

**PENGARUH *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS*
(SH-MSC) DAN MINOXIDIL TERHADAP KADAR TNF- α dan IFN- γ
(Studi Eksperimental *in Vivo* Pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi
Fluconazole)**

**Tesis
Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat
Magister (S2)**



Magister Ilmu Biomedik

**Febrika Nurfajriah
MBK 2423010444**

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

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS
(SH-MSC) DAN MINOXIDIL TERHADAP KADAR TNF- α dan IFN- γ
(Studi Eksperimental in Vivo Pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi
Fluconazole)**

Disusun oleh :

Febrika Nurfajriah

MBK 2423010444

Yang dipertahankan di depan Tim Penguji pada
Tanggal 21 Agustus 2025
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I,

Pembimbing II,


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


Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes

NIK. 210123160

NIK. 210.101.059

Mengetahui,

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Sultan Agung




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

NIK. 210123160

PERNYATAAN

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

Semarang, 28 Agustus 2025



(Febrika Nurfaizrah)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama	: Febrika Nurfajriah
Tempat / tanggal lahir	: Jakarta, 25 Februari 1982
Agama	: Islam
Jenis Kelamin	: Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

- | | |
|---------------------------------------|--------------------|
| 1. TK Bina Ihsan | : Lulus tahun 1988 |
| 2. SDI Muhammadiyah Payakumbuh | : Lulus tahun 1994 |
| 3. MTs Al Ittihad | : Lulus tahun 1997 |
| 4. SMAN 8 Pekanbaru | : Lulus tahun 2000 |
| 5. S1 Fakultas Kedokteran Trisakti | : Lulus tahun 2004 |
| 6. Profesi Dokter Trisakti | : Lulus tahun 2007 |
| 7. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula | : 2022 - Sekarang |

C. Riwayat Keluarga

- | | |
|---------------|--|
| 1. Nama Suami | : dr. M. Arief Fadli, Sp.An |
| 2. Nama Anak | : - Syifa Ariani
- Nayla Fakhirah
- Muhammad Fayyadh |

KATA PENGANTAR

Puji syukur terpanjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga proposal tesis dengan judul **“PENGARUH *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (SH-MSC) DAN MINOXIDIL TERHADAP KADAR TNF- α dan IFN- γ (Studi Eksperimental in Vivo Pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi Fluconazole)”** ini dapat penulis selesaikan.

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

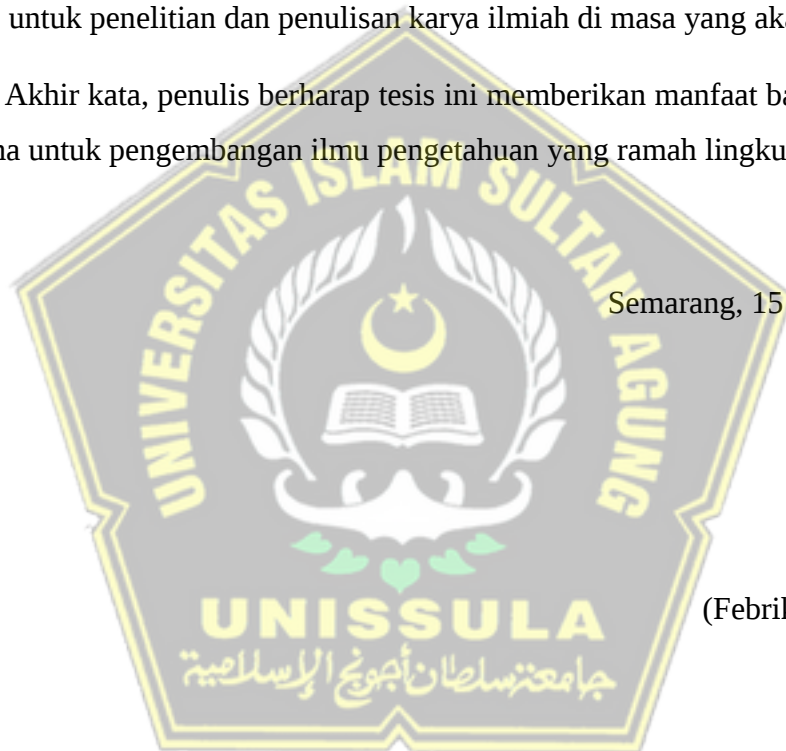
Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa hormat dan menghaturkan terima kasih yang sebesar-besarnya, kepada:

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
4. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, atas bimbingan, arahan dan waktu yang telah diluangkan kepada penulis untuk berdiskusi selama menjadi dosen pembimbing pertama.
5. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan dan saran serta menyempatkan waktu kesibukannya saat bimbingan tesis.
6. Seluruh Dosen Program Studi Magister Ilmu Biomedik, yang telah memberikan arahan dan bimbingan untuk mendalami ilmu Biomedik.
7. Segenap staf administrasi progam Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

8. Kedua orang tua dan seluruh keluarga saya yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas segala dukungan dan doanya.
9. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Dengan keterbatasan pengalaman, ilmu maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari bahwa tesis ini masih banyak kekurangan dan pengembangan lanjut agar benar benar bermanfaat. Oleh sebab itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar proposal 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, 15 Agustus 2025

Penulis

(Febrika Nurfajriah)

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
ABSTRAK	xi
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Originalitas Penelitian.....	5
1.5. Manfaat penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Alopecia Areata.....	9
2.2. TNF α	16
2.3. Interferon- γ	20
2.4. Hubungan Antara TNF- α dan IFN- γ pada Alopecia	22
2.5. <i>Mesenchymal Stem Cells (MSCS)</i>	23
2.5.1. Definisi Stem Cell	23
2.6. Sekretom Hipoksia - Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS)	28
2.7. Minoxidil Topikal	35
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	39
3.1. Kerangka Teori.....	39
3.2. Kerangka konsep	44
BAB IV METODE PENELITIAN.....	45
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	45
4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	46

4.3.	Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian	48
4.4.	Besar Sampel.....	49
4.5.	Alat dan Bahan	50
4.6.	Cara Penelitian	52
4.7.	Alur Penelitian	57
4.8.	Analisa Data	58
4.9.	Tempat dan Waktu Penelitian	58
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN		59
5.1.	Hasil Penelitian	59
5.2.	Pembahasan Hasil Penelitian	68
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		75
6.1.	Kesimpulan	75
6.2.	Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....		77
LAMPIRAN.....		88



DAFTAR SINGKATAN

AA	: Alopecia Areata
A-PRP	: Non activated Platelet-Rich Plasma
AA-PRP	: Autologous Activated Platelet-Rich Plasma
ADSC-Exos	: Adipose-Derived Stem Cell Secretomes
BMPs	: Bone Morphogenetic Proteins
GDFs	: Growth Differentiation Factors
FGF	: Fibroblast Growth factor
IFN- γ	: Interferon Gamma
IL-10	: Interleukin-10
IGF	: Insulin-Like Growth factor
MAPK/ERK	: Mitogen Activated Protein Kinase / Extracellular-Signal-Regulated Kinase
miRNA	: Micro Ribonucleic Acid
MSCS	: Mesenchymal Stem Cell
NF-kB	: Nuclear Factor-Kappa Beta
PDGF	: Platelet Derived Growth factor
PDGF-A	: Platelet-Derived Growth factor A
PDGF-AA	: Platelet-Derived Growth factor-AA
PDGF-BB	: Platelet-Derived Growth factor-BB
PEG	: Polyethylene Glycol
PI3K/AKT	: Phosphoinositide-3-kinase
ROS	: Reactive Oxygen Species
SH-MSCS	: Secretome Hipoxia Mesenchymal Stem Cell
T reg	: Regulatory T Cell
TGF- β	: Transforming Growth factor Beta
TGF- β 1	: Transforming Growth factor Beta 1 (TGF- β 1)
TNF- α	: Tumor Necrotic Factor Alpha
VEGF	: Vascular Endothelial Growth factor

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Sumber dan Kemampuan Diferensiasi Mesenchymal Stem Cells ⁶⁵	28
Gambar 2. 2. Secretom Mesenchymal Stem Cells ⁸⁸	31
Gambar 2. 3. Metode Purifikasi Secretome MSCS Menggunakan TFF ⁹²	32
Gambar 3. 1. Kerangka Teori	43
Gambar 3. 2. Kerangka Konsep	44
Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian ¹¹³	45
Gambar 4. 2. Alur Penelitian	57
Gambar 5.1. Morfologi MSC	61
Gambar 5.2. Kemampuan MSCs berdiferensiasi	62
Gambar 5.3. Validasi <i>Alopecia-like</i>	63



ABSTRAK

Latar Belakang : Alopecia merupakan gangguan kerontokan rambut yang erat kaitannya dengan peningkatan sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan IFN- γ . Minoxidil banyak digunakan sebagai terapi, namun terbatas dalam mengendalikan proses inflamasi. Penelitian ini bertujuan menilai pengaruh SH-MSC, tunggal maupun kombinasi dengan minoxidil, pada tikus model alopecia-like.

Metode : Tikus jantan strain Wistar terlebih dahulu diberikan fluconazole secara oral selama 14 hari. Setelah itu, hewan coba dikelompokkan menjadi empat perlakuan, yakni K1 sebagai kontrol dengan larutan NaCl, K2 yang mendapatkan minoxidil, K3 dengan penyuntikan 100 μ L sekretom SH-MSC, serta K4 yang memperoleh kombinasi injeksi 100 μ L SH-MSC bersama minoxidil. Pemberian sekretom dilakukan melalui rute intradermal selama tujuh hari berturut-turut. Dua puluh empat jam pasca pemberian terakhir, jaringan diambil untuk mengukur kadar TNF- α dan IFN- γ menggunakan teknik ELISA. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji non-parametrik Kruskal-Wallis, kemudian dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney sebagai *Post Hoc*. Nilai $P < 0,05$ dianggap menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan kadar TNF- α pada masing-masing kelompok yaitu K1 sebesar $779,57 \pm 61,22$ pg/mL, K2 sebesar $730,66 \pm 125,82$ pg/mL, K3 sebesar $692,83 \pm 58,60$ pg/mL, dan K4 sebesar $640,83 \pm 76,69$ pg/mL. Sementara itu, kadar IFN- γ terukur pada K1 sebesar $68,83 \pm 15,65$ pg/mL, K2 sebesar $59,50 \pm 24,14$ pg/mL, K3 sebesar $54,16 \pm 15,23$ pg/mL, serta K4 sebesar $24,00 \pm 14,68$ pg/mL. Temuan ini mengindikasikan bahwa kombinasi injeksi 100 μ L SH-MSC dengan aplikasi topikal Minoxidil 5% efektif belum mampu menurunkan kadar TNF- α , namun mampu menurunkan IFN- γ secara bermakna ($P < 0,05$).

Kesimpulan : Penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi sekretom MSC hipoksia dan minoxidil topikal memberikan efek sinergis dalam menurunkan kadar IFN- γ , sehingga berpotensi menekan inflamasi terkait alopecia secara lebih efektif, namun penurunan TNF- α tidak signifikan, sehingga kemungkinan diperlukan durasi terapi lebih panjang atau mekanisme tambahan untuk mencapai regulasi TNF- α yang optimal..

Keyword : Alopecia, SH-MSC, TNF, IFN, Minoxidil

ABSTRACT

Background : Alopecia is a hair loss disorder closely associated with elevated proinflammatory cytokines such as $TNF-\alpha$ and $IFN-\gamma$. Minoxidil is widely used as therapy but has limitations in controlling inflammation. This study aimed to evaluate the effect of hypoxic mesenchymal stem cell (MSC) secretome, either alone or in combination with topical minoxidil, in an alopecia-like rat model.

Method : Male Wistar rats were orally administered fluconazole for 14 days to induce the alopecia-like model. Animals were then randomly assigned to four groups: K1 (NaCl control), K2 (minoxidil), K3 (100 μ L SH-MSC injection), and K4 (combination of 100 μ L SH-MSC injection with minoxidil). Secretome was administered by intradermal injection for seven consecutive days. Twenty-four hours after the final treatment, tissue samples were collected and analyzed for $TNF-\alpha$ and $IFN-\gamma$ levels using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Statistical comparisons were conducted using the Kruskal–Wallis test followed by the Mann–Whitney Post Hoc test, with a significance threshold set at $P < 0.05$.

Result : The results showed $TNF-\alpha$ levels: K1 ($779,57 \pm 61,22$ pg/mL), K2 ($730,66 \pm 125,82$ pg/mL), K3 ($692,83 \pm 58,60$ pg/mL), K4 ($640,83 \pm 76,69$ pg/mL). $IFN-\gamma$ levels: K1 ($68,83 \pm 15,65$ pg/mL), K2 ($59,50 \pm 24,14$ pg/mL), K3 ($54,16 \pm 15,23$ pg/mL), K4 ($24,00 \pm 14,68$ pg/mL).

Conclusion : The combination group (K4) demonstrated the most significant reduction of $IFN-\gamma$, suggesting a synergistic effect of hypoxic MSC secretome and minoxidil in suppressing alopecia-associated inflammation. However, despite a downward trend, $TNF-\alpha$ levels were not significantly reduced across groups, indicating that this cytokine may be less responsive to short-term intervention or requires prolonged modulation to achieve a meaningful decrease.

Keyword : Alopecia, SH-MSC, TNF , IFN , Minoxidil

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alopecia adalah kondisi kerontokan rambut yang dapat disebabkan oleh autoimun pada folikel rambut melalui pelepasan sitokin proinflamasi, seperti TNF- α dan IFN- γ .¹ TNF- α memicu inflamasi, merusak jaringan folikel, dan menekan regenerasi, sedangkan IFN- γ mengganggu imunoprivilege folikel rambut melalui peningkatan respon inflamasi.^{2,3} Minoxidil topikal merangsang vaskularisasi folikel, sementara Sekretom Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS) dalam kondisi hipoksia mampu menekan ekspresi TNF- α dan IFN- γ serta memperbaiki mikro lingkungan folikel.⁴⁻⁷ Penelitian ini mengkaji efek kombinasi minoxidil dan SH-MSCS terhadap kadar TNF- α dan IFN- γ pada model hewan *alopecia-like*.

Alopecia areata (AA) adalah jenis alopecia non-jaringan parut yang melibatkan mekanisme autoimun dan sering kali memiliki dampak psikologis yang mendalam pada penderitanya. Stres psikologis telah diidentifikasi sebagai salah satu pemicu utama, dengan sekitar 23% kasus AA terkait langsung dengan stres.⁸⁻¹⁰ Gangguan kecemasan dilaporkan terjadi pada lebih dari separuh pasien pediatrik (51%), sementara gangguan kejiwaan sepanjang hidup, termasuk depresi (38%–39%) dan gangguan kecemasan umum (39%–62%), ditemukan pada 66%–74% penderita AA.⁸⁻¹⁰ Kondisi ini tidak hanya memengaruhi kesehatan mental tetapi juga aspek sosial, pekerjaan, dan hubungan pribadi, menyebabkan gangguan penyesuaian yang signifikan.⁸⁻¹⁰

Lebih dari 75% penderita melaporkan penurunan kualitas hidup, dengan 65,9% menunjukkan tanda-tanda depresi atau kecemasan, dan 12,8% di antaranya berada dalam risiko bunuh diri. Pada anak-anak, dampak psikologis AA juga sangat mencolok, dengan 61% mengalami gejala depresi, tingkat kecemasan yang lebih tinggi, dan harga diri yang lebih rendah dibandingkan dengan anak-anak tanpa AA.⁸⁻¹⁰

Alopecia areata diketahui disebabkan oleh proses peradangan pada folikel, terutama selama fase anagen. Aktivasi sel imun dan pelepasan sitokin inflamasi, seperti TNF- α dan IFN- γ yang memainkan peran kunci dalam hilangnya imunoprivilegium folikel rambut.¹¹⁻¹⁴ TNF- α memicu apoptosis sel folikel dan mendorong transisi prematur dari fase anagen ke katagen. Protein IFN- γ , sebuah sitokin yang dapat mengaktifkan makrofag, meningkatkan ekspresi MHC, dan mengganggu imunoprivilege folikel rambut melalui peningkatan respon inflamasi. Kadar TNF- α dan IFN- γ yang tinggi dan persisten menciptakan lingkaran peradangan kronis yang tidak hanya memperparah kerusakan folikel rambut, tetapi juga menghambat aktivitas sel punca folikel, mencegah regenerasi rambut, serta memperpanjang fase katagen secara patologis.¹

Terapi alopecia saat ini, seperti kortikosteroid, imunoterapi topikal, dan minoxidil, memiliki keterbatasan antara lain kortikosteroid memiliki efek samping seperti atrofi kulit, hipopigmentasi, dan risiko relaps tinggi, sedangkan imunoterapi topikal seperti DPCP/SADBE dibatasi oleh ketersediaan di negara-negara maju serta adanya efek samping seperti

dermatitis berat dan perubahan pigmen. Minoxidil diketahui banyak digunakan sebagai terapi standar, namun memberikan hasil lambat, sementara, dan tidak menyasar inflamasi sehingga tidak dapat menekan sumber masalah dari alopecia yang berujung dapat terjadinya *relapse*, selain itu minoxidil memiliki efek samping lokal seperti iritasi kulit kepala.^{5,15-17}

Penelitian sebelumnya menemukan adanya peran SH-MSCS dengan kadar 20% secara topical dalam menurunkan kadar TNF- α dan IFN- γ pada tikus model *alopecia-like* yang diinduksi oleh fluconazole dosis 35 mg/kgBB.^{18,19} Sekretom hipoksia *mesenchymal stem cell* (SH-MSCS) mengandung berbagai faktor bioaktif, termasuk sitokin anti-inflamasi, protein imunomodulator, dan microRNA, yang berperan penting dalam menekan inflamasi melalui pengaturan molekul pro-inflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ .

