihan pengobatan yang menjanjikan untuk pertumbuhan rambut.⁵⁹



Sel punca mesenkimal (MSC) menunjukkan kemampuan terapeutik yang signifikan dalam memperbaiki jaringan yang mengalami kerusakan. Dalam studi yang berfokus pada proses penyembuhan luka pada kulit, ditemukan bahwa eksosom MSC dapat merangsang jalur pensinyalan

AKT, ERK, dan STAT3 serta meningkatkan ekspresi CXCL12. Selain itu, CXCL12 memiliki kemampuan untuk mempengaruhi jalur JAK-STAT, yang memperkuat sinyal yang mendorong sel untuk bergerak atau berkembang biak.⁶¹

Penelitian menunjukkan bahwa *exosome* yang dihasilkan dari *hypoxia mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) memiliki kandungan miRNA, protein, dan molekul bioaktif lain yang dapat memodulasi inflamasi dan mendukung regenerasi jaringan. Dalam konteks AGA, EH-MSCs mampu menurunkan ekspresi chemokine proinflamasi seperti CXCL2, yang diketahui meningkat pada kulit yang mengalami stres oksidatif atau inflamasi kronis. Penurunan CXCL2 menunjukkan bahwa EH-MSCs dapat menghambat rekrutmen sel imun yang memperparah kerusakan folikel rambut. Selain menekan CXCL2, EH-MSCs juga diketahui meningkatkan ekspresi IL-10, yang bekerja sebagai penyeimbang dalam mengontrol kerusakan jaringan akibat inflamasi. Peningkatan IL-10 dalam model mencit alopecia androgenetik yang diinduksi DHT telah mengurangi infiltrasi sel imun dan mempercepat regenerasi folikel rambut.⁵⁸

2.5. Alopecia

2.5.1. Definisi

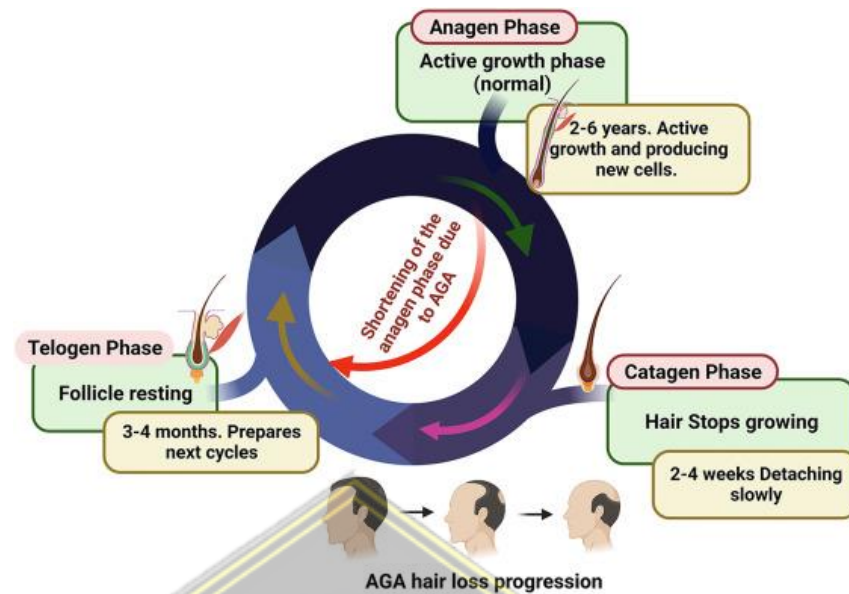
Alopecia adalah tidak adanya atau hilangnya rambut di area yang seharusnya ada. Alopecia dapat bersifat lokal atau difus, sementara atau permanen. Kondisi ini dapat memengaruhi kedua jenis kelamin dan semua kelompok usia. Dikenal sebagai tanda atau gejala yang timbul dari etiologi

heterogen, alopecia secara umum diklasifikasikan sebagai *nonscarring* (paling umum), dan *scarring (scatricial)*.²³

2.5.2. Alopecia Androgenik (AGA)

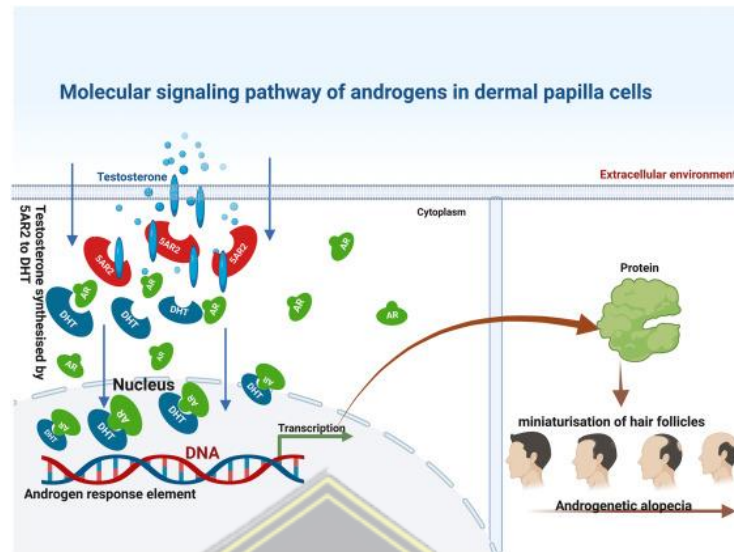
Alopecia androgenik adalah jenis kerontokan rambut yang paling umum terjadi, baik pada pria maupun wanita. Alopecia androgenik digambarkan sebagai pengurangan yang progresif pada ukuran panjang, diameter, serta pigmentasi rambut. Tanda-tanda awal alopecia androgenik dapat dimulai sejak masa remaja, di mana riwayat keluarga merupakan faktor predisposisi yang tersering. Alopecia androgenik dapat mengganggu penampilan fisik yang merupakan faktor penting dalam citra diri manusia. Penderita alopecia androgenik dapat mengalami penurunan kualitas hidup yang signifikan sehingga akan terdorong untuk mencari perawatan rambut yang efektif untuk mencegah kerontokan lebih lanjut dan merangsang pertumbuhan rambut kembali secara optimal. Alopecia androgenik terjadi karena peningkatan sensitivitas folikel rambut terhadap *dihydrotestosterone* (DHT). Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, dan ditandai dengan hilangnya rambut terminal secara progresif di kulit kepala setelah pubertas.⁵⁴ Alopecia androgenik dimediasi oleh predisposisi genetik dan sensitivitas folikel yang berlebihan terhadap androgen, terutama pada pria, yang menyebabkan konversi progresif rambut terminal kulit kepala menjadi rambut vellus.

2.5.2.1. Androgen dan reseptor androgen



Gambar 2.2. Efek yang dimediasi androgen pada siklus pertumbuhan rambut yang menyebabkan AGA²⁴

Androgen merupakan hormon penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Androgen berfungsi melalui jalur pensinyalan intraseluler, dengan testosteron sebagai androgen utama dan paling aktif pada pria. Testosteron diubah oleh reduktase alfa-5 tipe 2 (SRD5A2) menjadi *dihidrotestosteron* (DHT), yang menyebabkan AGA. DHT yang berlebihan menyusutkan folikel rambut, mengganti rambut terminal dengan rambut vellus.²⁴



Gambar 2.3. Ilustrasi skematis mekanisme seluler aksi androgen, DHT, dan AR dalam memediasi alopecia androgenik²⁴

Aktivasi AR yang berlebihan mengakibatkan miniaturisasi folikel, sehingga memperpendek fase anagen pada siklus rambut. Batang rambut menjadi lebih tipis dan pendek serta mungkin tidak menembus epidermis. Reseptor androgen (AR) di folikel rambut mengikat DHT, mengubah bentuk protein, dan memulai kaskade pensinyalan. Rambut oksipital kurang sensitif karena metilasi AR, melindunginya dari miniaturisasi dan kerontokan. AR memiliki afinitas yang kuat terhadap DHT dibandingkan dengan testosteron, yang menjelaskan kekuatan pengikatannya.²⁴

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Faktor genetik dan penyebab yang berkaitan dengan usia mempengaruhi mekanisme androgen, yang memungkinkan rambut vellus berubah menjadi rambut terminal yang lebih panjang, lebih tebal, dan lebih gelap. Alopecia androgenik adalah masalah kerontokan rambut yang dinamis dan berkelanjutan, di mana sel mast dan limfosit terbentuk di sekitar folikel yang mengecil, kaya akan sel punca.⁴⁰ Testosteron meningkatkan laju metabolisme bahwa Ekspresi testosteron yang tinggi, yang diperlukan untuk bereproduksi, dapat mengubah keseimbangan antara produksi ROS dan pertahanan antioksidan, yang mengakibatkan peningkatan risiko stres oksidatif dalam sel-sel folikel rambut.⁴¹ ROS yang berlebihan dapat merusak komponen seluler penting seperti DNA, protein, dan lipid, yang pada akhirnya mengganggu fungsi normal folikel rambut dan memicu proses inflamasi.⁴² Dimana ROS memediasi respons terhadap DHT dan faktor pertumbuhan, yang pada gilirannya dapat memengaruhi pensinyalan faktor pertumbuhan di dalam sel.⁴³ ROS diaktifkan lewat IkBa dan menghambat persinggahan NF- κ B juga ROS dapat menginduksi apoptosis. Aktivasi berlebihan jalur IKK/NF- κ B ditemukan dalam berbagai kondisi patologis, seperti penyakit inflamasi kronis, dan alopecia androgenik.⁴⁵