Kandungan sekretom seperti interleukin-10 (IL-10) diketahui menghambat jalur NF- κ B, yang merupakan regulator utama produksi TNF- α dan IFN- γ .²⁰⁻²⁵ Penurunan aktivitas NF- κ B secara langsung mengurangi pelepasan TNF- α , sehingga mencegah apoptosis dan kerusakan pada sel-sel folikel rambut. Selain itu, microRNA seperti miR-21 yang terdapat dalam sekretom MSCS juga berperan dalam menekan sekresi protein pro-inflamasi, termasuk TNF- α dan IFN- γ .²⁰⁻²⁵ Sekretom MSCS juga dapat mengurangi infiltrasi makrofag ke jaringan yang terpapar inflamasi sehingga semakin menekan kondisi inflamasi di area folikel rambut.²⁰⁻²⁵ Namun demikian, penelitian tersebut masih belum mengkombinasikan minoxidil yang

merupakan terapi standar yang mungkin dapat meningkatkan efek antiinflamasi SH-MSCS terhadap alopecia. Peran SH-MSCS dalam menekan TNF- α dan IFN- γ pada Alopecia masih belum dikaji sehingga perlu dilakukan penelitian. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan mengkaji peran kombinasi antara SH-MSCS dan minoxidil terhadap kadar IL-6 dan IL-10 pada kondisi alopecia.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh kombinasi injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar TNF- α dan IFN- γ pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi Fluconazole?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Tujuan umum yang ingin dicapai penelitian ini adalah mengetahui pengaruh kombinasi injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar TNF- α dan IFN- γ yang diinduksi Fluconazole pada Tikus Jantan Galur Wistar.

1.3.2. Tujuan khusus

- a. Membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar TNF- α pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia like*.

- b. Membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar IFN- γ pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia like*.

1.4. Originalitas Penelitian

Tabel 1. 1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, Tahun	Judul	Sampel dan Metode	Hasil
1.	Indah Permata Hati, 2023 ¹⁸	Pengaruh Pemberian Gel Topikal <i>SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS</i> Terhadap Ekspresi Gen Il-10 Dan Tnf-A	In vivo tikus mengalami alopecia yang diinduksi fluconazole dosis 35 mmg/kgBB dan diberi SH-MSCS topical 10 dan 20% diuji IL-10 dan TNF- α	Pemberian dosis 10% dan 20% topikal SH-MSCSs meningkatkan ekspresi gen IL-10 dan menurunkan ekspresi gen TNF- α pada tikus Wistar dengan model alopesia like yang diinduksi fluconazole
2.	Rahardja Carolina Kiwik, 2023 ¹⁹	Pengaruh Pemberian Gel Topikal <i>SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS</i> Terhadap Ekspresi Gen IL-15 dan IFN γ	In vivo tikus mengalami alopecia yang diberi fluconazole dosis 35 mmg/kgBB dan diuji IL-6 dan TGF-B	Pemberian dosis SH-MSCSs 10% dan 20% dalam 200 mg gel dapat menurunkan ekspresi IL-15 dan IFN γ Pemberian dosis SH-MSCSs 20%
3.	Yanqiao Li et al, 2022 ²⁶	<i>Exosomes Secreted from Adipose-Derived Stem Cells Are a Potential Treatment Agent for Immune-Mediated Alopecia</i>	Pemberian sekresi eksosom dosis 400 μ g/mL dari sel punca adiposa	Terapi ADSC-Exos meningkatkan pertumbuhan rambut dengan regulasi jalur pensinyalan miR-22, Wnt / β -catenin, dan TNF- α pada alopecia

				yang dimediasi imun.
4.	Liang Y et al, 2023 ³	<i>Adipose Mesenchymal Stromal Cell-Derived Exosomes Carrying MiR-122-5p Antagonize the Inhibitory Effect of Dihydrotestosterone on Hair Follicles by Targeting the TGF-β1/SMAD3 Signaling Pathway</i>	Pemberian miR-122-5p dalam eksosom	miR-122-5p, yang sangat diperkaya dengan ADSC-Exos, meningkatkan regulasi ekspresi β -catenin dan versikan dengan menargetkan SMAD3 in vivo dan in vitro.
5	Santos et al, 2020 ²⁷	<i>Topikal minoxidil-loaded nanotechnology strategies for alopecia</i>	Pemberian minoxidil 5% dengan ukuran nano secara topikal	Pemberian minoxidil dapat meningkatkan jumlah folikel rambut
6	Thompson G et al, 2019 ²⁸	<i>Examination of Fluconazole-Induced Alopecia in an Animal Model and Human Cohort</i>	Pemberian fluconazole dosis 35 mg/kg memberikan efek alopecia	Pemberian fluconazole harian di hari ke 7 meningkatkan fase telogen efluvium
7	Majewski M, et al, 2024 ²⁹	<i>The Role of Minoxidil in Treatment of Alopecia Areata: A Systematic Review and Meta Analysis</i>	Meta analisis dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya	Minoxidil, topical, oral, bermanfaat dalam monoterapi pada alopecia areata.

Kombinasi injeksi intradermal secretome mesenchymal stem cells (MSCS) dan minoxidil sebagai terapi sinergis untuk alopecia, yang belum pernah

dilaporkan dalam studi sebelumnya. Berbeda dari penelitian terdahulu yang lebih banyak menggunakan secretome MSCS dalam bentuk topikal atau berfokus pada eksosom tanpa kombinasi dengan agen farmakologis,^{18,19} serta studi minoxidil yang terbatas pada aplikasi topikal dan dilakukan secara studi meta analisis studi ini menghadirkan pendekatan yang mengintegrasikan efek regeneratif dan imunomodulator dari secretome MSCS dengan efek stimulasi pertumbuhan rambut dari minoxidil melalui rute injeksi langsung.²⁶⁻²⁹ Selain itu, keterbaruan lain penelitian ini adalah penggunaan parameter inflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ untuk mengevaluasi respons imun lokal, sehingga dapat memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai mekanisme kerja terapi kombinasi ini dalam menekan inflamasi dan mendukung regenerasi folikel rambut.

1.5. Manfaat penelitian

1.5.1. Manfaat Teoritis

- a. Penelitian ini dapat memperluas pemahaman tentang peran TNF- α dan IFN- γ dalam patogenesis alopecia serta kontribusi SH-MSCS dalam modulasi siklus rambut dan peradangan.
- b. Hasil penelitian ini memberikan bukti ilmiah baru mengenai potensi kombinasi injeksi intradermal SH-MSCS dan minoxidil topical sebagai agen terapeutik inovatif dalam bidang bioteknologi, khususnya dalam pengobatan berbasis sel punca.
- c. Temuan penelitian ini dapat menjadi dasar untuk mengembangkan terapi molekuler yang lebih efektif pada alopecia.

1.5.2. Manfaat Praktis

- a. Dapat menjadi terapi inovatif menggunakan bagi pasien alopecia yang memiliki efektivitas yang lebih tinggi dengan risiko efek samping yang lebih rendah.
- b. Dapat mendorong pengembangan produk farmasi atau kosmetik berbasis SH-MSCS untuk meningkatkan pertumbuhan rambut secara alami tanpa efek samping.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Alopecia Areata

2.1.1. Siklus Pertumbuhan Rambut

Siklus pertumbuhan rambut terdiri dari tiga fase utama: anagen (fase pertumbuhan), catagen (fase regresi), dan telogen (fase istirahat), yang dikendalikan oleh jalur molekuler kompleks yang melibatkan interaksi faktor pertumbuhan, sitokin, dan sinyal seluler.^{30,31}

1. Fase Anagen

- Fase ini ditandai oleh proliferasi aktif sel-sel matriks di folikel rambut. Jalur Wnt/ β -catenin memainkan peran kunci dalam memulai anagen melalui aktivasi sel-sel stem folikel rambut.^{30,31}
- Faktor pertumbuhan, seperti fibroblast *growth factor* (FGF) dan vascular endothelial *growth factor* (VEGF), mendorong angiogenesis dan mendukung lingkungan mikro yang mendukung pertumbuhan rambut.^{30,31}

2. Fase Catagen

- Jalur transformasi ini melibatkan regresi folikel rambut dengan apoptosis sel-sel matriks yang dipicu oleh faktor pro-apoptotik, seperti transforming *growth factor*-beta (TGF- β).^{30,31}
- Interaksi antara TGF- β dan faktor apoptosis seperti caspase memediasi regresi struktur folikel rambut.^{30,31}

3. Fase Telogen

- Folikel memasuki fase istirahat, ditandai oleh dormansi sel stem. Ekspresi rendah Wnt/ β -catenin dan dominasi sinyal *inhibitor*, seperti bone morphogenetic protein (BMP), menghambat proliferasi.^{30,31}

4. Transisi Antar Fase

- Transisi dari telogen ke anagen dipengaruhi oleh reaktivasi jalur Wnt/ β -catenin serta sinyal dari dermal papilla yang menginduksi proliferasi sel.^{30,31}
- Interaksi antara folikel rambut dan mikro lingkungan, termasuk sinyal dari makrofag dan fibroblas, juga memengaruhi transisi ini.^{30,31}

2.1.2. Pengertian Alopecia Areata

Alopecia areata adalah penyakit autoimun yang ditandai oleh kerontokan rambut non-jaringan parut, yang disebabkan oleh kerusakan folikel rambut akibat serangan sistem imun.³²⁻³⁵ Kondisi ini melibatkan gangguan imunologis yang menyebabkan hilangnya status imunoprivilegium folikel rambut. Akibatnya, folikel menjadi target serangan imun yang dimediasi oleh sel T sitotoksik dan sitokin inflamasi.³²⁻³⁵ Alopecia areata dapat memengaruhi berbagai area tubuh, mulai dari bercak kecil di kulit kepala hingga kehilangan rambut total,

seperti pada alopecia totalis atau universalis. Kerontokan pada AA bersifat reversibel, banyak penderita mengalami kekambuhan yang sulit diatasi.³²⁻

35

2.1.3. Prevalensi

Prevalensi alopecia areata di populasi umum diperkirakan mencapai 0,1%-0,2%, dengan insidensi seumur hidup sekitar 1,7%. Kondisi ini dapat muncul pada individu dari segala usia dan jenis kelamin dan puncaknya sering terjadi pada usia di bawah 40 tahun.⁸⁻¹⁰ Di antara anak-anak, prevalensi AA cukup tinggi, disertai dampak psikososial yang signifikan, termasuk kecemasan dan depresi. Studi menunjukkan bahwa sekitar 23% kasus AA terkait dengan stres psikologis, yang berperan sebagai faktor pemicu. Pada penderita AA, prevalensi gangguan psikologis mencapai 66%-74%, termasuk depresi (38%-39%) dan gangguan kecemasan umum (39%-62%). Hubungan erat antara gangguan psikologis dan progresi AA menunjukkan pentingnya pendekatan holistik dalam pengelolaan penyakit ini.⁸⁻¹⁰

2.1.4. Patofisiologi

Patofisiologi alopecia areata melibatkan mekanisme imunologis, inflamasi, dan gangguan jalur molekuler yang berperan dalam regenerasi folikel rambut. Salah satu mekanisme kunci adalah hilangnya imunoprivilegium folikel rambut, yang memungkinkan infiltrasi sel imun, terutama sel T CD8+ sitotoksik. Aktivasi sel T ini dimediasi oleh antigen

yang dihadirkan oleh sel-sel dendritik dan diperkuat oleh pelepasan sitokin inflamasi, seperti TNF- α (tumor necrosis factor- α) dan IFN- γ .^{11,12,14}

TNF- α memainkan peran sentral dalam proses inflamasi pada AA. Sitokin ini menginduksi hilangnya status imunoprivilegium folikel rambut dengan menurunkan ekspresi molekul pelindung seperti TGF- β dan α -melanocyte-stimulating hormone (α -MSH). Selain itu, TNF- α merangsang apoptosis sel-sel epitel folikel rambut melalui aktivasi jalur mitokondria yang melibatkan caspase-3. Proses ini menyebabkan transisi prematur folikel dari fase anagen ke fase telogen.^{11,12,14,32-35}

Sitokin IFN- γ juga memiliki peran penting dalam patogenesis AA. IFN- γ diregulasi oleh TNF- α dan berfungsi sebagai mediator inflamasi yang mengaktifkan sel makrofag quiescent menjadi makrofag tipe 1 yang bersifat proinflamasi sehingga semakin banyak mendorong produksi molekul inflamasi.¹² Selain itu IFN- γ juga diketahui dapat merangsang sel imun lokal untuk mengekspresikan berbagai macam kemokin yang mendorong kemotaksis monosit, makrofag, dan sel T ke area folikel rambut yang terinflamasi.³⁶ Akumulasi sel imun ini memperkuat respons inflamasi lokal, menciptakan lingkaran setan inflamasi yang semakin memperburuk kerusakan folikel rambut.^{11,12,14,32-35}

Interferon- γ dan IL-15 juga berkontribusi dalam patogenesis AA. IFN- γ meningkatkan ekspresi molekul kelas MHC-I pada folikel rambut, yang mempermudah pengenalan folikel oleh sel T sitotoksik. IL-15, yang diekspresikan oleh sel-sel epitel folikel, memperkuat aktivasi sel T CD8+

melalui interaksi dengan reseptor IL-15R. Kombinasi berbagai jalur molekuler ini menciptakan lingkungan yang sangat inflamasi dan tidak mendukung regenerasi rambut.^{3,37}

2.1.5. Model Penelitian Menggunakan Induksi Fluconazole

Fluconazole merupakan agen antijamur golongan azol yang bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim lanosterol 14 α -demethylase, bagian dari keluarga enzim sitokrom P450 (CYP450). Meski sasaran utamanya adalah mengganggu pembentukan ergosterol pada membran sel jamur, fluconazole juga dapat memengaruhi kinerja enzim CYP450 pada sel mamalia, sehingga berpotensi mengubah jalur metabolisme berbagai senyawa biologis penting, termasuk hormon steroid.³⁸

Salah satu akibat dari terhambatnya aktivitas CYP450 adalah terganggunya proses konversi kolesterol menjadi hormon steroid, salah satunya estrogen. Estrogen memiliki peran penting dalam mempertahankan siklus pertumbuhan rambut, terutama dalam menjaga fase anagen (fase aktif pertumbuhan) dan menunda peralihan ke fase katagen (fase kemunduran). Penurunan kadar estrogen karena gangguan metabolisme ini dapat memicu ketidakseimbangan siklus rambut yang berujung pada kerontokan.^{38,39}

Selain memengaruhi metabolisme hormon, hambatan jalur sterol juga dapat berdampak pada kestabilan struktur membran sel manusia, meski sel manusia sendiri tidak memproduksi ergosterol. Gangguan ini

dapat melemahkan integritas membran lipid, menyebabkan ketidakseimbangan osmotik, serta meningkatkan kepekaan sel terhadap rangsangan pro-apoptotik, termasuk pada sel folikel rambut. Kondisi tersebut menjadikan sel folikel lebih rentan mengalami apoptosis. Ketika folikel rambut mati, pertumbuhan rambut akan terhenti dan folikel akan beralih ke fase dorman (telogen) yang ditandai dengan kerontokan difus. Jalur ini memperlihatkan kaitan antara paparan fluconazole, penurunan aktivitas CYP450, gangguan produksi hormon, hingga munculnya alopecia.^{38,39}

Di sisi lain, fluconazole juga memengaruhi fungsi mitokondria dengan menghambat kompleks I dan III pada rantai transpor elektron. Hambatan tersebut menurunkan efisiensi fosforilasi oksidatif, mengurangi produksi ATP, sekaligus meningkatkan kebocoran elektron yang memicu akumulasi Reactive Oxygen Species (ROS) berlebih.^{40,41} Peningkatan ROS memicu stres oksidatif yang merusak struktur lipid, protein, dan DNA sel. Pada jaringan kulit kepala, sel-sel dengan ketergantungan tinggi pada energi mitokondria — seperti sel endotel kapiler dan sel folikel rambut — sangat rentan terhadap kerusakan akibat ROS. Penumpukan ROS yang tidak terkendali akan memperburuk disfungsi mitokondria dan memicu apoptosis melalui jalur intrinsik.⁴¹

Dampak awal stres oksidatif berat ini tampak pada apoptosis sel endotel, khususnya di pembuluh darah mikro di dermis yang mendukung folikel rambut.^{42,43} Kerusakan sel endotel menurunkan pasokan oksigen

dan nutrisi, menimbulkan kondisi hipoksia lokal yang semakin membebani folikel rambut. Hipoksia kronis menjadi salah satu pemicu utama aktivasi jalur apoptosis di dalam sel folikel. Dalam situasi hipoksia, ekspresi HIF-1 α meningkat, memicu program kematian sel karena lingkungan mikro yang tidak lagi mendukung kelangsungan hidup folikel.^{44,45} Akibatnya, siklus pertumbuhan rambut terhenti dan bergeser ke fase rontok (telogen), menghasilkan manifestasi klinis berupa alopecia yang dipicu jalur mitokondria-hipoksia.^{44,45}

Fluconazole juga berkontribusi pada terjadinya kerontokan rambut melalui beberapa jalur patofisiologis lain, seperti disfungsi vaskular, peningkatan apoptosis, dan aktivasi respon imun.^{44,45} Obat ini dapat meningkatkan ROS yang bersifat toksik bagi sel endotel di area dermal papilla, memicu apoptosis terus-menerus, mengganggu aliran darah, serta mempercepat degenerasi sel dermal papilla yang berujung pada kerontokan rambut. Sel yang mengalami apoptosis akan melepaskan DAMP (damage-associated molecular patterns) yang memicu aktivasi jalur transkripsi NF- κ B, sehingga merangsang pelepasan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IFN- γ . Kedua mediator ini mendorong polarisasi makrofag ke tipe 1 (proinflamasi) yang memperparah peradangan akibat paparan fluconazole.²⁸

2.2. TNF α

2.2.1. Definisi

Tumor Necrosis Factor- α adalah sitokin pro-inflamasi yang memiliki peran sentral dalam pengaturan respons imun dan inflamasi dalam tubuh. TNF- α diproduksi oleh berbagai jenis sel, termasuk makrofag, sel T, dan sel adiposit, dan terlibat dalam sejumlah proses biologis, seperti pengaturan pertumbuhan sel, diferensiasi, dan kematian sel. Pada *Alopecia-like*, TNF- α memainkan peran yang signifikan dalam modulasi siklus pertumbuhan rambut. *Alopecia-like* adalah jenis kerontokan rambut yang sering terjadi akibat pengaruh hormon androgen, yang menyebabkan penyusutan folikel rambut dan penurunan siklus pertumbuhan rambut.⁴⁶⁻⁴⁸

2.2.2. Struktur dan Aktivitas TNF- α

Struktur protein TNF- α terdiri dari beberapa domain yang memungkinkan protein ini berfungsi sebagai sitokin utama dalam mengatur respons inflamasi. TNF- α dihasilkan oleh berbagai jenis sel, seperti makrofag, sel T, dan sel adiposit, dan berinteraksi dengan reseptor TNF (TNFR1 dan TNFR2) yang terletak pada permukaan sel target. Aktivasi reseptor TNF- α memicu serangkaian reaksi biokimia dalam sel, termasuk aktivasi jalur NF- κ B, MAPK, dan caspase, yang berperan dalam regulasi proses inflamasi, proliferasi sel, dan apoptosis.^{49,50} Aktivasi jalur NF- κ B adalah salah satu jalur utama yang

berperan dalam mengatur respons inflamasi yang terjadi pada berbagai kondisi, termasuk *Alopecia-like*.⁵¹

Pada *Alopecia-like*, kadar TNF- α yang tinggi dapat memperburuk kerusakan folikel rambut melalui inflamasi kronis dan stres oksidatif. Peningkatan TNF- α dalam kulit kepala dapat mengaktivasi jalur NF- κ B yang mengarah pada peningkatan produksi sitokin inflamasi lainnya dan mengganggu siklus pertumbuhan rambut. TNF- α juga dapat memodulasi proses apoptosis pada sel-sel folikel rambut, menyebabkan folikel rambut memasuki fase telogen (fase istirahat) lebih cepat dan menghambat regenerasi rambut. Selain itu, TNF- α berinteraksi dengan jalur sinyal yang mengatur faktor pertumbuhan dan proliferasi sel dalam folikel rambut, yang dapat berkontribusi pada penurunan regenerasi dan pertumbuhan rambut.^{12,51-53}

2.2.3. Peran TNF- α dalam Regulasi Inflamasi dan Respons Imun pada *Alopecia-like*

Gen TNF- α memainkan peran penting dalam berbagai proses inflamasi dan regulasi respons imun, yang berhubungan erat dengan perkembangan *Alopecia-like*. *Alopecia-like* adalah kondisi yang ditandai dengan kerontokan rambut progresif yang dipengaruhi oleh faktor hormonal, genetika, dan inflamasi. Gen TNF- α , sebagai sitokin pro-inflamasi utama, terlibat dalam pengaturan proses inflamasi yang terjadi pada kulit kepala dan folikel rambut. Aktivasi jalur sinyal TNF- α melalui reseptor TNFR1 dan TNFR2 memicu reaksi biokimia yang

memperburuk inflamasi lokal, mengganggu siklus pertumbuhan rambut, dan meningkatkan kerontokan rambut. Penurunan kadar TNF- α dapat mengurangi inflamasi dan merangsang fase pertumbuhan rambut, yang menunjukkan bahwa TNF- α berperan dalam patogenesis *Alopecia-like*.^{2,54}

Selain perannya dalam regulasi inflamasi, TNF- α juga berperan dalam respons seluler terhadap stres oksidatif, yang sering terjadi pada individu dengan *Alopecia-like*.³²⁻³⁵ Peningkatan kadar TNF- α dapat menginduksi produksi radikal bebas dan memperburuk kerusakan oksidatif pada folikel rambut. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa TNF- α dapat memodulasi jalur inflamasi dan meningkatkan apoptosis pada sel-sel folikel rambut, yang menyebabkan penurunan regenerasi rambut. Dengan demikian, TNF- α menjadi target potensial dalam terapi *Alopecia-like*, di mana penghambatan aktivitas TNF- α dapat mengurangi efek inflamasi dan meningkatkan pertumbuhan rambut. Terapi yang mengatur kadar TNF- α , baik dengan menggunakan obat anti-TNF- α atau pendekatan lainnya, dapat memberikan manfaat signifikan dalam mengatasi gangguan pertumbuhan rambut pada *Alopecia-like* dan memperbaiki kondisi kulit kepala.³²⁻³⁵

2.2.4. Ekspresi TNF- α pada Folikel Rambut

Ekspresi TNF- α pada folikel rambut memainkan peran penting dalam regulasi inflamasi yang berkontribusi pada perkembangan *Alopecia-like*. Peningkatan kadar TNF- α dalam kulit kepala dapat

memicu inflamasi kronis yang mengganggu siklus pertumbuhan rambut, terutama dengan mempercepat transisi dari fase anagen (pertumbuhan) ke fase telogen (istirahat), yang menyebabkan kerontokan rambut. TNF- α berinteraksi dengan reseptor TNFR1 dan TNFR2 pada sel-sel folikel rambut, memicu aktivasi jalur sinyal inflamasi seperti NF- κ B dan MAPK, yang pada gilirannya merangsang produksi sitokin pro-inflamasi lainnya serta stres oksidatif lokal.³²⁻³⁵

Stres oksidatif yang dihasilkan oleh TNF- α dapat merusak sel folikel rambut, menghambat proliferasi sel progenitor rambut, dan mempercepat apoptosis, yang secara langsung mengurangi kemampuan folikel rambut untuk tumbuh dan berkembang dengan baik. Penurunan regenerasi rambut ini memperburuk kondisi *Alopecia-like*, dengan folikel rambut yang menjadi lebih rentan terhadap kerusakan.³²⁻³⁵

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa penghambatan TNF- α dapat memperlambat proses inflamasi dan mengurangi kerontokan rambut pada individu dengan *Alopecia-like*. Terapi dengan agen anti-TNF- α telah terbukti meningkatkan fase anagen folikel rambut dan memperbaiki pertumbuhan rambut pada model tikus, yang menegaskan potensi terapeutik dari pendekatan ini untuk mengatasi gangguan pertumbuhan rambut yang disebabkan oleh inflamasi. Dengan demikian, ekspresi TNF- α dalam folikel rambut berperan kunci dalam patogenesis *Alopecia-like*, dan pengaturannya dapat memberikan

manfaat dalam mengurangi kerontokan rambut dan merangsang regenerasi rambut yang sehat.³²⁻³⁵

2.3. Interferon- γ

2.3.1. Definisi

Interferon- γ adalah sebuah sitokin proinflamasi utama yang termasuk dalam kelompok interferon tipe II, yang terutama diproduksi oleh sel T (terutama Th1 dan CTL) dan sel NK sebagai respons terhadap antigen atau stimulasi imun.^{55,56} IFN- γ memiliki peran sentral dalam pengaturan respons imun seluler, dengan memediasi aktivasi makrofag, peningkatan ekspresi MHC kelas I dan II, serta peningkatan kapasitas penyajian antigen oleh sel penyaji antigen. Sitokin ini bekerja dengan cara berikatan dengan kompleks reseptor IFNGR1/IFNGR2 di permukaan sel target, yang kemudian mengaktifasi jalur transduksi sinyal JAK1/JAK2-STAT1. Aktivasi jalur ini menyebabkan fosforilasi dan dimerisasi STAT1, yang kemudian berpindah ke inti sel dan menginduksi ekspresi gen-gen respons imun, termasuk kemokin, enzim proinflamasi, dan molekul ko-stimulatorik.^{55,56} Selain memperkuat imunitas terhadap patogen, IFN- γ juga berperan dalam patogenesis berbagai penyakit autoimun melalui amplifikasi peradangan dan peningkatan reaktivitas sistem imun terhadap antigen diri. Karena kemampuannya dalam mengatur aktivasi imun secara luas, IFN- γ memainkan peran penting dalam keseimbangan antara proteksi imun dan kerusakan jaringan.^{55,56}

2.3.2. Jalur Aktivasi dan Peran IFN- γ pada *Alopecia-like*

Jalur pensinyalan interferon-gamma (IFN- γ) memainkan peran kunci dalam patogenesis alopecia areata dengan mendorong aktivasi respons imun yang menargetkan folikel rambut.¹ IFN- γ dilepaskan terutama oleh sel T CD4⁺ Th1, CD8⁺ sitotoksik, dan sel natural killer sebagai bagian dari respons imun terhadap apa yang dianggap sebagai antigen asing—termasuk antigen folikel rambut pada kondisi autoimun seperti AA.³⁷ Setelah IFN- γ berikatan dengan kompleks reseptornya, yaitu IFNGR1 dan IFNGR2, di permukaan sel folikel rambut dan sel imun lainnya, aktivasi reseptor ini memicu rangkaian pensinyalan intraseluler yang dimediasi oleh protein tirosin kinase JAK1 dan JAK2. Kedua kinase ini memfosforilasi domain reseptor dan merekrut STAT1 (Signal Transducer and Activator of Transcription 1), yang kemudian mengalami fosforilasi, membentuk dimer, dan berpindah ke inti sel.^{55,56}

Di dalam inti, STAT1 menginduksi transkripsi sejumlah gen proinflamasi yang memperkuat respons imun, termasuk peningkatan ekspresi MHC kelas I dan II, serta kemokin seperti CXCL9, CXCL10, dan CXCL11.^{55,56} Kemokin-chemokin ini memfasilitasi rekrutmen lebih lanjut dari sel T efektor ke lokasi folikel rambut, menciptakan lingkaran umpan balik peradangan yang memperkuat kerusakan autoimun.^{37,55,56} Ekspresi berlebihan MHC pada sel-sel folikel rambut, yang normalnya bersifat imunoprivilej, menyebabkan pengenalan dan serangan oleh sistem imun, terutama oleh sel T CD8⁺ yang sitotoksik. Aktivasi jalur

IFN- γ /JAK/STAT ini tidak hanya menyebabkan kerontokan rambut, tetapi juga mempertahankan status inflamasi kronik pada area folikel, sehingga menghambat proses regenerasi rambut secara alami.^{37,55,56}

Dengan demikian, jalur pensinyalan IFN- γ berperan sebagai penggerak utama hilangnya imunoprivilej folikel rambut, memperkuat infiltrasi limfosit di sekitar folikel, dan mempertahankan lingkungan proinflamasi yang merusak. Oleh karena itu, jalur ini menjadi target potensial dalam pengembangan terapi imunomodulator untuk alopecia areata, seperti penggunaan *inhibitor* JAK yang bertujuan memutus siklus peradangan yang dipicu oleh IFN- γ .^{37,55,56}

2.4. Hubungan Antara TNF- α dan IFN- γ pada Alopecia

TNF- α dan IFN- γ memiliki hubungan sinergis yang signifikan dalam patogenesis alopecia areata.^{1,3,37} Keduanya merupakan sitokin proinflamasi utama yang dihasilkan oleh sel T efektor serta sel-sel imun lain seperti makrofag dan sel NK. IFN- γ berperan dalam merusak status imunoprivilej folikel rambut melalui aktivasi jalur JAK/STAT1, yang meningkatkan ekspresi MHC kelas I dan II serta kemokin seperti CXCL9/10, sehingga menarik lebih banyak sel T ke sekitar folikel.^{1,3,37} Di sisi lain, TNF- α memperkuat respons inflamasi melalui aktivasi jalur NF- κ B, yang mendorong ekspresi molekul adhesi dan sitokin proinflamasi lainnya.⁵⁷ Produksi kedua sitokin yang terjadi secara berkelanjutan di sekitar folikel rambut, memperparah infiltrasi limfosit dan kerusakan folikel, serta menghambat proses regenerasi rambut.^{1,3}

2.5. *Mesenchymal Stem Cells (MSCS)*

2.5.1. Definisi Stem Cell

Stem cell, atau sel punca, adalah sel-sel unik dalam tubuh yang memiliki kemampuan untuk memperbarui diri (*self-renewal*) dan berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel khusus yang fungsional. Stem cell dapat diklasifikasikan berdasarkan potensinya, yaitu kemampuan mereka untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel dalam tubuh. Berikut adalah jenis-jenis stem cell berdasarkan potensinya:^{58,59}

1. Totipoten (*Totipotent Stem Cells*)

Totipoten adalah stem cell dengan potensi tertinggi, mampu berdiferensiasi menjadi semua jenis sel dalam tubuh dan jaringan ekstraembrionik seperti plasenta. Contohnya adalah zigot (sel telur yang telah dibuahi) dan sel-sel awal embrio hingga tahap blastomer (beberapa pembelahan awal). Sel ini dapat membentuk organisme utuh.

2. Pluripoten (*Pluripotent Stem Cells*)

Stem cell pluripoten memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi hampir semua jenis sel dalam tubuh, kecuali jaringan ekstraembrionik. Contohnya adalah embryonic stem cells (ESCs) yang berasal dari massa sel dalam (inner cell mass) blastokista. Stem cell ini digunakan dalam penelitian untuk terapi regeneratif karena fleksibilitasnya.

3. Multipoten (*Multipotent Stem Cells*)

Stem cell multipoten mampu berdiferensiasi menjadi sel-sel dalam satu jenis atau kelompok jaringan tertentu. Misalnya, hematopoietic stem cells (HSCs) yang ditemukan di sumsum tulang dapat membentuk berbagai jenis sel darah (eritrosit, leukosit, trombosit). Contoh lainnya adalah mesenchymal stem cells (MSCS), yang dapat berdiferensiasi menjadi sel tulang, lemak, dan tulang rawan.

4. Oligopoten (*Oligopotent Stem Cells*)

Stem cell oligopoten memiliki kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi beberapa jenis sel dalam satu jaringan tertentu. Contohnya adalah sel progenitor limfoid yang hanya dapat membentuk sel-sel dalam sistem kekebalan tubuh seperti limfosit T dan B.

5. Unipoten (*Unipotent Stem Cells*)

Unipoten adalah stem cell dengan potensi terbatas, hanya dapat berdiferensiasi menjadi satu jenis sel tertentu. Misalnya, sel otot satelit yang hanya dapat membentuk sel otot baru.

2.5.2. Karakteristik Stem Cell menurut ISCT

Menurut *International Society for Cell Therapy* (ISCT), mesenchymal stem cells (MSCS) memiliki tiga karakteristik utama yang harus dipenuhi untuk dapat diklasifikasikan sebagai MSCS. Kriteria ini pertama kali

diusulkan pada tahun 2006 dan menjadi standar internasional. Berikut adalah karakteristik tersebut:⁶⁰

1. Kemampuan Adherensi pada Permukaan Plastik

- MSCS harus dapat menempel pada permukaan plastik ketika dibiakkan dalam kondisi kultur yang sesuai. Hal ini mencerminkan sifat MSCS sebagai sel yang berasal dari jaringan mesenkim.
- Kultur MSCS biasanya dilakukan dalam medium tertentu yang mendukung pertumbuhan sel ini, seperti medium yang diperkaya dengan serum.

2. Ekspresi Penanda Permukaan Tertentu

- MSCS harus menunjukkan profil ekspresi penanda permukaan spesifik, yang ditentukan melalui analisis imunofenotip. Kriteria ini mencakup:
 - **Positif** untuk penanda:
 - **CD73**: Enzim ecto-5'-nucleotidase.
 - **CD90**: Thy-1 glycoprotein.
 - **CD105**: Endoglin, reseptor untuk transforming *growth factor*-beta (TGF- β).
 - **Negatif** untuk penanda hematopoietik dan endotelial berikut:
 - **CD34, CD45** (penanda sel darah putih).
 - **CD14** atau **CD11b** (monosit/makrofag).

- **CD79 α** atau **CD19** (limfosit B).
- **HLA-DR** (antigen kelas II MHC, kecuali dalam kondisi stimulasi).