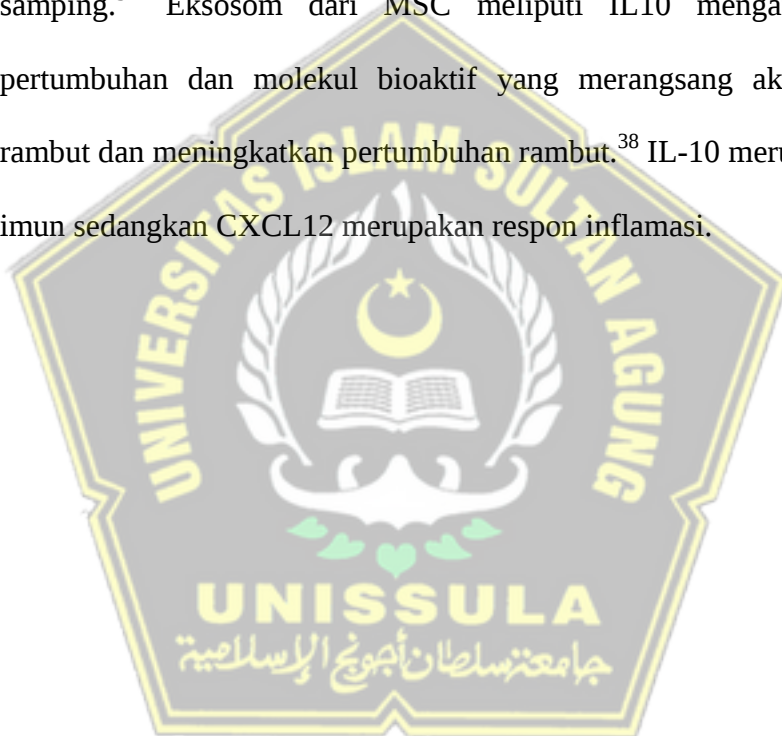
NF- κ B dan IKK dapat berinteraksi dalam jalur inflamasi, mengatur

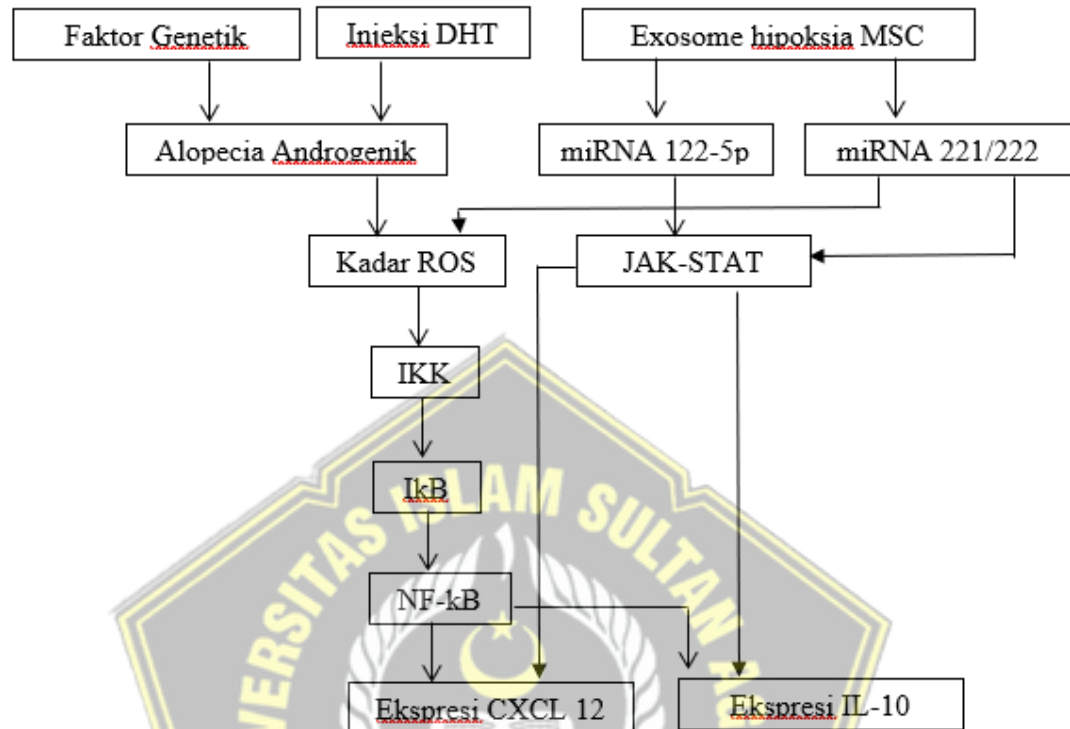
ekspresi gen yang berperan dalam peradangan dan apoptosis. IKK terfosforilasi (p-IKK) mengaktifkan penghambat NF- κ B, alfa (I κ B α) ke dalam fase fosforilasi. I κ B α terfosforilasi kemudian diubikuitinasi dan didegradasi oleh proteasom dan NF- κ B aktif dilepaskan.⁴⁶ Kompleks IKK diaktifkan sebagai respons terhadap berbagai rangsangan sebagai peristiwa pemicu dalam respons NF- κ B.⁴⁷ Translokasi NF- κ B ke Nukleus, setelah I κ B terdegradasi, NF- κ B menjadi aktif dan ditranslokasikan ke nukleus untuk menginduksi ekspresi gen target, termasuk gen yang terlibat dalam peradangan (pro-inflamasi), imun, dan apoptosis.⁴⁸

Kombinasi protein dan miRNA yang terdapat dalam *exosome* MSC bekerja sinergis untuk mempengaruhi berbagai aspek alopecia, baik melalui pengaturan peradangan, regenerasi jaringan, maupun regulasi siklus pertumbuhan rambut secara langsung.⁵¹ Jalur JAK-STAT bisa memengaruhi produksi IL-10 dalam beberapa jenis sel. JAK-STAT dapat mengatur ekspresi gen terkait respons imun, dan dalam beberapa keadaan, aktivasi jalur JAK-STAT dapat meningkatkan produksi IL-10 untuk membantu mengatur respons inflamasi. IL-10 dapat berinteraksi dengan jalur NF- κ B untuk mengurangi peradangan berlebih yang mungkin disebabkan oleh aktivasi jalur ini. Peran IL-10 dalam aktivasi NF- κ B yang bergantung pada ROS. Interleukin-10 (IL-10) adalah sitokin pleiotropik yang mengendalikan proses inflamasi dengan menekan produksi sitokin proinflamasi yang diketahui diatur secara transkripsi oleh faktor nuklir- κ B (NF- κ B). IL-10 menghambat aktivasi NF- κ B melalui proses yang

melibatkan degradasi proteolitik subunit penghambat $\text{I}\kappa\text{B-}\alpha$.⁵²

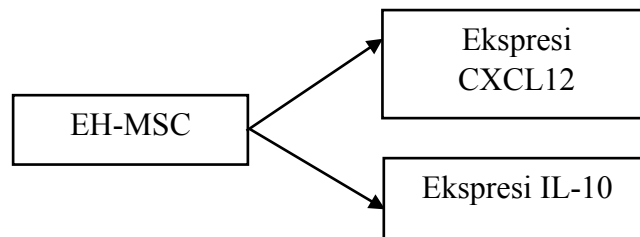
Jalur *Exosome*, JAK-STAT, dan CXCL12 memiliki peran penting dalam berbagai proses biologi. Interaksi antara JAK-STAT dan CXCL12 dapat mempengaruhi proses metastasis atau regenerasi jaringan. Sel stroma mesenkimal yang berasal dari kulup ke kulit kepala yang disuntikkan eksosom meningkatkan kepadatan rambut dan tidak menimbulkan efek samping.³⁷ Eksosom dari MSC meliputi IL10 mengandung faktor pertumbuhan dan molekul bioaktif yang merangsang aktivitas folikel rambut dan meningkatkan pertumbuhan rambut.³⁸ IL-10 merupakan respon imun sedangkan CXCL12 merupakan respon inflamasi.





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

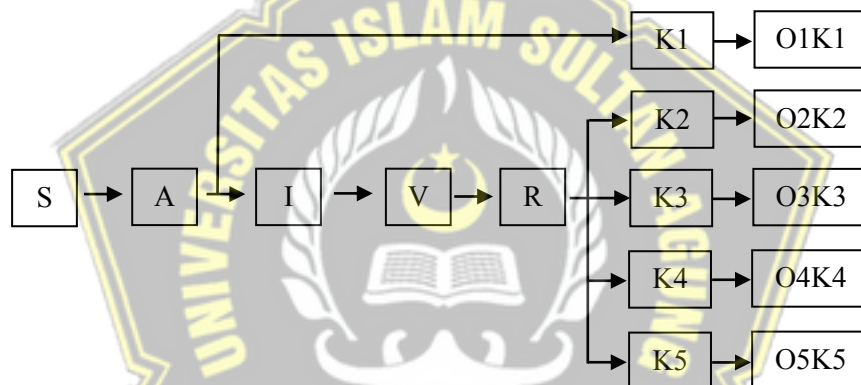
- 3.3.1. Terdapat pengaruh *Exosome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell* terhadap Ekspresi CXCL12 dan IL-10 antar kelompok *Exosome hypoxia* MSC 100 $\mu\text{g/kgBB}$ dan 200 $\mu\text{g/kgBB}$ dengan kelompok kontrol pada Mencit c57BL6 yang diinduksi *Dihydrotestosterone*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

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



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- | | |
|---|--------------------------------------|
| S | = Sampel |
| A | = Aklimatisasi hewan coba |
| I | = Induksi <i>Dihydrotestosterone</i> |
| V | = Validasi |
| R | = Randomisasi hewan coba |

Kelompok 1 = Mencit c57BL6 sehat, tidak diberi perlakuan

Kelompok 2 = Mencit c57BL6 diinduksi *Dihydrotestosterone* dengan diberi
NaCl 0,9%

Kelompok 3 = Mencit c57BL6 diinduksi *Dihydrotestosterone* dengan diberi
Minoxidil 5%

Kelompok 4 = Mencit c57BL6 diinduksi *Dihydrotestosterone* dengan diberi
Exosome hypoxia MSC 100 µg/kgBB

Kelompok 5 = Mencit c57BL6 diinduksi *Dihydrotestosterone* dengan diberi
Exosome hypoxia MSC 200 µg/kgBB

O1K1 = Observasi Ekspresi CXCL12 dan IL-10 kelompok K1

O2K2 = Observasi Ekspresi CXCL12 dan IL-10 kelompok K2

O3K3 = Observasi Ekspresi CXCL12 dan IL-10 kelompok K3

O4K4 = Observasi Ekspresi CXCL12 dan IL-10 kelompok K4

O5K5 = Observasi Ekspresi CXCL12 dan IL-10 kelompok K5

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel penelitian

a. Variabel Bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah
Exosome hypoxia MSC.

b. Variabel Tergantung penelitian yang digunakan dalam penelitian ini
adalah ekspresi CXCL12 dan IL-10

- c. Variabel Prakondisi penelitian ini adalah pemberian *Dihydrotestosterone* secara injeksi.