3. Potensi Diferensiasi Multipoten

- MSCS harus mampu berdiferensiasi menjadi tiga jenis sel utama jaringan mesenkim ketika diberi rangsangan tertentu dalam kultur:
 - **Adiposit (sel lemak):** Dengan indikator akumulasi lipid, seperti pewarnaan Oil Red O.
 - **Osteoblas (sel tulang):** Dengan pembentukan mineral kalsium, ditunjukkan oleh pewarnaan Alizarin Red atau von Kossa.
 - **Kondroblas (sel tulang rawan):** Dengan produksi matriks proteoglikan, ditunjukkan oleh pewarnaan Alcian Blue atau Safranin O.

2.5.3. Definisi Mesenchymal stem cells (MSCS)

Mesenchymal stem cells adalah sel punca multipoten yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel, termasuk sel tulang, tulang rawan, dan lemak.^{58,59} MSCS sering digunakan dalam terapi regeneratif karena kemampuan mereka untuk memperbaiki dan menggantikan jaringan yang rusak.^{58,59} MSCS dapat diperoleh dari berbagai sumber jaringan, seperti sumsum tulang, jaringan lemak, tali pusat, pulpa gigi, plasenta, dan cairan amnion, yang masing-masing memiliki kelebihan dan potensi untuk aplikasi klinis.^{58,59}

2.5.4. Sumber dan Karakteristik *Mesenchymal Stem Cells*

Mesenchymal stem cell adalah sel punca multipoten yang berasal dari jaringan mesenkimal seperti sumsum tulang, jaringan adiposa, dan tali pusat. MSCS memiliki kemampuan untuk berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel seperti osteoblas, kondrosit, dan adiposit serta kemampuan *self renewal*, mampu berdiferensiasi menjadi beberapa sel dewasa seperti, seperti osteoblas, adiposit, kondrosit, tenosit, dan miosit.^{58,59}

Selain kemampuan diferensiasi dan *self renewal* ini, MSCS memiliki karakteristik mensekresikan sekretom, yaitu kumpulan molekul bioaktif yang terdiri dari protein, sitokin, faktor pertumbuhan, lipid, dan vesikel ekstraseluler. Sekretome ini memainkan peran penting dalam berbagai proses biologis, termasuk regenerasi jaringan, imunomodulasi, anti-inflamasi, dan perlindungan sel dari apoptosis.^{58,59}

Molekul-molekul yang terkandung dalam sekretome MSCS bekerja melalui mekanisme parakrin untuk memediasi komunikasi sel-sel di sekitarnya. Proses ini memungkinkan MSCS untuk mendukung perbaikan jaringan tanpa harus berintegrasi langsung dengan jaringan yang rusak. Keunggulan ini menjadikan sekretome MSCS sebagai alternatif yang menjanjikan dalam terapi regeneratif dan perawatan berbagai kondisi inflamasi.⁶¹⁻⁶³

Metode untuk mendapatkan sekretom MSCS dengan kandungan yang lebih tinggi dapat dilakukan dengan cara dikultur dalam kondisi

hipoksia, yang meniru lingkungan alami mereka di dalam tubuh. Kondisi hipoksia ini merangsang MSCS untuk menghasilkan dan melepaskan berbagai faktor pertumbuhan, sitokin, dan vesikel ekstraseluler yang penting untuk fungsi regeneratif dan imunomodulasi mereka. Medium terkondisi, yang mengandung sekretom ini, kemudian dikumpulkan untuk digunakan dalam berbagai aplikasi terapeutik.⁶⁴



Gambar 2. 1.Sumber dan Kemampuan Diferensiasi Mesenchymal Stem Cells⁶⁵

2.6. Sekretom Hipoksia - Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS)

2.6.1. Definisi

Secretome Hipoksia-Mesenchymal Stem Cell (SH-MSCS) merupakan sekumpulan molekul bioaktif yang disekresikan oleh Mesenchymal Stem Cells (MSCS) yang telah mengalami kondisi hipoksia atau kekurangan oksigen. Ketika MSCS dihadapkan pada lingkungan hipoksia, MSCS merespons dengan mengubah profil sekresi

mereka, menghasilkan sekretom yang lebih tinggi akan *growth factor*, sitokin, kemokin, serta vesikel ekstraseluler seperti exosomes. Kondisi hipoksia ini sering kali meniru situasi patologis dalam tubuh, di mana jaringan mengalami kekurangan oksigen akibat sirkulasi yang buruk.^{66–69}

69

Sekretom yang dihasilkan oleh MSCS dalam kondisi hipoksia memiliki potensi terapeutik yang signifikan dalam regenerasi jaringan rambut, modulasi respons inflamasi termasuk pada alopecia, dan perbaikan lingkungan mikro folikel rambut yang rusak. Peningkatan *growth factor* dan sitokin dalam SH-MSCS dapat merangsang aktivitas sel-sel rambut dan memperbaiki kerusakan pada folikel rambut, yang berpotensi untuk memperbaiki siklus pertumbuhan rambut dan memperlambat kerontokan rambut pada individu dengan *Alopecia-like*.^{66–69}

2.6.2. Kandungan Secretome Hipoksia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS)

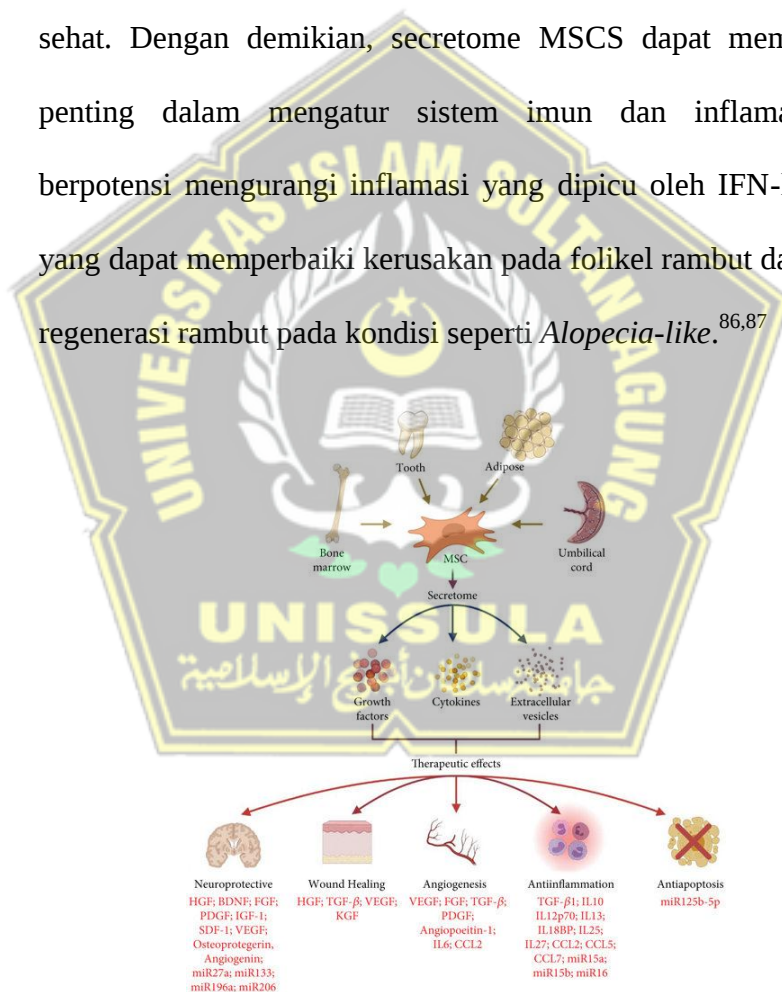
Secretome hipoksia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCS) adalah cairan yang mengandung molekul bioaktif yang disekresikan oleh MSCS selama proses kultur. Secretome ini terbukti memiliki kandungan protein dan miRNA yang berperan penting dalam efek imunomodulator dan anti-inflamasi. Kandungan ini membuat secretome MSCS relevan dalam pengelolaan berbagai kondisi inflamasi, termasuk dalam regulasi inflamasi yang melibatkan IFN- γ dan TNF- α .^{66–69}

Secretome MSCS mengandung berbagai protein yang secara langsung atau tidak langsung dapat mengurangi inflamasi. Salah satunya adalah sitokin anti-inflamasi seperti TGF- β , yang dapat menghambat aktivasi sel T efektor dan mendukung perkembangan sel T regulator (Treg), yang pada gilirannya menekan inflamasi. Proses inflamasi yang dimediasi oleh TNF- α dapat ditekan dengan peningkatan TGF- β dalam secretome MSCS.⁷⁰⁻⁷² Selain itu, IL-10 yang juga terdapat dalam secretome MSCS berperan dalam menghambat produksi sitokin proinflamasi, termasuk TNF- α dan IL-6.⁷³⁻⁷⁶ Prostaglandin E2 (PGE2) dalam secretome MSCS juga dapat mengubah makrofag proinflamasi (M1) menjadi makrofag anti-inflamasi (M2), yang mendukung resolusi inflamasi, dan mengurangi ekspresi IFN- Γ , yang berfungsi sebagai kemokin pemicu perekrutan sel imun ke lokasi inflamasi.⁷⁷⁻⁷⁹

Selain itu, secretome MSCS juga mengandung mikroRNA (miRNA), molekul kecil non-koding RNA yang memainkan peran penting dalam regulasi gen terkait inflamasi. miRNA seperti miR-21 dapat menekan jalur NF- κ B yang menjadi pemicu respons inflamasi, termasuk pengurangan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β .⁸⁰⁻⁸² miRNA lain, seperti miR-146a, menargetkan molekul dalam jalur inflamasi seperti TRAF6 dan IRAK1 untuk menekan produksi sitokin inflamasi dan mengatur makrofag agar beralih ke fenotip anti-inflamasi.⁸³⁻⁸⁵ Penurunan ekspresi IFN- Γ dan TNF- α melalui regulasi

miRNA ini dapat berkontribusi pada pengurangan inflamasi kronis yang terlibat dalam berbagai kondisi, termasuk *Alopecia-like*.

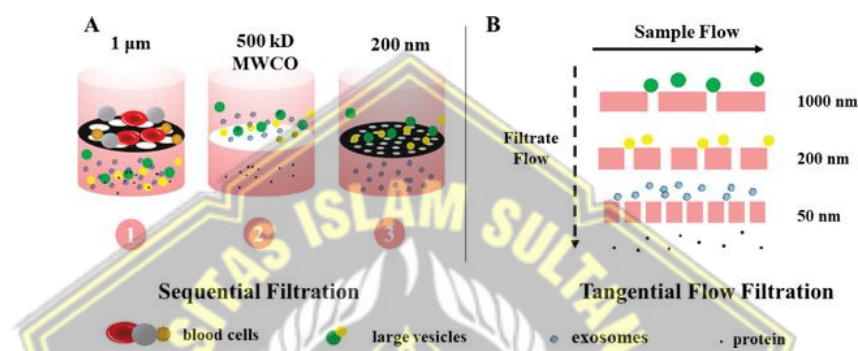
MiR-126 juga ditemukan dalam secretome MSCs dan berperan dalam pemulihan inflamasi dengan mengatur jalur VEGF dan PI3K/AKT yang mendukung angiogenesis, serta meningkatkan sirkulasi darah di folikel rambut, mendukung pertumbuhan rambut yang lebih sehat. Dengan demikian, secretome MSCs dapat memainkan peran penting dalam mengatur sistem imun dan inflamasi, termasuk berpotensi mengurangi inflamasi yang dipicu oleh IFN- γ dan TNF- α , yang dapat memperbaiki kerusakan pada folikel rambut dan mendukung regenerasi rambut pada kondisi seperti *Alopecia-like*.^{86,87}



Gambar 2. 2. Secretom Mesenchymal Stem Cells⁸⁸

Konsentrasi sekretom ini biasanya didapatkan melalui metode pemisahan molekul seperti ultrafiltrasi atau sentrifugasi untuk

meningkatkan kemurnian dan potensi terapeutiknya. Dengan kemampuan untuk meningkatkan proses penyembuhan, sekretom MSCS diinduksi hipoksia menjadi fokus penelitian yang berkembang dalam bidang kedokteran regeneratif.^{89–91}



Gambar 2. 3. Metode Purifikasi Sekretome MSCS Menggunakan TFF⁹²

2.6.3. Peran SH-MSCS pada $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{IFN-}\gamma$

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell dikenal luas karena kapasitas imunomodulatornya yang kuat, terutama dalam menekan respon inflamasi yang berlebihan melalui interaksi dengan berbagai sel imun dan sekresi molekul bioaktif. Salah satu peran penting SH-MSCS adalah menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{IFN-}\gamma$, dua mediator utama dalam patogenesis penyakit autoimun dan peradangan kronis, termasuk alopecia areata.^{93–95} Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell mengandung berbagai protein, eksosom, mikroRNA, dan faktor pertumbuhan. MSCS dilaporkan dapat mengintervensi jalur pensinyalan utama seperti nuclear factor kappa-

light-chain-enhancer of activated B cells (NF- κ B) dan Janus kinase/signal transducer and activator of transcription, (JAK/STAT) yang merupakan sumbu utama aktivasi transkripsi sitokin proinflamasi.⁹⁶

Secara spesifik, MSCS mampu menekan aktivasi jalur NF- κ B, yang biasanya teraktivasi oleh keberadaan TNF- α dan IL-1 β .⁹⁶ TNF- α bekerja melalui reseptor TNFR1 dan TNFR2, yang kemudian mengaktivasi kompleks IKK (I κ B kinase), menyebabkan degradasi *inhibitor* I κ B α dan translokasi NF- κ B p65 ke inti sel untuk menginduksi ekspresi gen proinflamasi.⁴⁷ MSCS, melalui sekresi prostaglandin E2 (PGE2), TNF-stimulated gene/protein 6 (TSG-6), dan interleukin-10 (IL-10), menghambat aktivasi kompleks IKK, sehingga menghambat transduksi sinyal NF- κ B.⁹⁶ Selain itu, TSG-6 juga menstabilkan matriks ekstraseluler dan menekan rekrutmen leukosit ke area inflamasi.⁹⁷ Penurunan aktivasi NF- κ B ini secara langsung mengurangi produksi TNF- α oleh makrofag dan sel T efektor, serta menghambat umpan balik proinflamasi yang memperparah kerusakan jaringan, termasuk pada unit folikel rambut.

Sitokin IFN- γ umumnya diproduksi oleh sel T helper 1 (Th1), sel NK, dan sitotoksik T (CD8+), dan merupakan mediator penting dalam respons imun seluler.⁹⁸ Protein ini berikatan dengan reseptor IFNGR1/2, mengaktivasi jalur JAK1/JAK2, yang kemudian memfosforilasi STAT1.⁹⁹ STAT1 yang teraktivasi akan berhomodimerisasi dan

berpindah ke inti sel untuk menginduksi ekspresi berbagai gen inflamasi dan imunostimulan seperti CXCL9/10 dan MHC kelas I dan II.⁹⁹ MSCS secara aktif menekan ekspresi IFN- γ dan mengganggu aktivasi jalur ini melalui beberapa cara. Pertama, MSCS mengeluarkan indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), yang mengkonsumsi triptofan dan menghasilkan metabolit kynurenin, yang bersifat imunoregatif dan dapat menghambat proliferasi serta aktivitas sel T penghasil IFN- γ . Kedua, MSCS juga menurunkan fosforilasi STAT1 dan ekspresi downstream-nya melalui pelepasan nitric oxide (NO) dan IL-10, yang bekerja sebagai *inhibitor* negatif jalur JAK/STAT.¹⁰⁰

Efek SH-MSCS terhadap TNF- α dan IFN- γ juga berpengaruh terhadap diferensiasi dan keseimbangan subpopulasi sel T. MSCS menekan sel T efektor (Th1 dan Th17), yang merupakan produsen utama IFN- γ dan TNF- α , dan secara bersamaan meningkatkan ekspansi sel T regulator (Treg) yang menghasilkan IL-10 dan TGF- β .¹⁰¹ Ini dimediasi oleh molekul seperti HLA-G5, galectin-1, dan hepatocyte growth factor (HGF) yang disekresikan MSCS. Selain itu, MSCS juga dapat berinteraksi dengan sel dendritik dan menghambat maturasi serta kapasitas penyajian antigen mereka, yang secara tidak langsung menurunkan aktivasi sel T dan produksi IFN- γ . Jalur PI3K/Akt juga terlibat dalam mediasi efek MSCS terhadap makrofag, menggeser fenotipe dari proinflamasi M1 (penghasil TNF- α dan IFN- γ) menjadi

antiinflamasi M2 (penghasil IL-10 dan arginase-1), yang memperkuat efek antiinflamasi.¹⁰¹

2.7. Minoxidil Topikal

2.7.1. Definisi

Minoxidil topikal adalah obat yang diterapkan langsung ke kulit untuk mengobati kerontokan rambut, terutama pada kondisi *Alopecia-like*.¹⁰² Minoxidil bekerja dengan cara memperluas pembuluh darah di kulit kepala, yang meningkatkan aliran darah ke folikel rambut dan memungkinkan lebih banyak oksigen dan nutrisi mencapai akar rambut.^{103–105} Hal ini dipercaya dapat merangsang pertumbuhan rambut dengan memperpanjang fase anagen dan memperlambat fase telogen. Penelitian menunjukkan bahwa penggunaan minoxidil topikal dapat meningkatkan jumlah folikel rambut yang aktif, memperbesar folikel yang mengecil, dan mendorong pertumbuhan rambut yang lebih tebal dan sehat. Selain itu, minoxidil juga diyakini memiliki efek antiinflamasi yang membantu mengurangi inflamasi pada kulit kepala yang dapat menghambat pertumbuhan rambut.^{103–105}

2.7.2. Peran Minoxidil Topikal dalam *Alopecia-like*

Alopecia-like merupakan penyakit yang disebabkan oleh peningkatan kadar fluconazole yang mengarah pada miniaturisasi folikel rambut dan penurunan fase anagen dalam siklus pertumbuhan rambut. Minoxidil topikal telah terbukti efektif dalam mengatasi kondisi

ini dengan meningkatkan aliran darah ke kulit kepala, yang memungkinkan pengiriman oksigen dan nutrisi yang lebih optimal ke folikel rambut.^{103–105}

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa minoxidil dapat memperpanjang fase anagen, mempercepat regenerasi rambut, serta mengurangi fase telogen yang berkontribusi pada kerontokan rambut. Mekanisme aksi minoxidil melibatkan pembukaan saluran kalium pada sel-sel endotel vaskular, yang memperlebar pembuluh darah dan meningkatkan mikrosirkulasi darah di kulit kepala. Peningkatan aliran darah ini mendukung proliferasi sel papila dermal, sel matrix, dan sel-sel folikel rambut lainnya yang berperan dalam siklus pertumbuhan rambut. Selain itu, minoxidil juga memiliki efek antiinflamasi dengan mengurangi sekresi sitokin proinflamasi, yang dapat menurunkan inflamasi pada kulit kepala dan memperbaiki kondisi mikroenvironment folikel rambut. Studi klinis dan eksperimen menunjukkan bahwa minoxidil topikal mampu meningkatkan ketebalan rambut, mengurangi kerontokan, serta merangsang pertumbuhan rambut baru yang lebih sehat pada individu dengan *Alopecia-like*.^{103–105}

2.8. Hubungan antara SH-MSCS dan Minoxidil Topikal terhadap ekspresi IFN- γ dan TNF-A

Kombinasi SH-MSCS dan minoxidil topikal berpotensi untuk secara signifikan memodulasi ekspresi sitokin proinflamasi, khususnya IFN- γ dan TNF-A, yang memainkan peran sentral dalam patogenesis *Alopecia-like*.