4.2.2 Definisi Operasional

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

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

Skala: Ordinal

b. Ekspresi CXCL12

CXCL12 adalah kemokin yang berperan dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, termasuk perkembangan tumor, respons imun, dan angiogenesis. Pada mencit c57BL6 yang diinduksi oleh *Dihydrotestosterone*, pemberian *exosome* MSC dapat mengurangi Ekspresi CXCL12 pada mencit c57BL6 yang diinduksi alopecia.

Diukur menggunakan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*) dari kulit mencit c57BL6 setelah perlakuan dengan *exosome* MSC.

Skala: Rasio

c. Ekspresi IL-10

Interleukin 10 (IL-10) adalah sitokin dengan sifat antiinflamasi yang kuat yang memainkan peran utama dalam membatasi respons imun *host* terhadap patogen. Pemberian *exosome* MSC dapat meningkatkan Ekspresi IL-10 pada mencit c57BL6 yang telah diinduksi oleh *Dihydrotestosterone*. Diukur menggunakan teknik PCR (*Polymerase chain reaction*) dari sampel kulit mencit c57BL6 setelah perlakuan dengan *exosome* MSC.

Skala: Rasio

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

Mencit c57BL6 berusia 6-8 minggu dengan berat 200-250 gram dipilih untuk penelitian ini setelah dianggap layak oleh dokter hewan dari Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Indonesia. Mencit c57BL6 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. Mencit c57BL6

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

4.3.2.2. Kriteria eksklusi

Mencit c57BL6 yang di berikan DHT tidak mengalami alopecia

4.4. Besar Sampel

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

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

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

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

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan lima ekor sampel per perlakuan. Untuk menghadapi risiko mortalitas pada mencit c57BL6, setiap kelompok ditambah sampel sebanyak satu ekor dari jumlah hitungan menjadi total enam ekor per perlakuan. Ditambahkan 4 mencit c57BL6 validasi sehingga total mencit c57BL6 34 ekor.

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

Peralatan kultur sel, termasuk Biosafety Cabinet (BSC), mikropipet, inkubator CO₂, peralatan bedah, dan labu 25T, dipergunakan pada saat ini. Ruang hipoksia dipergunakan menciptakan kondisi yang diperlukan untuk kultur hipoksia. Konsentrasi oksigen di ruang hipoksia diukur menggunakan pengukur oksigen. Selain itu, penyeka steril dipergunakan pada riset ini guna injeksi EH-MSCs dan Dihidrotestosteron dipergunakan dalam menginduksi gejala mirip alopecia-androgenik. Instrumen guna menganalisis ekspresi gen CXCL12 dan IL-10.

4.5.2. Bahan Penelitian

Bahan kultur yang dipergunakan pada riset ini antara lain tali pusar mencit c57BL6, NaCl 0,9%, DMEM, FBS, PBS, fungizone, dan penstrep. Sedangkan alkohol 70%, PBS, Xylasine, ketamine, dan gel berbahan dasar air menjadi bahan yang dipergunakan dalam proses pengobatan.

4.6. Cara Penelitian

4.6.1. *Ethical clearance*

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

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

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

- a. Setelah dikumpulkan, *umbilical cord* dimasukkan ke dalam wadah steril yang diberi NaCl 0,9%
- b. Dengan menggunakan pinset, masukkan *umbilical cord* ke dalam cawan petri dan gunakan PBS untuk membersihkannya secara menyeluruh
- c. *Umbilical cord* janin mencit c57BL6 dipotong dan pembuluh darahnya dibuang
- d. Setelah *umbilical cord* dicincang halus, diletakkan secara merata di dalam labu 25T dan diamkan selama tiga menit agar tisu menempel pada permukaan labu
- e. Media (DMEM, fungizon, penstrep, dan FBS) ditambahkan sedikit demi sedikit hingga jaringan tertutup
- f. Eksplan disimpan dalam inkubator dengan 5% CO₂ pada suhu 37°C
- g. Setelah prosedur kultur dimulai, sel akan berkembang setelah sekitar 14 hari
- h. Setiap tiga hari, media diganti dengan cara membuang setengahnya dan menambahkan yang baru dan penuh sebagai gantinya
- i. Pemeliharaan sel berlanjut hingga 80% sel konfluensi.

4.6.3. Proses Hipoksia

- a. MSCs dengan konfluensi 80% dimasukkan, dan ditambahkan hingga 10 mL media penuh
- b. Selanjutnya *flask* yang mengandung MSCs ditempatkan di

dalam ruang hipoksia

- c. Dalam mengukur jumlah oksigen dalam ruangan, gas nitrogen dialirkan melalui katup inlet dan pengukur oksigen ditempatkan pada lubang sensor
- d. Nitrogen disuntikkan sampai oksigen 5% ditunjukkan oleh jarum indikator
- e. *Chamber* yang telah diisi flask diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- f. Media kultur dikeluarkan setelah 24 jam dan diisolasi dengan metode TFF untuk menghasilkan EH-MSCs.

4.6.4. Pembuatan *Exosome* Hipoksia MSCs

Exosome MSC diisolasi menggunakan metode TFF. Langkah yang dilakukan antara lain media kultur MSC dikumpulkan dalam botol steril dan kemudian disaring menggunakan alat uPulse TFF dengan filter 100 kDa dan 500 kDa untuk menyisihkan partikel besar. Hasil filtrasi kemudian dilakukan validasi kandungan *Exosome hypoxia* MSC menggunakan *flowcytometri* dengan penanda permukaan berupa CD81, CD63, dan CD9. Hasil yang telah tervalidasi mengandung *Exosome hypoxia* MSC disimpan dalam tabung 2,5 mL dan disimpan dalam suhu 2-8 °C.

4.6.5. Pembuatan alopesia dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan

- a. Setelah satu minggu adaptasi, mencit c57BL6 diberikan kombinasi *xylazine* (20 mg/kgbb) dan ketamine (60 mg/kgbb) untuk menginduksi anestesi.
- b. Mencukur rambut pada mencit c57BL6
- c. Mencit c57BL6 kelompok K1 tidak di berikan treatmen apapun. Mencit c57BL6 kelompok K2 sampai dengan K5 diberikan Dihydrotestosterone 1

mg/hari selama 17 hari

- d. Hari ke-25 dilakukan validasi
- e. Dilakukan injeksi peritoneal pada mencit c57BL6. Injeksi NaCL dilakukan pada K2, Topikal Minoxidil 5% pada K3, injeksi *Exosome* hipoksia MSC dosis 100µg/kgbb hari ke 25 dan hari ke 32 sebanyak 2x (interval) pada K4, dan Injeksi *Exosome* hipoksia MSC dosis 200µg/kgbb hari ke 25 dan hari ke 32 sebanyak 2x (interval) pada K5
- f. Hari ke-39 dilakukan pemeriksaan sampel
- g. Jaringan yang telah dihomogenisasi disimpan dalam -80°C hingga proses analisis.
- h. Periksa Ekspresi CXCL12 dan IL-10 menggunakan PCR sesuai protokol pabrik.

4.6.6. Metode Validasi

- a. Validasi secara makroskopis pada hari ke-25 dimana dinyatakan positif jika daerah yang dicukur tidak menunjukkan pertumbuhan rambut kembali dan
- b. Validasi mikroskopis dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) dimana dinyatakan mengalami alopecia jika tidak ditemukan folikel dalam fase anagen pada kulit mencit c57BL6. Untuk melakukan validasi mikroskopis dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:
 - 1. Sampel kulit diperoleh dari masing-masing kelompok dan digunakan untuk membuat potongan histologis menggunakan pewarnaan HE dan teknik paraffin Sampel kulit mencit c57BL6 diperoleh dari masing-masing

kelompok dan diawetkan dalam larutan NBF 10% atau *Neutral Buffer Formalin*

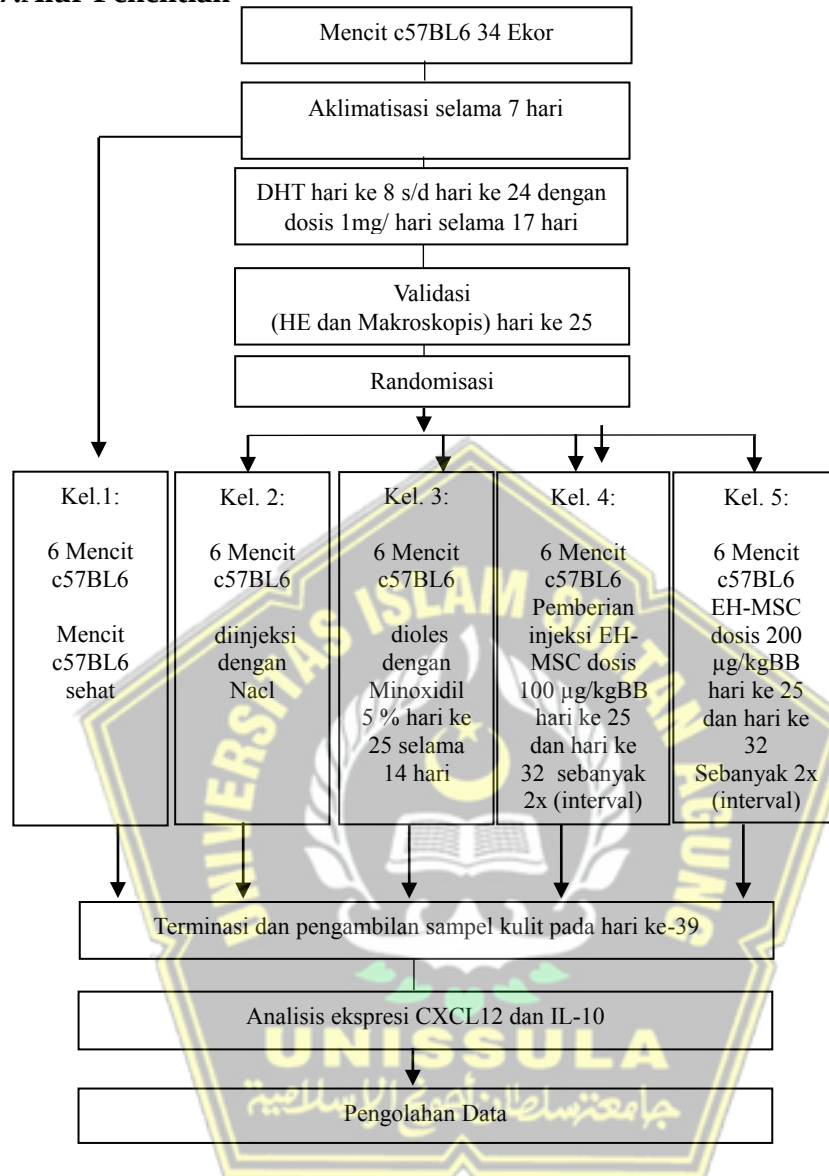
2. Sampel kulit dibersihkan dari sisa larutan fiksatif dengan membilasnya menggunakan alkohol 70%
3. Sampel ditandai dan ditempatkan dalam keranjang tisu setelah difiksasi dalam larutan BNF 10
4. Alkohol absolut dan alkohol bergradasi 70, 80%, 90%, dan 96% digunakan untuk mendehidrasi sampel jaringan
5. Sampel dimasukkan ke dalam toluol selama satu jam, atau hingga menjadi bening atau transparan
6. Sampel kemudian diinfiltrasi menggunakan parafin dalam oven bersuhu 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
7. Kemudian sampel ditanam (*embedding*) dalam parafin dan *blocking* ditunggu hingga paraffin mengeras
8. Dengan menggunakan mikrotom, potong blok jaringan menjadi irisan berukuran 6µm. Kemudian letakkan potongan-potongan tersebut di atas permukaan kaca yang telah dilapisi perekat *Mayer Albumin*, ditetesi sedikit air suling, dan dipanaskan di atas *hot plate* hingga menempel sempurna
9. Sebelum pewarnaan jaringan, parafin dihilangkan (*deparaffinisasi*) dengan *xylol* selama sehari penuh

10. Pewarna HE digunakan untuk pewarnaan. Kertas kering digunakan untuk menyerap kandungan *xylol*, yang kemudian secara bertahap ditambahkan ke air sulingan dan larutan alkohol dengan persentase yang semakin rendah (96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30%), masing-masing, untuk durasi 1- 2 menit
 11. Setelah jaringan diwarnai selama 5–10 detik dengan hematoksin, jaringan dibilas lagi selama 10 menit dengan air mengalir
 12. Selama 3-5 menit, preparata direndam dalam alkohol masing- masing 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%
 13. Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2 menit. Kemudian dikeringkan dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 96%) masing-masing selama 3-5 menit
 14. Setelah 15 menit *clearing xylol*, balsam Kanada diteteskan ke dalam sediaan histologi
 15. Memasang *slide* jaringan dengan kaca penutup, memberi label, dan memasukkannya ke dalam kotak sediaan melengkapi prosedur ini.
- 4.6.7. Terminasi dan pengambilan jaringan
- a. Sebelum mengeluarkan organnya, matikan mencit c57BL6 dengan dosis koktail yang mematikan. *Ketamine* 60 mg/kgBB dan *Xylazine* 20 mg/kgBB diperlukan untuk membuat 10 mL *cocktail*
 - b. Organ kulit diambil dari bangkai mencit c57BL6 dan diawetkan dalam RNA *later* pada suhu -80°C dalam *cryotube* bebas RNAase.
- 4.6.8. Ekstraksi RNA dan sintesis cDNA

- a. Sampel kulit dimasukkan ke dalam tube berisi 300 uL RNA *later*, kemudian disimpan dalam suhu -20°C.
- b. Sampel kulit sebanyak 50 mg lalu dimasukkan ke dalam tube berisi 1 mL Trizol, kemudian dilakukan proses homogenisasi menggunakan ultrasonikator serta diinkubasi di suhu ruang selama 5 menit.
- c. Sampel ditambahkan dengan 0.2 mL kloroform dan pada suhu ruang sampel di inkubasi selama 2-3 menit.
- d. Setelah itu sampel disentrifugasi selama 15 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 12.000 x g.
- e. Sampel akan membentuk tiga lapis larutan, sisi bawah berwarna merah muda berisi protein, sisi tengah berwarna putih asap berisi DNA dan sisi atas berwarna bening berisi RNA (*aqueous phase*). Pisahkan *aqueous phase* di sisi atas ke tube yang berbeda.
- f. Sampel *aqueous phase* kemudian ditambahkan 0.5 mL isopropanol, kemudian diresuspensi, di inkubasi selama 10 menit dan disentrifugasi dengan kecepatan 12000 x g pada suhu 4°C selama 10 menit.
- g. Supernatant kemudian dibuang dan pellet ditambahkan dengan 1 mL 75% ethanol lalu diresuspensi, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7500 x g di suhu 4°C selama 5 menit.
- h. Supernatant kemudian dibuang dan pellet RNA ditambahkan dengan 50 uL *nuclease-free water* (NFW).
- i. Konsentrasi sampel RNA kemudian dikuantifikasi menggunakan *uDrop microplate reader*.

- j. Sampel RNA sebanyak 0.1 ug dalam 1 uL kemudian ditambahkan 5 uL NFW dan dilakukan proses denaturasi dengan inkubasi di suhu 65 oC selama 5 menit menggunakan *thermal cycler*.
 - k. Selama 5 menit dengan memanfaatkan *thermal cycler* sampel RNA kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C lalu ditambahkan 2 uL 4x DN *Master Mix*.
 - l. Selanjutnya ditambahkan 2 µg 5x RT *Master Mix*, dan *thermal cycler* dimanfaatkan guna menginkubasi campuran pada suhu 37°C selama 15 menit, 50°C selama 5 menit, dan 98°C selama 5 menit.
 - m. Sampel cDNA kemudian disimpan pada suhu -20 °C.
- 4.6.9. Pembacaan CXCL12/IL-10 dengan *Real Time-Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR)
- a. Dengan menggunakan *Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR), ekspresi gen CXCL12 dan IL-10 dianalisis.
 - b. Lalu proses mencampurkan 1 µg cDNA sampel, 2x SensiFAST SYBR No-ROX Mix sebanyak 10 µg, forward primer sebanyak 0.8 ug, reverse primer sebanyak 0.8 ug dan NFW 7.4 sebanyak ug.
 - c. Primer CXCL12 yang digunakan dan Primer IL-10 yang digunakan
 - d. Proses qPCR dilakukan menggunakan suhu 95 oC selama 2 menit, 95 oC selama 5 detik dan 56 oC selama 20 detik sebanyak 40 siklus. Proses qPCR dilakukan dengan menganalisis probe terhidrolisis pada panjang gelombang 520 nm.
 - e. Dengan *Software EcoStudy* kuantifikasi data qPCR dilakukan.

4.7. Alur Penelitian



Gambar 4.2. Alur Penelitian

4.8. Analisa Data

Hasil penelitian rerata ekspresi CXCL12 dilakukan menggunakan uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk didapatkan data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji Homogenitas pada ekspresi CXCL12 dilakukan dengan Levene's Test didapatkan hasil yang homogen ($p > 0,05$). Uji One-Way ANOVA dilakukan pada rerata ekspresi CXCL12 dan didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$). Uji Post Hoc LSD diterapkan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian.

Hasil penelitian rerata ekspresi IL-10 dilakukan menggunakan uji normalitas dengan uji Shapiro-Wilk, didapatkan data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas pada ekspresi IL-10 dilakukan dengan Levene's Test didapatkan hasil yang tidak homogen ($p < 0,05$). Uji One Way ANOVA dilakukan pada rerata ekspresi IL-10 dan didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$). Uji Post Hoc Tamhane diterapkan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar kelompok. Nilai signifikansi $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok penelitian

4.9.Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada Bulan Mei-Juli 2025 di laboratorium Animal Model Research Center SCCR Indomesia.



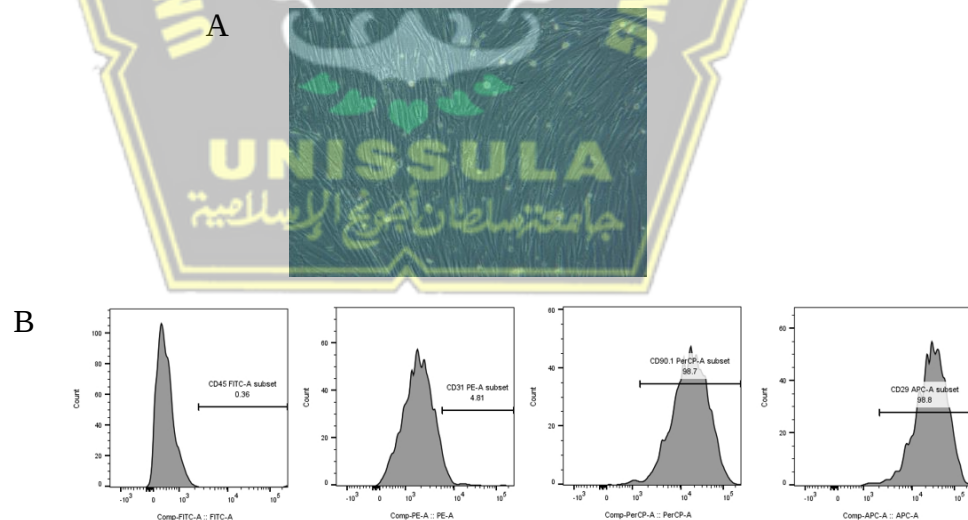
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

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

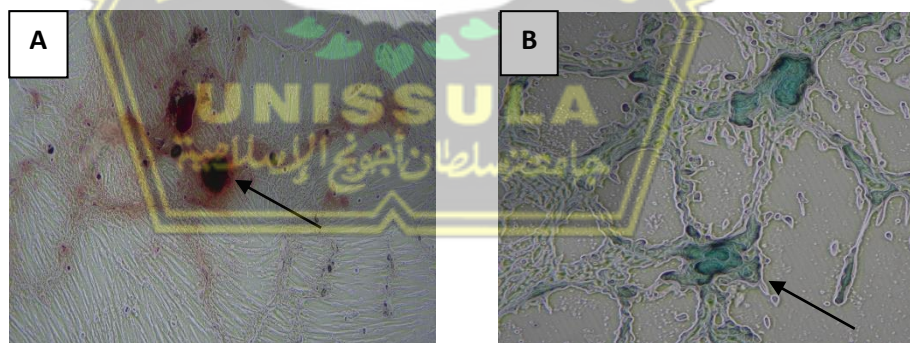
Mesenchymal stem cell diisolasi di Laboratorium SCCR Indonesia di Semarang, menggunakan sumber berupa tali pusat Mencit c57BL6 pada usia berusia 21 hari kehamilan. Setelah proses isolasi, sel-sel tersebut dikultur dalam *Flask* kultur yang berisi media DMEM. Setelah mencapai pasase kelima, analisis morfologi 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. (B) Analisis flow cytometry terhadap ekspresi CD45, CD31, CD90, dan CD29.