Protein IFN- γ dan gen TNF-A merupakan mediator utama dalam jalur inflamasi yang dapat memperburuk kondisi mikroenviroment folikel rambut, yang pada akhirnya menghambat proliferasi sel-sel folikel rambut dan memperlambat transisi folikel dari fase telogen ke anagen. Peningkatan ekspresi IFN- γ dan TNF-A mengarah pada aktivasi makrofag proinflamasi dan sekresi sitokin inflamasi yang berlebihan, menyebabkan gangguan homeostasis folikel rambut dan mendorong kerusakan jaringan yang mendasarinya.^{103–108}

Secretome dari SH-MSCS mengandung sejumlah faktor bioaktif, termasuk sitokin antiinflamasi seperti IL-10, IDO, TGF- β , serta faktor pertumbuhan yang dapat secara langsung menurunkan produksi IFN- γ dan TNF-A. Penurunan ekspresi sitokin proinflamasi ini dapat mengurangi infiltrasi sel-sel imun proinflamasi ke dalam kulit kepala dan memperbaiki kerusakan jaringan folikel rambut. Di samping itu, SH-MSCS berperan dalam mengurangi stres oksidatif melalui pelepasan vesikel ekstraseluler dan faktor-faktor yang memodulasi jalur fosforilasi, yang meningkatkan keseimbangan redoks mikroel lingkungan folikel rambut. Hal ini berkontribusi pada perbaikan jaringan dan pemulihan fungsi folikel rambut.

103–108

Minoxidil topikal, yang bekerja dengan meningkatkan mikrosirkulasi darah pada kulit kepala, memungkinkan peningkatan suplai oksigen dan nutrisi yang dibutuhkan oleh folikel rambut. Proses ini juga mengarah pada pengurangan inflamasi lokal dengan menurunkan kadar TNF-A, yang pada

gilirannya mendukung transisi folikel rambut ke fase anagen. Selain itu, minoxidil berpotensi mengurangi efek kerusakan akibat inflamasi kronis dan meningkatkan ketebalan rambut yang mengalami miniaturisasi.¹⁰³⁻¹⁰⁸

Sinergi antara SH-MSCS dan minoxidil topikal dalam modulasi ekspresi IFN- γ dan TNF- α berpotensi memperbaiki homeostasis mikrofolikel dan merangsang regenerasi rambut. Melalui pengurangan inflamasi, pengelolaan stres oksidatif, dan perbaikan aliran darah folikel rambut, kombinasi terapi ini dapat menawarkan pendekatan yang lebih efektif dalam memitigasi efek *Alopecia-like* dan memfasilitasi pertumbuhan rambut yang lebih optimal.¹⁰³⁻¹⁰⁸



BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Fluconazole adalah agen antijamur golongan azol yang bekerja dengan cara menghambat enzim lanosterol 14 α -demethylase, bagian dari keluarga enzim sitokrom P450 (CYP450). Target utama fluconazole adalah biosintesis ergosterol pada sel jamur, fluconazole juga dapat mempengaruhi enzim CYP450 pada sel mamalia, sehingga mengganggu metabolisme senyawa endogen penting seperti hormon steroid.¹⁰⁹

Salah satu konsekuensi dari inhibisi CYP450 oleh fluconazole adalah terganggunya konversi kolesterol menjadi hormon steroid, termasuk estrogen. Estrogen merupakan hormon penting dalam regulasi siklus pertumbuhan rambut, terutama dalam mempertahankan fase anagen (fase pertumbuhan aktif) dan menekan transisi ke fase katagen (fase regresi). Penurunan kadar estrogen akibat gangguan metabolisme ini dapat memicu gangguan pertumbuhan rambut.¹⁰⁹

Selain berdampak pada metabolisme hormon, inhibisi jalur sterol juga dapat mempengaruhi kestabilan membran sel pada jaringan manusia, meskipun ergosterol tidak diproduksi di sel manusia. Gangguan ini dapat melemahkan struktur dan fungsi membran lipid, menyebabkan ketidakseimbangan osmotik, dan meningkatkan kerentanan terhadap sinyal pro-apoptotik, termasuk pada sel-sel folikel rambut.

Kondisi ini menyebabkan sel-sel folikel rambut menjadi lebih mudah mengalami apoptosis. Kematian sel folikel akan menghentikan pertumbuhan rambut yang sehat, dan mengarahkan folikel ke fase telogen atau dorman, yang ditandai dengan kerontokan rambut secara difus. Proses ini memperjelas hubungan antara paparan fluconazole, penurunan aktivitas CYP450, gangguan hormonal, hingga munculnya alopecia.

Fluconazole juga diketahui mempengaruhi aktivitas mitokondria, terutama dengan menghambat kompleks I dan kompleks III pada rantai transport elektron. Hambatan ini mengurangi efisiensi fosforilasi oksidatif, menurunkan produksi ATP, serta meningkatkan kebocoran elektron yang pada akhirnya menghasilkan reactive oxygen species (ROS) dalam jumlah berlebih.^{18,28}

Peningkatan ROS memicu stres oksidatif pada sel, yang ditandai dengan kerusakan lipid membran, protein, dan DNA. Dalam konteks jaringan kulit kepala, sel-sel yang sangat tergantung pada mitokondria seperti sel endotel kapiler dan sel folikel rambut sangat rentan terhadap kerusakan akibat ROS. Akumulasi ROS ini berujung pada disfungsi mitokondria yang lebih parah dan akhirnya memicu kematian sel melalui jalur apoptosis intrinsik.

Salah satu dampak awal dari stres oksidatif yang berat adalah apoptosis sel endotel, terutama pada mikrovaskulaturis di sekitar dermis tempat folikel rambut menerima suplai darah. Kematian sel endotel ini

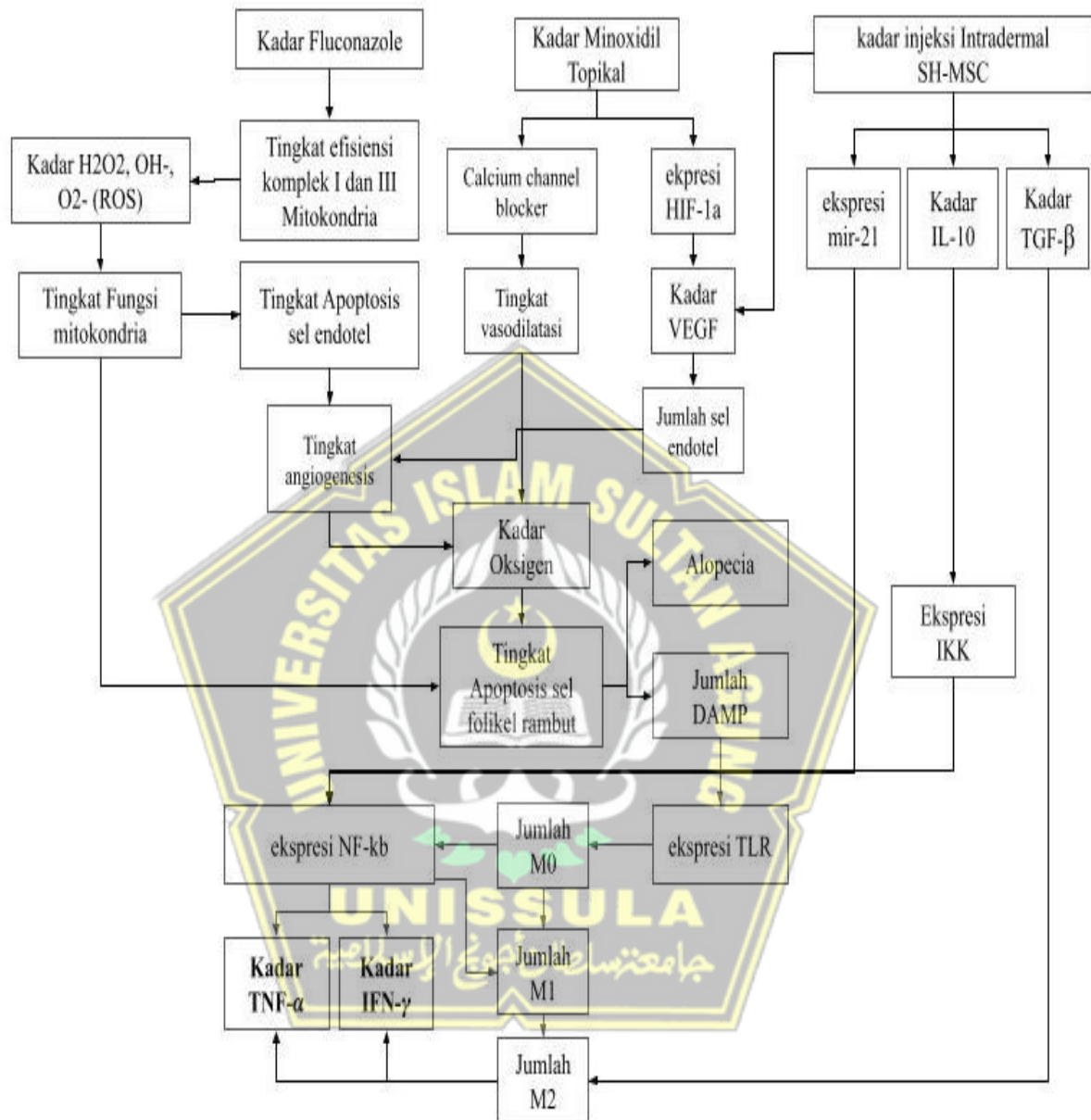
mengganggu aliran oksigen dan nutrisi ke folikel rambut, menyebabkan kondisi hipoksia lokal yang semakin memperparah stres pada jaringan tersebut.

Hipoksia kronis merupakan salah satu pemicu utama dari aktivasi jalur apoptosis di dalam sel folikel rambut. Dalam kondisi ini, HIF-1 α meningkat, dan sel cenderung menuju kematian daripada bertahan dalam kondisi lingkungan yang tidak mendukung. Akibatnya, siklus rambut terhenti pada fase pertumbuhan dan masuk ke fase rontok, menghasilkan manifestasi klinis berupa alopecia yang disebabkan oleh jalur mitokondria-hipoksia.

Fluconazole juga berkontribusi terhadap perkembangan kondisi mirip alopecia melalui beberapa jalur patofisiologis, termasuk gangguan vaskular, peningkatan kematian sel terprogram (apoptosis), serta aktivasi respon imun.^{18,28} Obat ini diketahui mendorong produksi Reactive Oxygen Species (ROS) yang bersifat toksik terhadap sel endotel pada area dermal papilla. Akumulasi ROS ini menyebabkan apoptosis yang persisten, menghambat pasokan oksigen dan nutrisi, serta mempercepat kematian sel dermal papilla yang berujung pada kerontokan rambut.^{18,28} Selain itu, sel yang mengalami apoptosis akan melepaskan molekul sinyal bahaya atau DAMP yang selanjutnya mengaktifasi jalur transkripsi NF- κ B, memicu pelepasan berbagai sitokin proinflamasi seperti TNF α dan IFN- γ . Kedua protein ini kemudian akan mengaktifasi polarisasi makrofag menjadi tipe 1 yang bersifat pro-inflamasi sehingga akan semakin memperparah kondisi inflamasi akibat paparan fluconazole.

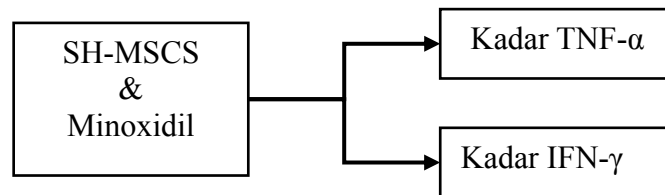
Terapi menggunakan SH-MSCS berpotensi untuk memodulasi jalur inflamasi ini. Kandungan sitokin, miRNA dan *growth factor* antiinflamasi seperti IL-10, miR-21, dan TGF- β , dalam secretome diketahui efektif dalam menghambat pelepasan IKK1NF-kb yang berujung pada deaktivasi NF- κ B, sehingga menurunkan produksi TNF- α dan IFN- γ yang berperan dalam mediasi peradangan. Selain itu, keberadaan TGF- β sebagai salah satu komponen antiinflamasi dalam secretome turut mendukung peralihan fenotipe makrofag dari tipe 1 ke tipe 2 yang bersifat antiinflamasi, yang semakin menurunkan produksi TNF- α dan IFN- γ .¹⁰³⁻¹⁰⁸

Sementara itu, minoxidil bekerja melalui mekanisme yang berbeda dalam meregenerasi folikel rambut, yaitu dengan merangsang pelepasan VEGF, yang merupakan faktor utama dalam proses angiogenesis. Minoxidil diduga meningkatkan induksi VEGF via aktivasi HIF-1. Minoxidil dalam konsentrasi milimolar menghambat enzim PHD, mencegah degradasi HIF-1 α , sehingga meningkatkan VEGF.¹¹⁰⁻¹¹² VEGF mendukung pembentukan pembuluh darah baru dan memperbaiki aliran darah lokal di sekitar folikel rambut, sehingga dapat mengatasi gangguan vaskularisasi yang diakibatkan oleh fluconazole.^{18,19} Peningkatan perfusi ini memungkinkan distribusi nutrisi dan oksigen yang lebih optimal, mendorong proliferasi sel dermal papilla, serta memperpanjang fase pertumbuhan rambut (anagen), yang secara keseluruhan memperkuat efek regeneratif terapi kombinasi.



Gambar 3. 1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka konsep



Gambar 3. 2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Terdapat pengaruh kombinasi injeksi intradermal SH-MSC dosis 100 uL dan minoxidil topical dosis 5% terhadap kadar TNF- α dan Kadar IFN- γ pada Tikus model *Alopecia-like* yang diinduksi Fluconazole.

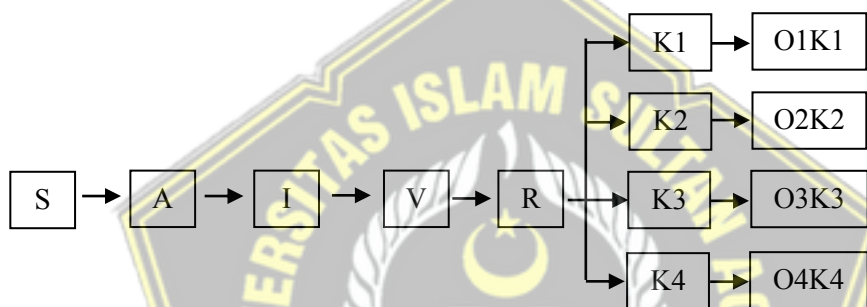


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

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



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Sampel

A = Aklimatisasi hewan coba

R = Random alokasi hewan coba

I = Induksi Fluconazole

V = Validasi

K1 = Tikus diinduksi Fluconazole model *Alopecia-like* dengan pemberian injeksi NaCl 0,9%

K2 = Tikus diinduksi Fluconazole model *Alopecia-like* minoxidil 5% secara topikal

K3 = Tikus induksi Fluconazole model *Alopecia-like* pemberian injeksi SH-
MSCSs 100 uL

K4 = Tikus induksi Fluconazole model *Alopecia-like* pemberian kombinasi
injeksi SH-MSCSs 100 uL + Minoxidil 5%

O1K1 = Observasi kadar TNF- α dan IFN- γ kelompok K1

O2K2 = Observasi kadar TNF- α dan IFN- γ kelompok K2

O3K3 = Observasi kadar TNF- α dan IFN- γ kelompok K3

O4K4 = Observasi kadar TNF- α dan IFN- γ kelompok K4

4.2. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.2.1 Variabel penelitian

- a. Variabel Bebas penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah SH-MSCS dan minoxidil
- b. Variabel Perantara penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar TNF- α
- c. Variabel Tergantung penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar IFN- γ
- c. Variabel Prakondisi penelitian ini adalah pemberian Fluconazole secara oral.

4.2.2 Definisi Operasional

a. Secretome Hipoksia Mesenchymal Stem Cells

Secretome hipoksia Mesenchymal Stem Cell adalah senyawa molekul bioaktif yang disekresikan oleh MSCS setelah inkubasi dalam kondisi hipoksia selama 24 jam, kemudian difiltrasi menggunakan teknik tangensial flow filtration (TFF) dengan filter ukuran 10-100 kDa untuk memurnikan molekul target. Injeksi SH-MSCS dilakukan secara intradermal pada area dorsal dengan dosis 100 uL sebanyak 1 kali pada hari ke 22.¹¹⁴

Skala: rasio

Satuan : uL

b. Minoxidil

Minoxidil adalah sediaan gel dengan kadar bahan aktif 5% yang diberikan secara topikal. Pemberian minoxidil dilakukan selama 7 hari pada hari ke 22-28.

Skala: rasio

Satuan : mg

b. Kadar TNF- α

TNF- α adalah sitokin pro-inflamasi yang diukur dari sampel jaringan kulit yang diambil dari bagian dorsal pada hari ke-14 pasca perlakuan. Konsentrasi TNF- α dianalisis menggunakan metode *enzyme-linked*

immunosorbent assay (ELISA) untuk menentukan kadar spesifiknya dalam jaringan.

Skala: Rasio

Satuan : pg/mL

c. Kadar IFN- γ

Protein IFN- γ adalah kemokin yang berperan dalam rekrutmen sel imun. IFN- γ diukur dari sampel kulit yang diambil dari bagian dorsal pada hari ke-14 setelah perlakuan, kemudian dianalisis menggunakan metode ELISA untuk menentukan konsentrasinya.

Skala: Rasio

Satuan : pg/mL

4.3. Subyek Penelitian dan Sampel Penelitian

4.3.1. Subyek penelitian

Tikus jantan galur Wistar berusia 6-8 minggu dengan berat badan 200-250 gram digunakan sebagai subjek penelitian setelah dinyatakan sehat oleh dokter hewan dari Laboratorium Stem Cell and Cancer Research (SCCR) Indonesia. Hewan percobaan tersebut dipelihara dalam kondisi laboratorium yang sesuai standar, dengan ventilasi udara yang baik dan suhu ruangan dijaga antara 20-28°C. Selama masa pemeliharaan, tikus diberi pakan pelet standar dan air minum bersih secara *ad libitum*.

4.3.2. Sampel Penelitian

4.3.2.1. Kriteria inklusi

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

4.3.2.2. Kriteria eksklusi

- a. Tikus yang sakit selama masa penelitian.

4.3.2.3. Kriteria *drop out*

- a. Tikus mengalami infeksi atau
- b. Tikus mati selama penelitian.

4.4. Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan 4 perlakuan dan besaran sampel dihitung

menggunakan rumus Federer sebagai berikut:

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

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

$$3 (n - 1) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, penelitian menggunakan enam ekor sampel per perlakuan. Untuk menghadapi risiko mortalitas pada tikus, setiap kelompok ditambah sampel sebanyak satu ekor dari jumlah hitungan menjadi total 7 ekor per perlakuan. Dengan demikian, jumlah total sampel yang digunakan adalah 28 ekor.

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam kultur MSCS dan isolasi SH-MSCS antara lain:

- BSC
- CO2 inkubator
- Sentrifuge
- uPulse tangential flow filtration
- membran filtrasi TFF (Tangential Flow Filtration) 100 kda dan 500 kda
- Flowcytometer
- mikroskop inverted
- incubator biasa
- mikropipet
- tabung sentrifuge
- flask kultur sel
- botol beher
- hypoxia chamber

- pH meter
- *autoclave*
- lampu UV.

4.5.2. Bahan Penelitian

Bahan yang dipakai dalam penelitian meliputi bahan kultur yang terdiri dari :

- DMEM
- Fetal Bovine Serum
- Phospat Buffer Saline
- Antibiotik dan anti jamur
- Flask kultur
- sentrifuge tube
- pipet tip.
- NaCl, dan Aquabidest
- alkohol 70%
- kapas steril
- ketamin
- xylazine
- vial tube
- pisau bisturi
- Elisa Kit Rat IFN- γ (Elabscience No. Katalog E-EL-R0633)
- Elisa Kit TNF- α (Elabscience No. Katalog E-EL-R2856)

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*

Produk SH-MSC yang digunakan di penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Stem Cell and Cancer Research (SCCR, Semarang, Indonesia. Sediaan SH-MSC berupa larutan steril yang siap diinjeksikan ke objek percobaan.

4.6.3. *Pembuatan Alopecia-like dan pemberian perlakuan pada subjek percobaan*

Pembuatan hewan coba model tikus *Alopecia-like* menggunakan induksi flukonazole dengan metode sebagai berikut¹¹⁵ :

- a) Setelah satu minggu adaptasi, tikus diberikan kombinasi xylazine (20 mg/kgbb) dan ketamine (60 mg/kgbb) untuk menginduksi anestesi.
- b) Mencukur rambut pada punggung tikus
- c) Tikus kelompok K1 sd K4 diberi fluconazole 35 mg/kgBB per oral selama 14 hari menggunakan sonde²⁸
- d) Hari ke-15, 1 tikus akan dilakukan validasi

4.6.4. *Metode Validasi Hewan Coba Alopecia-like*

Validasi mikroskopis dengan pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) dimana dinyatakan mengalami alopecia jika tidak ditemukan folikel dalam fase

anagen pada kulit tikus. Untuk melakukan validasi mikroskopis dilakukan langkah-langkah sebagai berikut¹¹⁵:

- a) Sampel kulit diperoleh dari masing-masing kelompok dan digunakan untuk membuat potongan histologis menggunakan pewarnaan HE dan teknik paraffin. Sampel kulit tikus diperoleh dari masing-masing kelompok dan diawetkan dalam larutan NBF 10% atau *Neutral Buffer Formalin*
- b) Sampel kulit dibersihkan dari sisa larutan fiksatif dengan membilasnya menggunakan alkohol 70%
- c) Sampel ditandai dan ditempatkan dalam keranjang tisu setelah difiksasi dalam larutan BNF 10
- d) Alkohol absolut dan alkohol bergradasi 70, 80%, 90%, dan 96% digunakan untuk mendehidrasi sampel jaringan
- e) Sampel dimasukkan ke dalam toluol selama satu jam, atau hingga menjadi bening atau transparan
- f) 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
- g) Kemudian sampel ditanam (*embedding*) dalam parafin dan *blocking* ditunggu hingga paraffin mengeras

- h) 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
- i) Sebelum pewarnaan jaringan, parafin dihilangkan (*deparaffinisasi*) dengan xylol selama sehari penuh
- j) 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
- k) Setelah jaringan diwarnai selama 5–10 detik dengan hematoksin, jaringan dibilas lagi selama 10 menit dengan air mengalir
- l) Selama 3-5 menit, preparata direndam dalam alkohol masing- masing 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%
- m) 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
- n) Setelah 15 menit *clearing xylol*, balsam Kanada ditetaskan ke dalam sediaan histologi

- o) Memasang *slide* jaringan dengan kaca penutup, memberi label, dan memasukkannya ke dalam kotak sediaan melengkapi prosedur ini.

4.6.5. Terminasi dan Koleksi Sampel

Terminasi dan koleksi sampel menggunakan metode sebagai berikut ¹¹⁶:

- a) Tikus diterminasi menggunakan dislokasi servikal.
- b) Letakkan tikus di atas permukaan steril.
- c) Bersihkan area kulit yang akan diambil dengan etanol 70%.
- d) Gunakan pisau bedah dan gunting steril untuk mengambil potongan kulit sekitar 1–2 cm² dari area dorsal.
- e) Tempatkan sampel dalam tabung cryovial yang berisi RIPA Buffer dan simpan segera dalam nitrogen cair atau freezer -80°C untuk analisis ELISA.

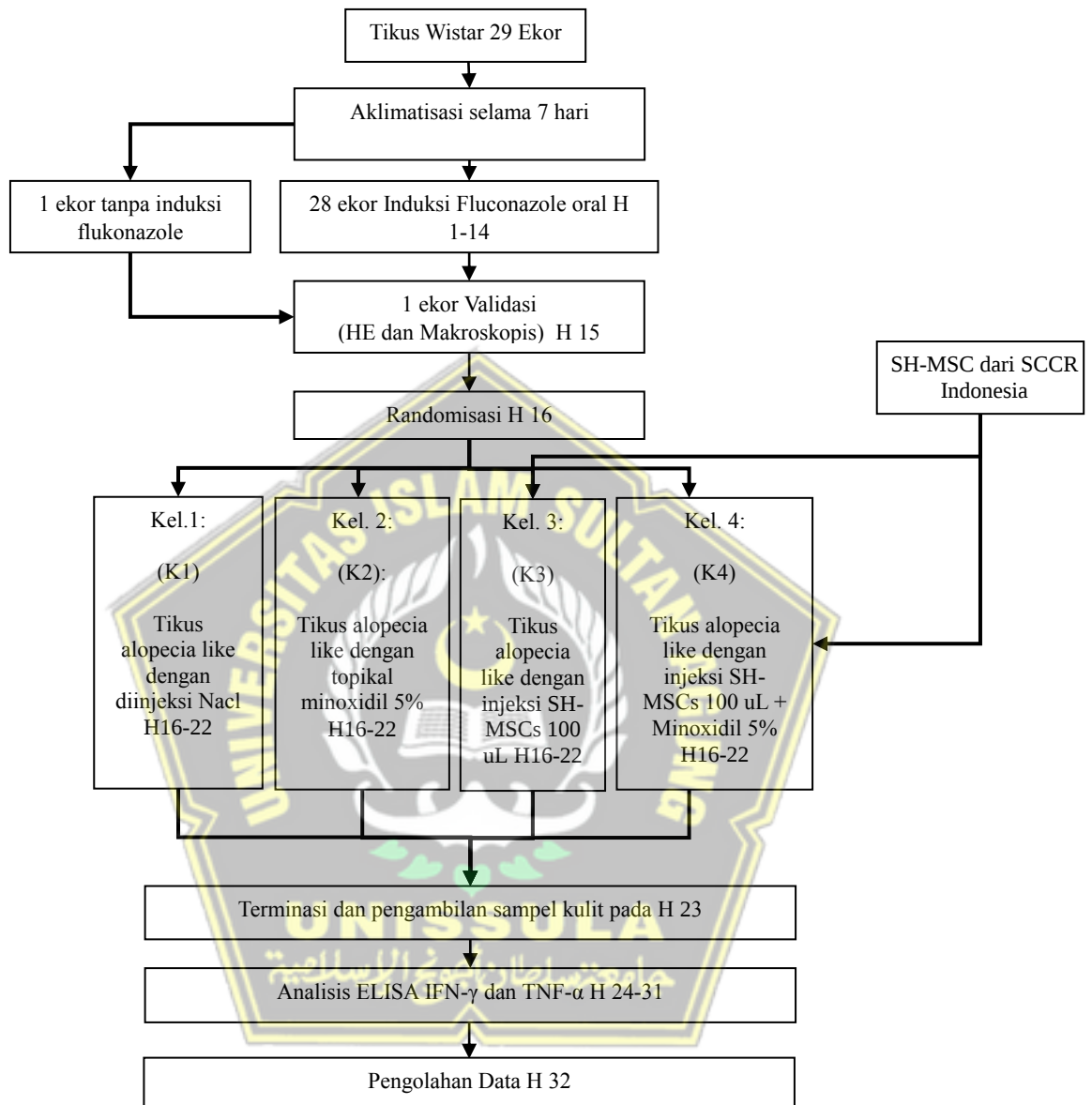
4.6.6. Analisis ELISA

Analisa parameter menggunakan elisa menggunakan metode sebagai berikut ¹¹⁶:

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

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

4.7. Alur Penelitian



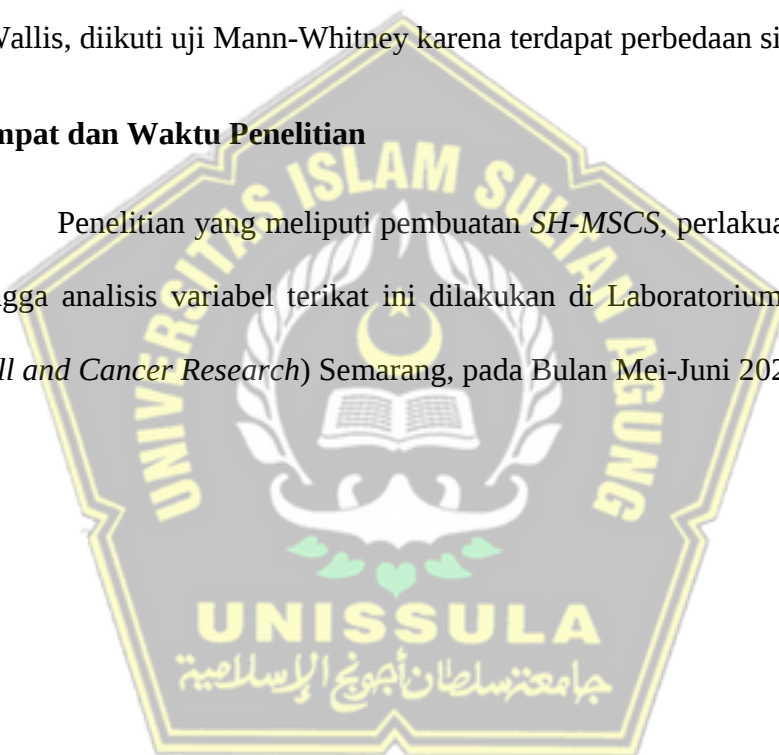
Gambar 4. 2. Alur Penelitian

4.8. Analisa Data

Data dianalisis menggunakan perangkat lunak SPSS. Uji deskriptif dilakukan untuk mengevaluasi kadar IFN- γ dan TNF- α pada tikus Wistar, dengan data berbentuk skala rasio. Normalitas dan homogenitas data dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk dan Levene. Data tidak terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka diuji beda menggunakan uji Kruskal-Wallis, diikuti uji Mann-Whitney karena terdapat perbedaan signifikan.

4.9. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian yang meliputi pembuatan *SH-MSCS*, perlakuan hewan coba hingga analisis variabel terikat ini dilakukan di Laboratorium SCCR (*Stem Cell and Cancer Research*) Semarang, pada Bulan Mei-Juni 2025.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

Alopecia terjadi akibat inflamasi yang ditandai peningkatan TNF- α dan IFN- γ yang berkontribusi pada kerusakan folikel rambut. Minoxidil, meski efektif menstimulasi pertumbuhan rambut, tidak secara langsung menekan respon imun, sehingga terbatas dalam mengatasi komponen inflamasi yang mendasari patogenesis alopecia. Berdasarkan keterbatasan tersebut, maka itu dibutuhkan penelitian untuk mengkaji terapi yang mampu mengatasi inflamasi sehingga penelitian ini dilakukan untuk menilai pengaruh pemberian SH-MSC, baik secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan aplikasi topikal minoxidil, terhadap kadar sitokin proinflamasi TNF- α dan IFN- γ pada tikus model *alopecia-like*. Penggunaan SH-MSC dilakukan karena memiliki kapasitas sebagai *immunomodulator* yang mampu menekan inflamasi.