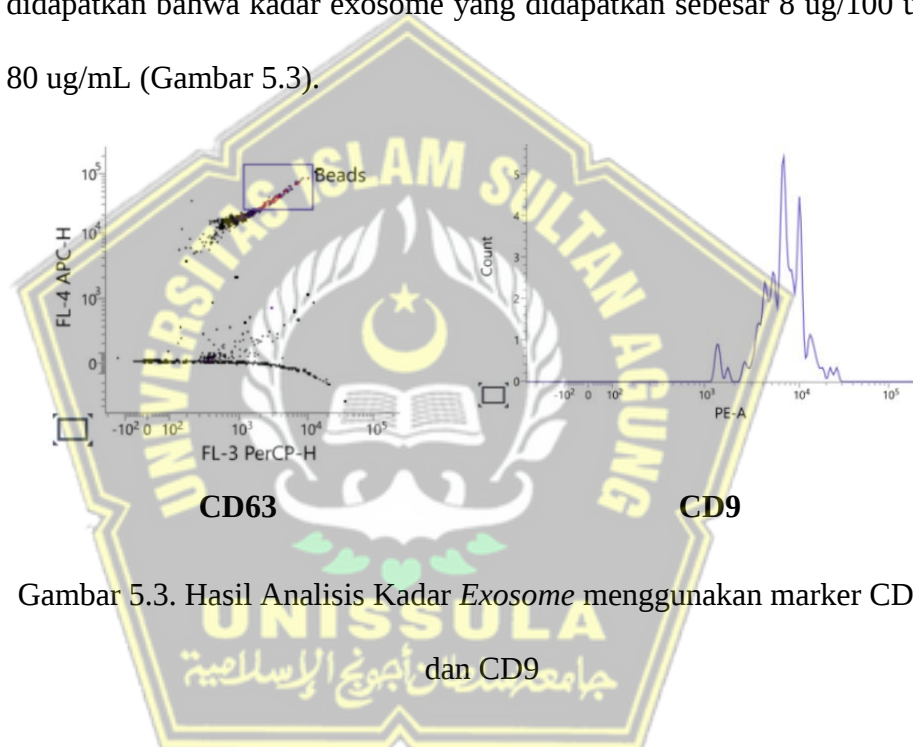
Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD29 (98,8%) dan CD90 (98,7%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,36%) dan CD31 (4,81%) (Gambar 5.1B). Hal ini menunjukkan bahwa sel yang dikultur dari tali pusar memiliki karakteristik MSC.

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



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

Setelah tervalidasi, MSC kemudian diinkubasi dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan box hipoksia. Setelah itu, medium kultur MSC yang mengandung sekretom MSC dikumpulkan dan difiltrasi menggunakan metode TFF dengan ukuran 100-500 kDa sehingga dapat diperoleh EH-MSC. Setelah diisolasi kadar *exosome* dianalisis menggunakan metode *flowcytometry* dan didapatkan bahwa kadar *exosome* yang didapatkan sebesar 8 ug/100 uL = 80 ug/mL (Gambar 5.3).



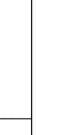
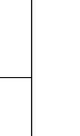
Gambar 5.3. Hasil Analisis Kadar *Exosome* menggunakan marker CD63 dan CD9

5.1.2. Hasil Validasi Alopecia Androgenik

Validasi pembentukan model Alopecia Androgenik pada Mencit c57BL6 dilakukan secara visual dengan membandingkan kondisi densitas rambut pada Mencit c57BL6 sehat dan Mencit c57BL6 yang diinduksi DHT. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa Mencit c57BL6 sehat memiliki densitas rambut yang lebih padat, sedangkan Mencit c57BL6

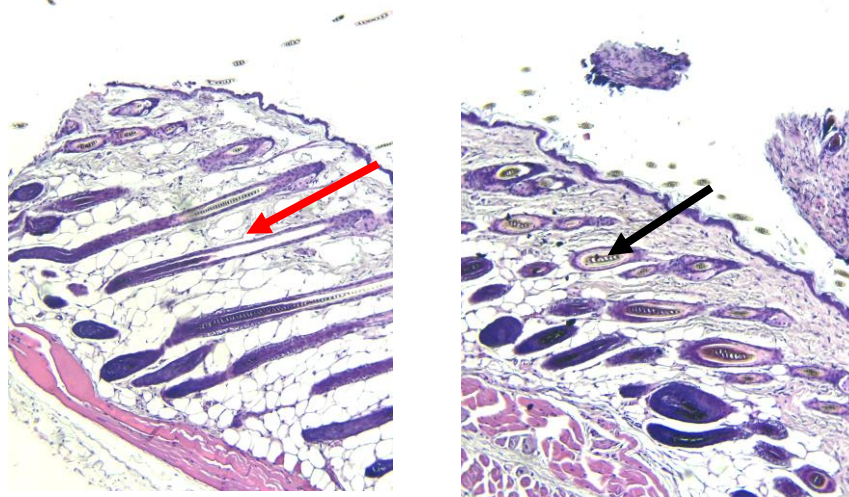
yang diinduksi DHT memiliki densitas rambut yang lebih rendah, sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.4.



	Setelah aklimatisasi	1 minggu setelah DHT	Hari ke 5 setelah perlakuan	Hari ke 14 setelah perlakuan
K1				
K2				
K3				
K4				
K5				

Gambar 5.4. Validasi Makroskopis Sesudah dan Sebelum Perlakuan





Sehat

Alopecia AGA

Gambar 5.5. Hasil mikroskopis pasca pemberian EH-MSCs

Setelah Mencit c57BL6 tervalidasi mengalami Alopecia androgenik, Mencit c57BL6 yang tanpa induksi DHT digunakan sebagai kontrol sehat (K1), sedangkan Mencit c57BL6 yang mengalami Alopecia androgenik akibat induksi DHT dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan secara acak yaitu K2 (Mencit c57BL6 Alopecia androgenik dengan diinjeksi dengan NaCl) K3 (Mencit c57BL6 Alopecia androgenik dengan dioles dengan Minoxidil 5 %), K4 dan K5 (Mencit c57BL6 Alopecia androgenik dengan injeksi EH-MSC dengan dosis masing-masing 100 μ g dan 200 μ g secara subkutan).

Injeksi EH-MSC diberikan sekali pada hari ke-1 setelah Mencit c57BL6 dinyatakan mengalami alopecia androgenik, 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 ekspresi CXCL12 dan IL-10 menggunakan metode PCR.

5.1.3. Ekspresi CXCL12

Tabel 5.1. Data Hasil Analisis ekspresi CXCL12

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	
CXCL12	1,05±0,35	3,15±0,53	2,17±0,68	1,73±0,57	1,54±0,44	
Shapiro Wilk	0,38	0,87	0,79	0,17	0,49	
Lavene test						0,53
One Way Anova						0,000

Data ekspresi CXCL12 dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasi. Kelompok K2 memiliki ekspresi CXCL12 tertinggi, yaitu $3,15 \pm 0,53$ pg/mL, diikuti oleh K3 dengan $2,17 \pm 0,68$ pg/mL, dan K4 dengan $1,73 \pm 0,57$ pg/mL. Kelompok K5 memiliki ekspresi yang lebih rendah sebesar $1,54 \pm 0,44$ pg/mL, sementara ekspresi terendah ditemukan pada K1 dengan $1,05 \pm 0,35$ 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 ekspresi CXCL12 pada kelima kelompok memiliki varians yang homogen ($p > 0,05$).

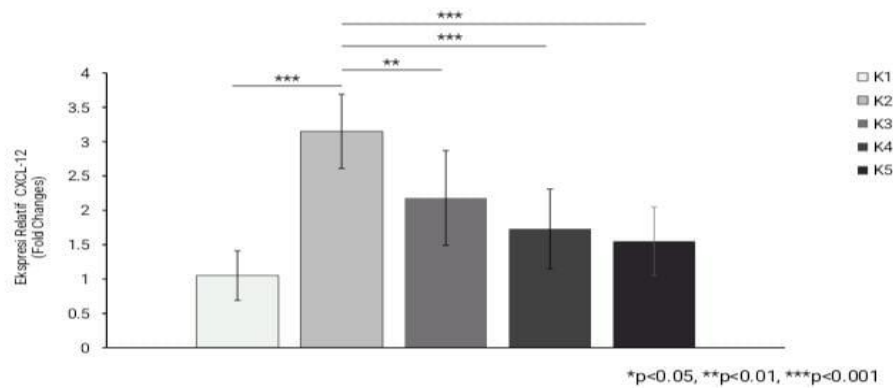
Analisis perbedaan ekspresi CXCL12 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang menghasilkan nilai signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Hasil ini menunjukkan adanya perbedaan

bermakna antara kelompok-kelompok tersebut. Dengan kata lain, perlakuan atau kondisi pada setiap kelompok memberikan pengaruh yang signifikan terhadap ekspresi CXCL12.

Tabel 5.2. Perbedaan rerata ekspresi CXCL12 antar dua kelompok dengan Uji Post Hoc LSD

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,000
	K3	0,001
	K4	0,035
	K5	0,119
K2	K3	0,004
	K4	0,000
	K5	0,000
K3	K4	0,162
	K5	0,051
K4	K5	0,545

Berdasarkan data ekspresi CXCL12 yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji post hoc LSD, karena data bersifat normal dan homogen. Data hasil uji post hoc LSD tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa perlakuan K2 secara konsisten meningkatkan ekspresi CXCL12 paling tinggi, sedangkan K3, K4 dan K5 menunjukkan penurunan.



Gambar 5.6. Grafik ekspresi CXCL12

Terjadi pola penurunan ekspresi CXCL-12 menunjukkan bahwa setelah peningkatan kuat di K2, perlakuan selanjutnya tidak mampu mempertahankan level tinggi tersebut, sehingga terjadi penyesuaian menuju tingkat lebih rendah tetapi masih di atas kontrol (K1).

5.1.4 Ekspresi IL-10

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Ekspresi IL-10

Variabel	Kelompok					P
	K1	K2	K3	K4	K5	
	(pg/mL) Rerata±SD	(pg/mL) Rerata±SD	(pg/mL) Rerata±SD	(pg/mL) Rerata±SD	(pg/mL) Rerata±SD	
IL-10	1,01±0,16	0,74±0,28	1,74±0,39	3,10±0,75	3,29±0,67	
Shapiro Wilk	0,95	0,08	0,96	0,18	0,15	
Lavene test						0,02
One Way Anova						0,000

Data ekspresi IL-10 yang diperoleh dari lima kelompok (K1 hingga K5) menunjukkan variasi yang signifikan dalam konsentrasinya. Kelompok K5 memiliki ekspresi IL-10 tertinggi, yaitu $3,29 \pm 0,67$ pg/mL,

diikuti oleh K4 dengan $3,10 \pm 0,75$ pg/mL, dan K3 dengan $1,74 \pm 0,39$ pg/mL. Kelompok K1 memiliki ekspresi yang lebih rendah, yaitu $1,01 \pm 0,16$ pg/mL, sedangkan ekspresi terendah ditemukan pada kelompok K2 dengan $0,74 \pm 0,28$ pg/mL.

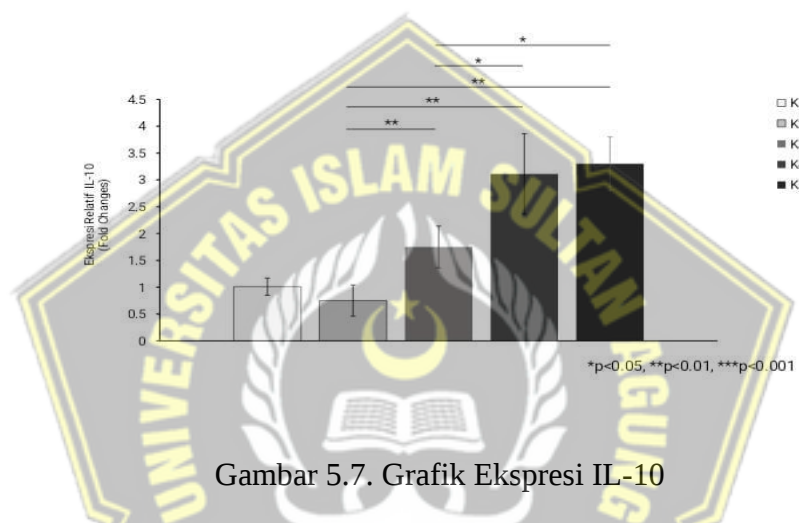
Uji statistik Shapiro-Wilk yang dilakukan untuk mengevaluasi distribusi data menunjukkan bahwa data ekspresi IL-10 pada semua kelompok memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Namun, analisis homogenitas varians menggunakan Levene test menunjukkan bahwa varians data antar kelompok tidak homogen ($p < 0,05$). Hasil analisis ini kemudian dilanjutkan dengan analisis perbedaan ekspresi IL-10 antar kelompok dilakukan menggunakan One-Way ANOVA, yang memberikan hasil signifikan secara statistik ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada ekspresi IL-10 antar kelompok.

Tabel 5.4. Perbedaan rerata ekspresi IL-10 antar dua kelompok dengan

Uji Post Hoc Tamhane

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,604
	K3	0,042
	K4	0,008
	K5	0,003
K2	K3	0,007
	K4	0,003
	K5	0,001
K3	K4	0,048
	K5	0,013
K4	K5	1,000

Berdasarkan data ekspresi IL-10 yang memiliki beda nyata setelah uji uji parametrik One Way ANOVA. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji post Tamhane, karena data tidak homogen. Data hasil uji post hoc Tamhane tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa ekspresi IL-10 pada K3, K4, dan K5 signifikan lebih tinggi dibanding K1 dan K2.



Gambar 5.7. Grafik Ekspresi IL-10

IL-10 meningkat signifikan pada K3, K4, dan K5 dibanding K1 dan K2.

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Exosome dari *mesenchymal stem cells* (EH-MSCs) 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. *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.^{31,32} Selain itu, miRNA-92a dan miRNA-146a memiliki sifat anti-inflamasi yang membantu mengurangi peradangan kulit kepala, yang sering dikaitkan dengan kerontokan rambut.^{33,34}

Exosome hipoxia mesenchymal stem cell (EH-MSC) diketahui bersifat antiinflamasi karena mengandung IL-10 serta berperan dalam proliferasi sel karena mengandung berbagai jenis growth factor dan materi genetic seperti micro RNA (miRNA).^{13,14} Interleukin 10 adalah sitokin yang berperan dalam proses percepatan penyembuhan dan pertumbuhan rambut.¹⁵ Selain IL-10, faktor kemotaktik seperti CXCL12 (CXC Motif Chemokine Ligand 12) memainkan peran penting dalam migrasi sel dan pengaturan ekspresi inflamasi. Peran exosome dalam regenerasi folikel alopecia androgenik dalam pertumbuhan dan regenerasinya diatur oleh sel induknya sendiri meliputi sel induk folikel rambut (HFSC), sel papila dermal (DPC), dan sel induk melanosit (McSC), di antaranya sel papila dermal dan folikel rambut.¹⁶ Pada alopecia androgenik, IL-10 merupakan antiinflamasi sedangkan CXCL12 (CXC Motif Chemokine Ligand 12) meningkat dalam kaitannya dengan inflamasi. CXCL12 (CXC Motif Chemokine Ligand 12) pada alopecia androgenik maupun pada alopecia areata diekspresikan secara tinggi dalam fibroblas dermal (DF). Androgen meningkatkan sekresi CXCL12 (CXC Motif Chemokine Ligand 12) dari

DF melalui reseptor androgen. CXCL12 yang disekresikan dari DF meningkatkan ekspresi reseptor androgen dan CXC Motif Chemokine Receptor 4 (CXCR4) pada sel papila dermal, yang menginduksi kerontokan rambut pada alopecia androgenik.¹⁷

Penelitian ini, pemberian EH-MSC dengan dosis 100 µg dan 200 µg pada Mencit c57BL6 model alopecia androgenik bertujuan untuk mengevaluasi efeknya terhadap ekspresi CXCL12 dan IL-10 serta hubungan kedua parameter ini dengan gen regeneratif dan anti-inflamasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 100 µg dan 200 µg EH-MSC dapat menurunkan ekspresi CXCL12 secara signifikan hingga mencapai kadar yang setara dengan Mencit c57BL6 sehat. Sementara pemberian EH-MSC pada dosis 100 µg dan 200 µg dapat meningkatkan ekspresi IL-10 secara signifikan, namun dosis 200 µg/kgBB menyebabkan peningkatan yang lebih besar dan signifikan dibandingkan 100 µg/kgBB.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian EH-MSC pada model alopecia androgenik menurunkan ekspresi CXCL12. CXCL12 adalah kemokin yang dikenal berperan dalam proses regeneratif, aktivasi sel punca, dan angiogenesis. Dalam konteks rambut, ekspresi CXCL12 membantu merekrut sel progenitor dan meningkatkan sirkulasi mikro di sekitar folikel rambut, yang penting dalam mendorong masuknya folikel ke fase anagen (pertumbuhan).⁶²⁻⁶⁵

Peningkatan ekspresi IL-10 ditemukan signifikan pada dosis 200 µg/kgBB, lebih tinggi dibandingkan dosis 100 µg/kgBB maupun kontrol.

Hal ini menunjukkan bahwa EH-MSC bekerja sebagai agen imunomodulator yang efektif dalam menekan inflamasi lokal yang relevan dalam proses patologi AGA.

IL-10 adalah sitokin anti-inflamasi penting yang menghambat aktivasi sel T, makrofag, dan mengurangi sekresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6. Mikroinflamasi kronis telah diketahui berperan dalam progresi AGA, menyebabkan kerusakan jaringan dermal di sekitar folikel dan mempercepat miniaturisasi.⁶²⁻⁶⁵

Secara keseluruhan, pemberian EH-MSC dapat menurunkan ekspresi CXCL12 dan meningkatkan ekspresi IL-10, dua molekul penting dalam proses regenerasi dan modulasi inflamasi, yang secara sinergis berperan dalam pemulihan kondisi folikel rambut pada AGA. CXCL12 berkontribusi terhadap aktivasi sel punca dan perbaikan vaskularisasi, meskipun dosis dan regulasinya harus diperhatikan karena ekspresi berlebihan bisa kontraproduktif. IL-10 menunjukkan efek antiinflamasi kuat, menekan proses kerusakan akibat mikroinflamasi yang kronis di sekitar folikel rambut. Kedua molekul ini membentuk pendekatan ganda dalam terapi regeneratif, perbaikan struktur melalui CXCL12 dan perlindungan jaringan melalui IL-10. Oleh karena itu, EH-MSC berpotensi dikembangkan sebagai terapi adjuvan atau alternatif biologis pada pengelolaan alopecia androgenik, terutama bagi pasien yang tidak merespon terapi hormonal seperti finasterid atau minoksidil.⁶²⁻⁶⁵

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Pertama perlu penyetaraan hewan uji ya untuk mendapatkan

model hewan coba yang tervalidasi lebih optimal satunya *pre-eliminary study* lebih lanjut. Kedua penelitian ini baru pada tahap hewan coba. Penelitian diharapkan dapat dilakukan ke tahap uji pada manusia agar segera diaplikasikan secara klinis. Ketiga diperlukan analisis lebih lanjut pada EH-MSC sebagai variabel bebas pada penelitian ini untuk menganalisis miRNA yang didapat, dengan tujuan untuk mengetahui fungsinya pada sel target.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi EH-MSC secara subcutan terhadap penurunan ekspresi CXCL12 dan peningkatan ekspresi IL-10 pada Mencit c57BL6 jantan galur Wistar model alopecia androgenik menunjukkan hal-hal berikut:

- a. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 µg dan 200 µg terhadap penurunan ekspresi CXCL12 pada Mencit c57BL6 model alopecia androgenik dibandingkan dengan kelompok kontrol.
- b. Terdapat pengaruh pemberian (*Exosome hypoxia mesenchymal stem cell*) EH-MSC dosis 100 µg dan 200 µg terhadap peningkatan ekspresi IL-10 pada Mencit c57BL6 model alopecia androgenik dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

- a. Penelitian Studi yang akan datang diharapkan untuk mengukur ekspresi, ekspresi protein intraseluler, dan ekspresi mRNA IL-10 setelah dilakukan injeksi EH-MSC pada Mencit c57BL6 model alopecia.
- b. Melakukan uji klinis fase 1 pada manusia yang bertujuan untuk mengevaluasi keamanan, tolerabilitas, dosis, serta efek farmakokinetik dan farmakodinamik dari EH-MSC.