Penelitian model *alopecia-like* melibatkan 28 tikus jantan galur Wistar yang diberi fluconazole secara oral selama 14 hari pada guna memicu kerontokan rambut. Pascainduksi, tikus divalidasi menggunakan pengecatan HE guna melihat struktur folikel rambut dan menggunakan pengamatan secara makroskopis. Setelah tervalidasi mengalami *alopecia-like* dan randomisasi, hewan uji dibagi menjadi empat kelompok: kontrol negatif (K1) yang diberikan injeksi NaCl, kontrol positif (K2) yang menerima aplikasi topikal minoxidil, perlakuan 1 (K3) yang mendapat

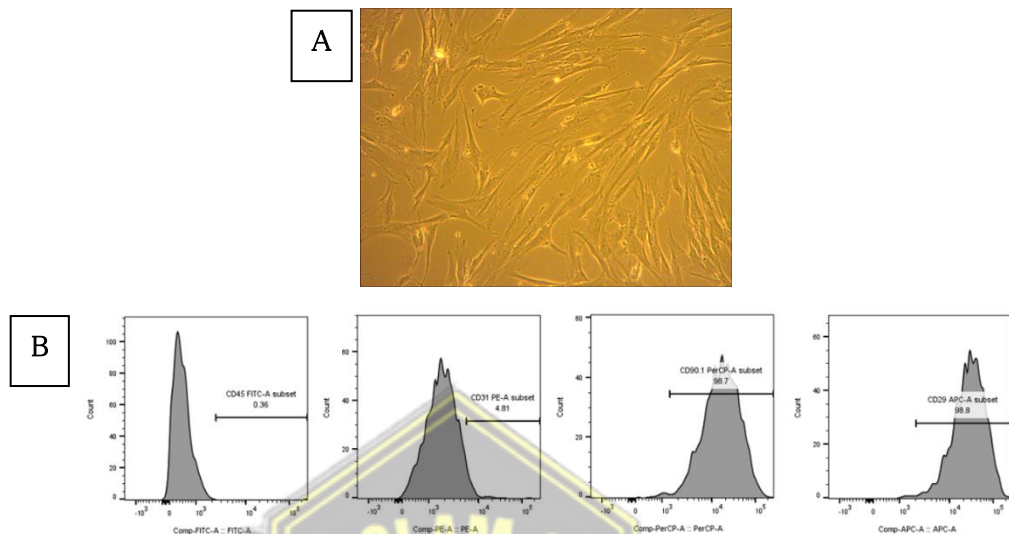
injeksi SH-MSc, dan perlakuan 2 (K4) yang memperoleh kombinasi injeksi sekretom MSC hipoksia serta aplikasi topikal minoxidil 5%. Pemberian sekretom dilakukan satu kali setelah periode induksi, diikuti masa observasi selama tujuh hari. Pada hari ketujuh setelah perlakuan tidak ada tikus yang masuk kriteria *drop out* dan setelah itu hewan dieutanasia dan jaringan kulit diambil untuk pemeriksaan. Pengukuran kadar TNF- α dan IFN- γ dilakukan dengan metode ELISA dan dinyatakan dalam satuan pg/mL. Kelebihan dari penggunaan ELISA adalah mampu menganalisis kadar protein yang telah tersintesis dan aktif, namun demikian metode ini tidak mampu menganalisis sumber sel yang mensekresikan protein target.

5.1.1. Hasil Validasi *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cell*

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

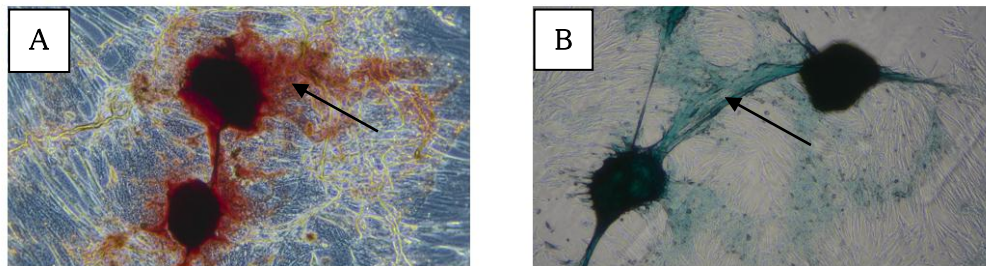
Analisis identitas sel menggunakan *surface marker* MSC menggunakan metode *flow cytometry* menunjukkan bahwa sel yang dikultur secara kuat mengekspresikan CD90 (98,7%) dan CD29 (98,8%), dan hanya sedikit mengekspresikan CD45 (0,36%) dan CD31 (4,81%) (Gambar 5.1B).

Hal ini menunjukkan sel yang diisolasi merupakan MSC.



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

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



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

Setelah tervalidasi sel merupakan MSC, sekretom MSC dikumpulkan dan disterilkan menggunakan filter 0,1 um dan diultrafiltrasi menggunakan metode TFF pada ukuran filter 100-500 kda. Kadar protein pada sekretom dianalisis menggunakan metode ELISA dan didapatkan data sebagaimana terlihat pada Tabel 5.1.

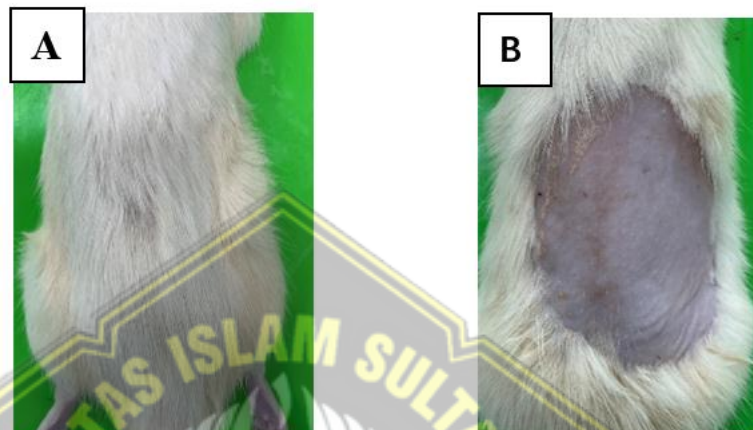
Tabel 5. 1. Kadar Protein pada SH-MSc

Parameter	Hasil	Standar	Metode Uji
Kadar VEGF	303,04 pg/mL	>100 pg/mL	ELISA
Kadar IFN- γ	9,73 pg/mL	≤ 50 pg/mL	ELISA
Kadar IL-10	100,29 pg/mL	>100 pg/mL	ELISA

5.1.2. Hasil Validasi Alopecia-like

Validasi keberhasilan pembentukan model *alopecia-like* pada tikus dilakukan melalui pengamatan visual dengan membandingkan kerapatan rambut antara kelompok tikus sehat dan kelompok yang diinduksi fluconazole. Berdasarkan hasil observasi, tikus sehat menunjukkan

kerapatan rambut yang lebih tinggi, sedangkan tikus yang diinduksi fluconazole memperlihatkan penurunan densitas rambut. Perbedaan tersebut dapat diamati pada Gambar 5.4.

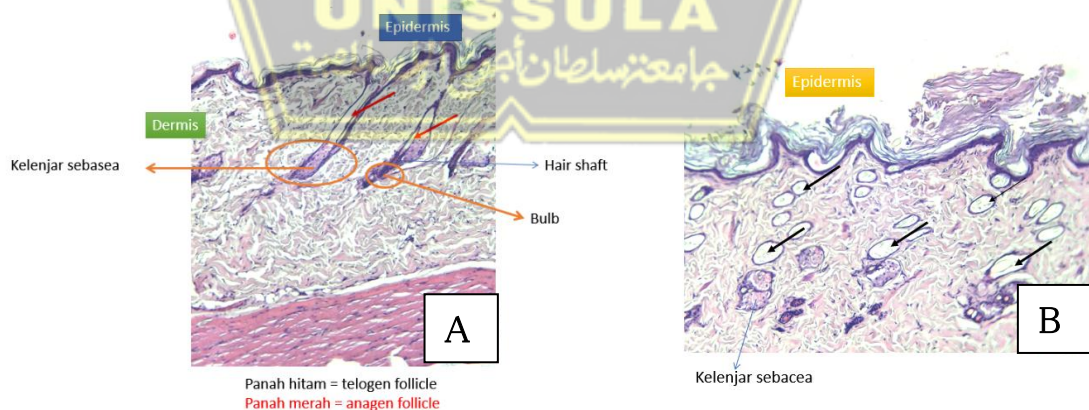


Gambar 5.3. Validasi *Alopecia-like* Tikus sehat (A) memiliki kondisi densitas rambut yang lebih tinggi, sedangkan tikus yang dipapar fluconazole memiliki densitas rambut yang lebih rendah (B)

Selain pengamatan secara visual makroskopis, proses validasi juga dilakukan melalui pengecatan HE pada jaringan kulit. Pada kelompok tikus sehat yang tidak diinduksi *alopecia-like* menggunakan fluconazole, lapisan epidermis terlihat utuh, terdiri atas stratum basale, stratum spinosum, stratum granulosum, dan stratum korneum yang tersusun rapat. Dermis papiler maupun retikuler menunjukkan susunan teratur dengan serabut kolagen yang rapi serta distribusi fibroblas normal. Tidak terdeteksi adanya infiltrasi sel inflamasi. Folikel rambut didominasi fase anagen, dengan batang rambut yang utuh serta matriks aktif di bagian bulb. Outer dan inner root sheath terlihat lengkap tanpa tanda-tanda

degenerasi. Tidak ditemukan miniaturisasi folikel maupun peralihan dini ke fase telogen. Jaringan ikat longgar dan lapisan tipis jaringan adiposa subkutan tampak tersusun rapi.

Sebaliknya, jaringan kulit pada tikus yang diinduksi *alopecia-like* dengan fluconazole memperlihatkan lapisan epidermis yang relatif utuh, namun terdapat sedikit hiperkeratosis pada stratum korneum. Sebagian besar folikel rambut berada pada fase telogen, yang ditandai posisi folikel lebih superfisial, ukuran bulb mengecil, dan tidak adanya matriks aktif pembentuk batang rambut. Jumlah folikel anagen berkurang signifikan, dan yang tersisa berukuran lebih kecil dibandingkan kulit normal, dengan beberapa mengalami miniaturisasi. Beberapa folikel telogen terlihat kosong (tanpa batang rambut), sesuai dengan proses hair shedding pada alopecia areata. Visualisasi hasil pengecatan HE dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5. (A) Tikus Sehat Memiliki kondisi folikel rambut dominan pada fase Anagen, (B) tikus yang dipapar fluconazole memiliki kondisi folikel rambut dominan pada fase telogen (Perbesaran 40x)

5.1.3. Kadar TNF- α

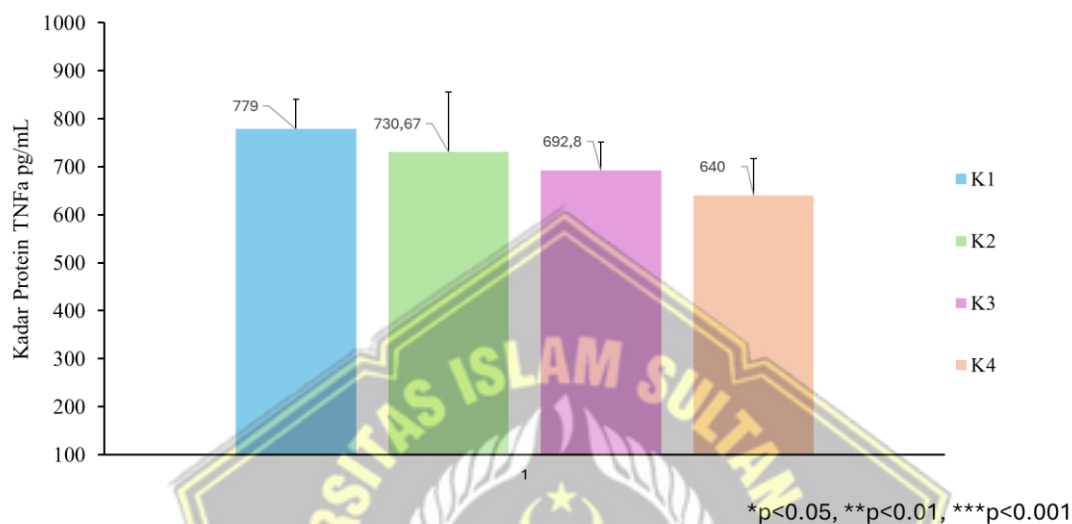
Pengukuran kadar TNF- α dilakukan menggunakan metode ELISA dari jaringan kulit tikus model alopecia pada hari ke-7 setelah pemberian perlakuan pertama. Hasil pengukuran dinyatakan dalam satuan pg/mL.

Tabel 5.2. Data Hasil Analisis Kadar TNF- α pada berbagai macam kelompok perlakuan dengan menggunakan ELISA jaringan kulit

Variabel	Kelompok				P
	K1 (pg/mL)	K2 (pg/mL)	K3 (pg/mL)	K4 (pg/mL)	
Kadar TNF-α	779,57 $\pm$ 61,22	730,66 $\pm$ 125,82	692,83 $\pm$ 58,60	640,83 $\pm$ 76,69	
Shapiro Wilk	0,94	0,15	0,20	0,19	
Levene test					0,15
One Way Anova					0,06

Kelompok kontrol negatif (K1), yaitu tikus alopecia yang diberikan injeksi NaCl, menunjukkan kadar TNF- α tertinggi, yaitu sebesar 779,57 $\pm$ 61,22 pg/mL. Kelompok kontrol positif (K2) yang mendapat perlakuan topikal minoxidil memiliki kadar TNF- α sebesar 730,66 $\pm$ 125,82 pg/mL, menunjukkan sedikit penurunan dibanding K1. Penurunan yang lebih jelas terlihat pada kelompok K3, yaitu tikus yang diberi injeksi sekretom MSC hipoksia, dengan kadar TNF- α sebesar 692,83 $\pm$ 58,60 pg/mL. Nilai TNF- α terendah diperoleh pada kelompok K4, yang menerima kombinasi sekretom MSC hipoksia dan minoxidil topikal, yaitu 640,83 $\pm$ 76,69 pg/mL. Berdasarkan uji distribusi, data kadar TNF- α terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) sehingga uji statistic menggunakan parametrik test yaitu *One Way* anova. Berdasarkan data kadar

TNF- α yang tidak berbeda nyata setelah uji parametrik *One Way Anova*, tidak dilakukan uji *Post Hoc* antar kelompok.



Gambar 5.6. Grafik Kadar TNF- α pada berbagai macam kelompok perlakuan dengan menggunakan ELISA jaringan kulit

5.1.4 Kadar IFN- γ

Pengukuran kadar IFN- γ pada hari ke-7 pasca pemberian perlakuan pertama menunjukkan adanya variasi antar kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol negatif (K1), yaitu tikus model alopecia yang hanya diberikan injeksi NaCl, kadar IFN- γ memiliki rerata $68,83 \pm 15,65$ pg/mL. Kelompok kontrol positif (K2), yaitu tikus alopecia yang diberikan topikal minoxidil, menunjukkan penurunan kadar IFN- γ menjadi $59,50 \pm 24,14$ pg/mL. Pada kelompok K3, yang menerima injeksi sekretom hipoksia MSC, kadar IFN- γ lebih rendah lagi dengan rerata $54,16 \pm 15,23$ pg/mL.

Penurunan paling signifikan ditemukan pada kelompok perlakuan 2 (K4), yang menerima kombinasi injeksi sekretom hipoksia MSC dan aplikasi topikal minoxidil, dengan rerata $24,00 \pm 14,68$ pg/mL

Tabel 5.3. Data Hasil Analisis Kadar IFN- γ pada berbagai macam kelompok perlakuan dengan menggunakan ELISA jaringan kulit

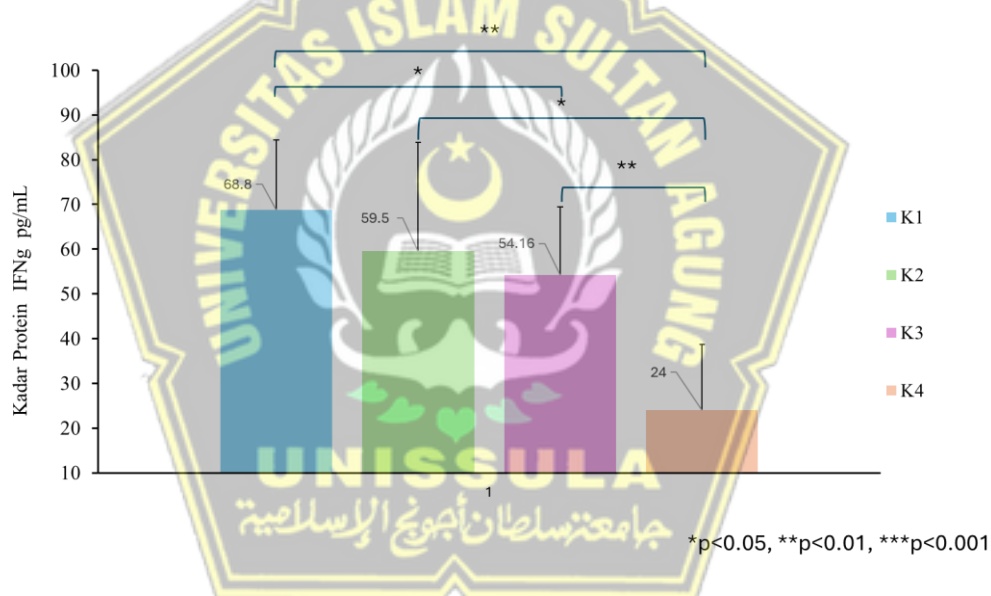
Variabel	Kelompok				P
	K1 (pg/mL)	K2 (pg/mL)	K3 (pg/mL)	K4 (pg/mL)	
Kadar IFN-γ	68,83 $\pm$ 15,65	59,50 $\pm$ 24,14	54,16 $\pm$ 15,23	24,00 $\pm$ 14,68	
Shapiro Wilk	0,04	0,88	0,01	0,24	
Kruskal Wallis					0,00

Hasil uji normalitas menunjukkan distribusi data tidak normal ($P < 0,05$). Oleh karena itu, analisis dilanjutkan menggunakan uji Kruskal-Wallis yang memperlihatkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian kombinasi sekretom hipoksia MSC dan minoxidil mampu menurunkan kadar IFN- γ lebih efektif dibandingkan perlakuan tunggal, baik dengan minoxidil maupun sekretom saja, serta dibandingkan kontrol negatif.