DAFTAR PUSTAKA

1. Al Najjar OA, Alkhars MA, Al Molhim SF, AlAjmi MS, Alhafith AA, Al Najjar MA, AlMaqhawi A. The Impact of Androgenic Alopecia on the Quality of Life of Male Individuals: A Cross-Sectional Study. *Cureus*. 2023 Oct 26;15(10):e47760. doi: 10.7759/cureus.47760. PMID: 38021524; PMCID: PMC10676293.
2. Ghimire RB. Impact on Quality of Life in Patients who came with Androgenetic Alopecia for Hair Transplantation Surgery in a Clinic. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 2018 Jul-Aug;56(212):763-765. doi: 10.31729/jnma.3500. PMID: 30387465; PMCID: PMC8827546.
3. Aukerman EL, Jafferany M. The psychological consequences of androgenetic alopecia: A systematic review. *J Cosmet Dermatol*. 2023 Jan;22(1):89-95. doi: 10.1111/jocd.14983. Epub 2022 Apr 25. PMID: 35403805; PMCID: PMC10084176.
4. Adamowicz R, Załęcki P, Dukiel A, Nowicka D. Association between Androgenetic Alopecia and Psychosocial Disease Burden: A Cross-Sectional Survey among Polish Men. *Dermatol Res Pract*. 2022 Mar 17;2022:1845044. doi: 10.1155/2022/1845044. PMID: 35340914; PMCID: PMC8947924.
5. Maharani S. Potensi Pemberian Vitamin D Topikal pada Alopesia Areata. 2021;03(01):1638–44
6. Thiers BH. Distinguishing Androgenetic Alopecia From Chronic Telogen Effluvium When Associated in the Same Patient: A Simple Noninvasive Method. *Yearb Dermatology Dermatologic Surg*. 2006; 2006:170–1.
7. Martora F, Vastarella M, Fattore D, Patri A, Fabbrocini G, Cantelli M. Oral Minoxidil for Chemotherapy-Induced Alopecia. *Ski Appendage Disord*. 2022;8(6):508–10
8. Suchonwanit P, Thammarucha S, Leerunyakul K. Minoxidil and its use in hair disorders: A review. Vol. 13, *Drug Design, Development and Therapy*. 2019. p. 2777–86.
9. Marty E. Sawaya Peradangan pada alopecia androgenetik dan kerontokan rambut: menghubungkan ilmu saraf-endokrinologi-dermatologi Forum Transplantasi Rambut Internasional Mei 2012, 22 (3) 86-88; DOI:10.33589/22.3.0086

10. Marty E. Sawaya Peradangan pada alopecia androgenetik dan kerontokan rambut: menghubungkan ilmu saraf-endokrinologi-dermatologi Forum Transplantasi Rambut Internasional Mei 2012, 22 (3) 86-88; DOI:10.33589/22.3.0086
11. Marty E. Sawaya Peradangan pada alopecia androgenetik dan kerontokan rambut: menghubungkan ilmu saraf-endokrinologi-dermatologi Forum Transplantasi Rambut Internasional Mei 2012, 22 (3) 86-88; DOI:10.33589/22.3.0086
12. Liang Y, Tang X, Zhang X, Cao C, Yu M, Wan M. Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Derived Exosomes Carrying MiR-122-5p Antagonize the Inhibitory Effect of Dihydrotestosterone on Hair Follicles by Targeting the TGF- β 1/SMAD3 Signaling Pathway. *Int J Mol Sci.* 2023;24(6).
13. Pan Q, Wang Y, Lan Q, Wu W, Li Z, Ma X, et al. Exosomes derived from mesenchymal stem cells ameliorate hypoxia/reoxygenation-injured ECs via transferring MicroRNA-126. *Stem Cells Int.* 2019;2019.
14. Ersan, M., Ozer, E., Akin, O. *dkk.* Efektivitas Perawatan Eksosom pada Alopecia Androgenetik: Hasil Studi Prospektif. *Aesth Plast Surg* **48**, 4262–4271 (2024). <https://doi.org/10.1007/s00266-024-04332-3>
15. Wojciechowska-Zdrojowy M, Jankowska-Konsur A, Nowicka-Suszko D, Szepietowski JC, Hryniewicz-Gwóźdź A. Comparison of serum concentrations of interleukins 10, 12, 17 and 35 between patients with alopecia areata and controls. *Postepy Dermatol Alergol.* 2021 Dec;38(6):1052-1057. doi: 10.5114/ada.2021.112278. Epub 2022 Jan 7. PMID: 35126014; PMCID: PMC8802955
16. Jia-Li Yao, Yu-Rou Shi, Xue- Er Hu, Dai-Jun Yu, Bang-Yao Chen, Li-Jiang Wang, Xiao-Ling Xu, Meng-Lu Zhu, The role of exosomes in follicle regeneration of androgenic alopecia, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Volume 90, 2023, 105126, ISSN 1773-2247, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105126>.
17. Zheng, M.; Kim, M.-H.; Park, S.-G.; Kim, W.-S.; Oh, S.-H.; Sung, J.-H. Antibodi Penetral CXCL12 Meningkatkan Pertumbuhan Rambut pada Alopecia Androgenik dan Alopecia Areata. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, 25, 1705. <https://doi.org/10.3390/ijms25031705>
18. Ersan, M., Ozer, E., Akin, O. *dkk.* Efektivitas Perawatan Eksosom pada Alopecia Androgenetik: Hasil Studi Prospektif. *Aesth Plast Surg* **48**, 4262–4271 (2024). <https://doi.org/10.1007/s00266-024-04332-3>

19. Wang G, Wang Z, Zhang J, et al. Treatment of androgenetic alopecia by exosomes secreted from hair papilla cells and the intervention effect of LTF. *J Cosmet Dermatol*. 2023; 22: 2996-3007. doi:10.1111/jocd.15890
20. 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 Feb 3;2022:7471246. doi: 10.1155/2022/7471246. PMID: 35155688; PMCID: PMC8831060.
21. Bak DH, Choi MJ, Kim SR, Lee BC, Kim JM, Jeon ES, Oh W, Lim ES, Park BC, Kim MJ, Na J, Kim BJ. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells engineered to overexpress growth factors accelerate outcomes in hair growth. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2018 Sep;22(5):555-566. doi: 10.4196/kjpp.2018.22.5.555. Epub 2018 Aug 27. PMID: 30181702; PMCID: PMC6115345.
22. Mao Y, Liu P, Wei J, Xie Y, Zheng Q, Hu X, Yao J, Meng W. Exosomes derived from Umbilical cord mesenchymal stem cell promote hair regrowth in C57BL6 mice through upregulation of the RAS/ERK signaling pathway. *J Transl Int Med*. 2024 Nov 6;12(5):478-494. doi: 10.1515/jtim-2024-0012. PMID: 39513036; PMCID: PMC11538887.
23. Al Aboutd AM, Syed HA, Zito PM. Alopecia. 2024 Feb 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. PMID: 30844205.
24. Sincengile Ntshingila, Ogheneochuko Oputu, Afolake T. Arowolo, Nonhlanhla P. Khumalo, Androgenetic alopecia: An update, *JAAD International*, Volume 13, 2023, Pages 150-158, ISSN 2666-3287, <https://doi.org/10.1016/j.jdin.2023.07.005>.
25. Kasumagić-Mei Zheng, Sang Ho Oh, Nahyun Choi, Yong Jin Choi, Jino Kim, Jong-Hyuk Sung, CXCL12 inhibits hair growth through CXCR4, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 150, 2022, 112996, ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112996>.
26. Zheng, M.; Kim, M.-H.; Park, S.-G.; Kim, W.-S.; Oh, S.-H.; Sung, J.-H. Antibodi Penetral CXCL12 Meningkatkan Pertumbuhan Rambut pada Alopecia Androgenik dan Alopecia Areata. *Int. J. Mol. Sci*. 2024 , 25 , 1705. <https://doi.org/10.3390/ijms25031705>
27. Iyer SS, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease. *Crit Rev Immunol*. 2012;32(1):23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30. PMID: 22428854; PMCID: PMC3410706.

28. Charoensuksira, S.; Tantiwong, S.; Pongklaokam, J.; Hanvivattanakul, S.; Surinlert, P.; Krajarng, A.; Thanasarnaksorn, W.; Hongeng, S.; Ponnikorn, S. Disturbance of Immune Microenvironment in Androgenetic Alopecia through Spatial Transcriptomics. *Int. J. Mol. Sci.* 2024, 25, 9031. <https://doi.org/10.3390/ijms25169031>
29. 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 Reviews and Reports*. 2021.
30. 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.
31. 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).
32. Zhang X, Bao P, Zheng Q, Chu M, Liang C, Guo X, 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).
33. Winkler I, Engler JB, Vieira V, Bauer S, Liu YH, Di Liberto G, et al. MicroRNA-92a-CPEB3 axis protects neurons against inflammatory neurodegeneration. *Sci Adv.* 2023;9(47).
34. Liao Z, Zheng R, Shao G. Mechanisms and application strategies of miRNA- 146a regulating inflammation and fibrosis at molecular and cellular levels (Review). Vol. 51, *International Journal of Molecular Medicine*. 2023.
35. Liao Z, Zheng R, Shao G. Mechanisms and application strategies of miRNA- 146a regulating inflammation and fibrosis at molecular and cellular levels (Review). Vol. 51, *International Journal of Molecular Medicine*. 2023.
36. Ruvo PP, Jacamo R, Ruvo VR, Burks JK, Battula VL, McQueen T, et al. Exosomes Mediate Communication Between the Microenvironment and Leukemic Cells in Acute Myeloid Leukemia. *Blood.* 2012;120(21):3469–3469.
37. 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).

38. Kang K, Ma R, Cai W, Huang W, Paul C, Liang J, et al. Exosomes Secreted from CXCR4 Overexpressing Mesenchymal Stem Cells Promote Cardioprotection via Akt Signaling Pathway following Myocardial Infarction. *Stem Cells Int.* 2015;2015.
39. 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):1203–17.
40. Ersan M, Ozer E, Akin O, Tasli PN, Sahin F. Effectiveness of Exosome Treatment in Androgenetic Alopecia: Outcomes of a Prospective Study. *Aesthetic Plast Surg.* 2024 Nov;48(21):4262-4271. doi: 10.1007/s00266-024-04332-3. Epub 2024 Aug 22. PMID: 39174804; PMCID: PMC11588828.
41. Fatemeh Norouzi, Sanaz Aghajani, Nasim Vosoughi, Shiva Sharif, Kazem Ghahremanzadeh, Zeinab Mokhtari, Javad Verdi, Exosomes derived stem cells as a modern therapeutic approach for skin rejuvenation and hair regrowth, *Regenerative Therapy*, Volume 26, 2024, Pages 1124-1137, ISSN 2352-3204, <https://doi.org/10.1016/j.reth.2024.10.001>.
42. Zheng M, Kim MH, Park SG, Kim WS, Oh SH, Sung JH. CXCL12 Neutralizing Antibody Promotes Hair Growth in Androgenic Alopecia and Alopecia Areata. *Int J Mol Sci.* 2024 Jan 30;25(3):1705. doi: 10.3390/ijms25031705. PMID: 38338982; PMCID: PMC10855715.
43. Gokce N, Basgoz N, Kenanoglu S, Akalin H, Ozkul Y, Ergoren MC, Beccari T, Bertelli M, Dundar M. An overview of the genetic aspects of hair loss and its connection with nutrition. *J Prev Med Hyg.* 2022 Oct 17;63(2 Suppl 3):E228-E238. doi: 10.15167/2421-4248/jpmh2022.63.2S3.2765. PMID: 36479473; PMCID: PMC9710406.
44. Yarosz EL, Chang CH. The Role of Reactive Oxygen Species in Regulating T Cell-mediated Immunity and Disease. *Immune Netw.* 2018 Feb 22;18(1):e14. doi: 10.4110/in.2018.18.e14. PMID: 29503744; PMCID: PMC5833121.
45. DiDonato JA, Mercurio F, Karin M. NF-κB and the link between inflammation and cancer. *Immunol Rev.* 2012 Mar;246(1):379-400. doi: 10.1111/j.1600-065X.2012.01099.x. PMID: 22435567.
46. Jun Qin^{1,2†}, Liang Shang^{1,3†}, An-song Ping², Jing Li¹, Xiao-jun Li¹, Hong Yu³, Jacques Magdalou⁴, Liao-bin Chen² * and Hui Wang¹ *
Correction: TNF/TNFR signal transduction pathway-mediated anti-apoptosis and antiinflammatory effects of sodium ferulate on IL-1β-induced rat osteoarthritis chondrocytes in vitro Qin et al. *Arthritis Research & Therapy* 2013, 15:407 <http://arthritis-research.com/content/15/3/407>

47. Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell*. 2008 Feb 8;132(3):344-62. doi: 10.1016/j.cell.2008.01.020. PMID: 18267068.
48. Karin M. Nuclear factor-kappaB in cancer development and progression. *Nature*. 2006 May 25;441(7092):431-6. doi: 10.1038/nature04870. PMID: 16724054.
49. Jun Qin^{1,2†}, Liang Shang^{1,3†}, An-song Ping², Jing Li¹, Xiao-jun Li¹, Hong Yu³, Jacques Magdalou⁴, Liao-bin Chen² * and Hui Wang¹ *
Correction: TNF/TNFR signal transduction pathway-mediated anti-apoptosis and antiinflammatory effects of sodium ferulate on IL-1 β induced rat osteoarthritis chondrocytes in vitro Qin et al. *Arthritis Research & Therapy* 2013, 15:407 <http://arthritis-research.com/content/15/3/407>
50. Li K, Sun Y, Liu S, Zhou Y, Qu Q, Wang G, Wang J, Chen R, Fan Z, Liu B, Li Y, Mao X, Hu Z, Miao Y. The AR/miR-221/IGF-1 pathway mediates the pathogenesis of androgenetic alopecia. *Int J Biol Sci*. 2023 Jun 26;19(11):3307-3323.
51. Paul S, Licona-Vázquez I, Serrano-Cano FI, Frías-Reid N, Pacheco-Dorantes C, Pathak S, Chakraborty S, Srivastava A. Current insight into the functions of microRNAs in common human hair loss disorders: a mini review. *Hum Cell*. 2021 Jul;34(4):1040-1050.
52. Dokka S, Shi X, Leonard S, Wang L, Castranova V, Rojanasakul Y. Interleukin-10-mediated inhibition of free radical generation in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2001 Jun;280(6):L1196-202. doi: 10.1152/ajplung.2001.280.6.L1196. PMID: 11350798.
53. 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.
54. Ardhiyah Iswanda Putri, M Yulianto Listiawan, Pendekatan Diagnosis dan Tata Laksana Alopecia Androgenetik, VOL. 35 ISSUE 1, APRIL 2022, <https://doi.org/10.56951/medicinus.v35i1.88>
55. Qu H, Zhang R, Xin W, Jing H, Wang G, Gao L. Investigator-blinded, controlled, and randomized comparative study on 1565 nm non-ablative fractional laser versus 5% minoxidil for treatment of androgenetic alopecia. *J Cosmet Dermatol*. 2024; 23: 1638-1644. doi:[10.1111/jocd.16173](https://doi.org/10.1111/jocd.16173)
56. Vanderford DA, Greer PK, Sharp JM, Chichlowski M, Rouse DC, Selim MA, Hale LP. Alopecia in IL-10-deficient mouse pups is c-kit-dependent and can be triggered by iron deficiency. *Exp Dermatol*. 2010 Jun;19(6):518-26. doi: 10.1111/j.1600-0625.2009.01032.x. Epub 2010 Jan 22. PMID: 20100190; PMCID: PMC3514968.

57. Saraiva, M., O'Garra, A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat Rev Immunol* 10, 170–181 (2010). <https://doi.org/10.1038/nri2711>
58. De Palma ST, Hermans EC, Shamorkina TM, Trayford C, van Rijt S, Heck AJR, Nijboer CHA, de Theije CGM. Hypoxic Preconditioning Enhances the Potential of Mesenchymal Stem Cells to Treat Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury. *Stroke*. 2025 Apr 18;56(7):1872–82. doi: 10.1161/STROKEAHA.124.048964. Epub ahead of print. PMID: 40248869; PMCID: PMC12180708.
59. Mei Zheng, Sang Ho Oh, Nahyun Choi, Yong Jin Choi, Jino Kim, Jong-Hyuk Sung, CXCL12 inhibits hair growth through CXCR4, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, Volume 150, 2022, 112996, ISSN 0753-3322, <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.112996>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332222003857>)
60. Julien M.D. Legrand, Edwige Roy, Jonathan J. Ellis, Mathias Francois, Andrew J. Brooks, Kiarash Khosrotehrani, STAT5 Activation in the Dermal Papilla Is Important for Hair Follicle Growth Phase Induction, *Journal of Investigative Dermatology*, Volume 136, Issue 9, 2016, Pages 1781-1791, ISSN 0022-202X, <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.04.014>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022202X16310648>)
61. Ma, Z.; Zhou, F.; Jin, H.; Wu, X. Crosstalk antara CXCL12/CXCR4/ACKR3 dan Jalur STAT3. *Sel* **2024**, *13*, 1027. <https://doi.org/10.3390/cells13121027>
62. Zheng, M.; Kim, M.-H.; Park, S.-G.; Kim, W.-S.; Oh, S.-H.; Sung, J.-H. CXCL12 Neutralizing Antibody Promotes Hair Growth in Androgenic Alopecia and Alopecia Areata. *Int. J. Mol. Sci.* **2024**, *25*, 1705. <https://doi.org/10.3390/ijms25031705>
63. Zheng, M.; An, S.; Park, I.G.; Kim, J.; Kim, W.-S.; Noh, M.; Sung, J.-H. Differential Expression of CXCL12 in Human and Mouse Hair: Androgens Induce CXCL12 in Human Dermal Papilla and Dermal Sheath Cup. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 95. <https://doi.org/10.3390/ijms26010095>
64. Watson VE, Faniel ML, Kamili NA, Krueger LD, Zhu C. Immune-mediated alopecias and their mechanobiological aspects. *Cells Dev.* 2022 Jun;170:203793. doi: 10.1016/j.cdev.2022.203793. Epub 2022 May 29. PMID: 35649504; PMCID: PMC10681075.

65. Vanderford DA, Greer PK, Sharp JM, Chichlowski M, Rouse DC, Selim MA, Hale LP. Alopecia in IL-10-deficient mouse pups is c-kit-dependent and can be triggered by iron deficiency. *Exp Dermatol*. 2010 Jun;19(6):518-26. doi: 10.1111/j.1600-0625.2009.01032.x. Epub 2010 Jan 22. PMID: 20100190; PMCID: PMC3514968.