Tabel 5.4. Perbedaan rerata kadar IFN- γ antar dua kelompok dengan Uji *Post Hoc* Mann Whitney pada berbagai macam kelompok perlakuan dengan menggunakan ELISA jaringan kulit

Kelompok	Kelompok Perbandingan	Signifikansi
K1	K2	0,48
	K3	0,04
	K4	0,00
K2	K3	0,69
	K4	0,02
K3	K4	0,00

Berdasarkan data kadar IFN- γ yang memiliki beda nyata setelah uji non-parametrik Kruskal Wallis. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji *Post Hoc* Mann Whitney, karena data bersifat tidak normal. Data hasil uji *Post Hoc* Mann Whitney tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.4. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K3 berbeda signifikan dibanding dengan K1, namun tidak berbeda dibanding dengan K2. Penelitian ini juga menemukan bahwa Kelompok K4 berbeda signifikan dibandingkan dengan K1 dan K2 ($p > 0,05$) serta K3 berbeda dibanding dengan K4.



Gambar 5.7. Grafik Kadar IFN- γ pada berbagai macam kelompok perlakuan dengan menggunakan ELISA jaringan kulit

5.2. Pembahasan Hasil Penelitian

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan kadar TNF- α yang signifikan antara kelompok perlakuan. Kelompok kontrol negatif (K1) memiliki kadar TNF- α tertinggi ($779,57 \pm 61,22$), yang menunjukkan kondisi

inflamasi tinggi pada model alopecia tanpa intervensi. TNF- α merupakan sitokin proinflamasi utama yang diproduksi oleh makrofag, sel dendritik, dan keratinosit, berperan dalam aktivasi jalur NF- κ B dan MAPK, yang selanjutnya menginduksi ekspresi molekul adhesi, kemokin, dan mediator inflamasi lainnya.^{1,2,117} Peningkatan TNF- α dalam jaringan folikel rambut memicu kerusakan *microenvironment* folikel melalui rekrutmen limfosit T sitotoksik CD8+ dan makrofag M1, yang pada akhirnya memicu apoptosis sel-sel matriks folikel rambut melalui jalur caspase-dependent apoptosis. Pada alopecia, TNF- α juga berperan dalam transisi prematur dari fase anagen ke fase catagen, yang secara langsung memperpendek siklus pertumbuhan rambut.^{1,2}

Kelompok kontrol positif (K2) yang diberikan minoxidil menunjukkan kadar TNF- α yang tidak berbeda ($730,66 \pm 125,82$ pg/mL) dibandingkan K1. Hal ini menunjukkan minoxidil tidak menunjukkan adanya efek antiinflamasi. Menurut penelitian sebelumnya minoxidil meningkatkan vasodilatasi melalui aktivasi *ATP-sensitive potassium channels* (KATP channels) di sel otot polos pembuluh darah, sehingga meningkatkan perfusi dan oksigenasi folikel.¹¹¹ Hal ini menyebabkan peran minoxidil yang lebih dominan pada stimulasi pertumbuhan rambut melalui jalur proliferasi keratinosit dan dermal papilla cells membuat efek antiinflamasinya terbatas.¹¹¹

Kelompok K3 yang mendapatkan injeksi sekretom MSC hipoksia memperlihatkan tren penurunan TNF- α ($692,83 \pm 58,60$ pg/mL), namun

tidak signifikan dibanding perlakuan yang lain secara statistika. Sekretom MSC mengandung berbagai faktor parakrin seperti TGF- β , IL-10, dan PGE2, yang secara langsung menekan aktivasi jalur NF- κ B di makrofag dan sel T.^{118,119} Kondisi hipoksia saat kultur MSC meningkatkan sekresi faktor pro-angiogenik dan antiinflamasi, termasuk VEGF dan HGF, yang selain memperbaiki vaskularisasi juga menggeser fenotipe makrofag dari M1 proinflamasi menjadi M2 antiinflamasi.^{118,119} Pergeseran ini secara langsung menurunkan produksi TNF- α di jaringan, sehingga mengurangi kerusakan folikel dan memperpanjang fase anagen.^{118,119}

Kelompok K4 secara statistik tidak menunjukkan kadar TNF- α berbeda dibanding perlakuan lainnya, namun kombinasi sekretom MSC hipoksia dan minoxidil cenderung menunjukkan kadar TNF- α terendah ($640,83 \pm 76,69$ pg/mL). Penurunan ini menandakan efek sinergis antara modulasi lingkungan mikro folikel oleh sekretom MSC dan peningkatan perfusi folikel oleh minoxidil. Sekretom mengatasi peradangan kronis dengan menekan TNF- α , sedangkan minoxidil memperbaiki aliran darah sehingga memfasilitasi distribusi faktor parakrin dan nutrisi ke folikel.^{103,110} Kombinasi ini menghasilkan lingkungan mikro yang optimal untuk perbaikan folikel, mencegah apoptosis dini, dan memulihkan siklus rambut ke fase anagen yang lebih panjang.^{102,103}

Meskipun terdapat tren penurunan kadar TNF- α , hasil uji statistik dengan One Way ANOVA menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna ($p > 0,05$). Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh variabilitas data yang

cukup tinggi pada beberapa kelompok (khususnya K2) serta ukuran sampel yang terbatas. Dengan demikian, meskipun secara biologis kombinasi terapi menunjukkan hasil yang potensial dalam menurunkan TNF- α , secara statistik belum dapat disimpulkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok.

Temuan ini menunjukkan pentingnya penelitian lanjutan dengan jumlah sampel yang lebih besar serta evaluasi jangka waktu terapi yang lebih panjang untuk memastikan efek imunomodulasi sekretom MSC, baik tunggal maupun dalam kombinasi dengan minoxidil, terhadap regulasi TNF- α pada alopecia.

Analisis terhadap kadar IFN- γ juga memperlihatkan pola penurunan yang signifikan pada kelompok perlakuan. Pada K1 ($68,83 \pm 15,65$ pg/mL), kadar IFN- γ tinggi menunjukkan dominasi respons imun tipe Th1.¹ IFN- γ adalah sitokin proinflamasi yang diproduksi terutama oleh limfosit T CD4+ Th1, T CD8+ sitotoksik, dan sel NK, yang berperan dalam aktivasi makrofag dan peningkatan ekspresi MHC kelas I dan II pada sel target.¹²⁰ Peningkatan ekspresi MHC di sel folikel rambut menyebabkan folikel yang secara fisiologis bersifat *immune-privileged* menjadi lebih rentan terhadap serangan imun, memicu infiltrasi limfosit dan kerusakan folikel. Jalur sinyal IFN- γ terutama melalui JAK1/JAK2-STAT1 pathway, yang mengaktifkan ekspresi gen proinflamasi dan molekul efektor sitotoksik, sehingga memperkuat respon imun terhadap folikel rambut.^{1,121}

Pada K2, kadar IFN- γ sedikit menurun ($59,50 \pm 24,14$ pg/mL), menunjukkan bahwa minoxidil memiliki efek antiinflamasi tidak langsung melalui peningkatan perfusi dan penurunan stres oksidatif, efek ini relatif kecil terhadap respon imun adaptif yang dimediasi oleh Th1.¹²² Pada K3, penurunan kadar IFN- γ lebih nyata ($54,16 \pm 15,23$ pg/mL) yang mengindikasikan peran sekretom MSC dalam menggeser keseimbangan respon imun dari dominasi Th1 ke arah Th2/Treg.^{70,123} Sekretom MSC mengandung IL-10 dan TGF- β yang menghambat diferensiasi Th1 serta menekan produksi IFN- γ .¹²⁴

Efek paling menonjol terlihat pada K4, dengan kadar IFN- γ terendah ($24,00 \pm 14,68$ pg/mL). Kombinasi sekretom MSC dan minoxidil tidak hanya menekan respon imun proinflamasi melalui penurunan produksi IFN- γ , tetapi juga memperkuat mekanisme perbaikan jaringan dengan meningkatkan perfusi dan ketersediaan oksigen di area folikel yang rusak.^{103,111} Minoxidil mendukung efek sekretom dengan memperbaiki distribusi faktor imunoregulator ke mikro lingkungan folikel, sehingga efek penekanan Th1 menjadi lebih optimal.⁷⁰

Penelitian ini menemukan bahwa K2 dibanding K3 dan K4 tidak berbeda secara signifikan ($P > 0,05$). Hal ini menandakan bahwa tidak ada bedanya antara pemberian minoxidil topikal dibandingkan dengan pemberian injeksi SH-MSC dan kombinasi SH-MSC dan minoxidil. Hasil yang mendekati signifikan ini, bisa menjadi bermakna apabila menggunakan

dosis dari SH-MSC yang lebih tinggi. Hal ini menjadi keterbatasan pada penelitian ini karena tidak menggunakan beberapa alternatif dosis.

Secara keseluruhan, penurunan TNF- α dan IFN- γ pada kelompok K3 dan K4 menunjukkan bahwa modulasi inflamasi melalui jalur parakrin MSC hipoksia dan optimasi perfusi oleh minoxidil merupakan pendekatan yang efektif untuk memulihkan homeostasis imun di sekitar folikel rambut. Penurunan TNF- α mengurangi kerusakan langsung pada sel matriks folikel dan mempertahankan fase anagen, sedangkan penurunan IFN- γ melindungi *immune privilege* folikel dan mencegah destruksi autoimun. Kedua mekanisme ini saling melengkapi dalam mencegah progresi alopecia dan mendukung regenerasi rambut.

Kadar TNF- α dan IFN- γ pada penelitian ini dianalisis menggunakan metode ELISA yang dapat menganalisis kadar protein pada jaringan kulit, namun demikian metode ini tidak dapat menjelaskan sumber sel yang mensekresikan TNF- α dan IFN- γ yang menjadi keterbatasan pada penelitian ini. Hal ini menjadi saran bagi penelitian selanjutnya untuk menganalisis ekspresi TNF- α dan IFN- γ menggunakan metode IHC untuk dapat melihat sel yang mensekresikan protein tersebut.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam menafsirkan hasil yang diperoleh. Pertama, jumlah sampel yang digunakan masih relatif kecil, sehingga daya uji statistik menjadi terbatas dan distribusi data yang dihasilkan cenderung tidak normal. Kondisi ini dapat memengaruhi generalisasi temuan terhadap populasi yang

lebih luas. Kedua, penelitian ini belum melakukan pemeriksaan secara mendalam terkait kemungkinan adanya interaksi obat, khususnya pada pemberian *minoxidil* topikal yang dikombinasikan dengan injeksi SH-MSC. Hal ini penting mengingat prosedur penyuntikan berpotensi memengaruhi absorpsi sistemik *minoxidil* ke dalam peredaran darah, yang pada akhirnya dapat memengaruhi baik keamanan maupun efektivitas terapi. Keterbatasan lain adalah tidak adanya kelompok sehat sebagai pembanding, sehingga penelitian ini tidak dapat menggambarkan perbedaan respons terapi antara individu dengan kondisi alopecia dan individu dengan kondisi fisiologis normal.

Untuk itu, pada penelitian selanjutnya disarankan untuk melibatkan jumlah sampel yang lebih besar agar hasil yang diperoleh lebih representatif. Selain itu, perlu dilakukan evaluasi farmakokinetik untuk menilai kemungkinan absorpsi sistemik *minoxidil* ketika dikombinasikan dengan SH-MSC, sehingga mekanisme kerja dan aspek keamanannya dapat dipahami dengan lebih baik. Penelitian berikutnya juga diharapkan dapat menyertakan kelompok sehat sebagai kontrol, sehingga efek terapi dapat dibandingkan secara lebih komprehensif antara subjek normal dan subjek dengan alopecia.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi SH-MSC secara subcutan terhadap peningkatan kadar TNF- α dan IFN- γ pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia-like* membuktikan hal-hal berikut:

- a. tidak terdapat pengaruh injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar TNF- α pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia like*.
- b. terdapat pengaruh injeksi intradermal SH-MSC 100 μ L dan minoxidil 5% topikal terhadap kadar IFN- γ pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia like*.

6.2. Saran

- a. Penelitian lanjutan perlu mengeksplorasi jangka waktu pemberian SH-MSC dengan jumlah sampel yang lebih besar sehingga mendapatkan hasil yang optimal
- b. Penelitian lanjutan perlu mengeksplorasi dinamika kadar TNF- α dan IFN- γ pada dosis SH-MSC yang berbeda mencari kadar yang optimal.
- c. Penelitian lanjutan perlu menguji interaksi obat antara SH-MSC dan Minoxidil

- d. Studi yang akan datang dapat melakukan uji fase 1 pada manusia yang bertujuan untuk mengevaluasi keamanan, tolerabilitas, dosis, serta efek farmakokinetik dan farmakodinamik pada SH-MS



DAFTAR PUSTAKA

1. Omar SI, Hamza AM, Eldabah N, Habiba DA. IFN- α and TNF- α serum levels and their association with disease severity in Egyptian children and adults with alopecia areata. *Int J Dermatol*. 2021;60(11):1397–404.
2. Udkoff J, Cohen PR. Tumor necrosis factor-induced alopecia: Alternative pathology and therapy. Vol. 23, *Dermatology Online Journal*. 2017.
3. Lortkipanidze NT, Tevzadze MS, Kamkamidze GK. Interferon-gamma and neopterin in alopecia areata. *Georgian Med News*. 2005;(123):53–7.
4. Modha JD, Pathania YS. Comprehensive review of oral minoxidil in alopecia. Vol. 21, *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2022. p. 5527–31.
5. Zito PM, Hin N. Minoxidil Use in Alopecia. *J Dermatol Nurses Assoc*. 2017;9(5):264–7.
6. Damayanti RH, Rusdiana T, Wathoni N. Mesenchymal stem cell secretome for dermatology application: A review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2021.
7. Hu S, Zhang J, Ji Q, Xie S, Jiang J, Ni H, et al. Exosomes derived from uMSCs promote hair regrowth in alopecia areata through accelerating human hair follicular keratinocyte proliferation and migration. *Cell Biol Int*. 2024;48(2):154–61.
8. Vélez-Muñiz RDC, Peralta-Pedrero ML, Jurado-Santa Cruz F, Morales-Sánchez MA. Psychological Profile and Quality of Life of Patients with Alopecia Areata. *Ski Appendage Disord*. 2019;5(5):293–8.
9. Aşkın Ö, Koyuncu Z, Serdaroglu S. Association of alopecia with self-esteem in children and adolescents. *Int J Adolesc Med Health*. 2022;34(5):315–8.
10. Zhang M, Zhang N. Quality of life assessment in patients with alopecia areata and androgenetic alopecia in the People's Republic of China. *Patient Prefer Adherence*. 2017;11:151–5.
11. Olayinka J (Jadé) T, Richmond JM. Immunopathogenesis of alopecia areata. Vol. 2, *Current Research in Immunology*. 2021. p. 7–11.
12. Simakou T, Butcher JP, Reid S, Henriquez FL. Alopecia areata: A multifactorial autoimmune condition. Vol. 98, *Journal of Autoimmunity*. 2019. p. 74–85.
13. Haughton RD, Herbert SM, Ji-Xu A, Downing L, Raychaudhuri SP, Maverakis E. Janus kinase inhibitors for alopecia areata: A narrative review. Vol. 89, *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2023. p. 799–806.
14. Pratt CH, King LE, Messenger AG, Christiano AM, Sundberg JP. Alopecia

areata. Vol. 3, Nature Reviews Disease Primers. 2017.

15. Nestor MS, Ablon G, Gade A, Han H, Fischer DL. Treatment options for androgenetic alopecia: Efficacy, side effects, compliance, financial considerations, and ethics. Vol. 20, Journal of Cosmetic Dermatology. 2021. p. 3759–81.
16. Sibbald C. Alopecia Areata: An Updated Review for 2023. Vol. 27, Journal of Cutaneous Medicine and Surgery. 2023. p. 241–59.
17. Nadimi S. Complications with Hair Transplantation. Vol. 28, Facial Plastic Surgery Clinics of North America. 2020. p. 225–35.
18. Hati IP. Effect of Topical Gel Administration of *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (SH-MSCs) on IL-10 and TNF- α Gene Expression (In Vivo Experimental Study in Male Rats of Wistar Strains Model of Fluconazole-Induced Alopecia). Int J Multidiscip Res Anal. 2023;06(12).
19. Rahardja CK. Pengaruh Pemberian Gel Topikal Secretome Hipoksia Mesenchymal Stem Cell (Sh-Mscs) Terhadap Ekspresi Gen IL-15 dan IFN- (Studi eksperimental In Vivo Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia-Like yang diinduksi fluconazole). Universitas Islam Sultan Agung; 2023.
20. Vilaça-Faria H, Salgado AJ, Teixeira FG. Mesenchymal Stem Cells-derived Exosomes: A New Possible Therapeutic Strategy for Parkinson's Disease? Cells. 2019;8(2):118.
21. Al Naem M, Bourebaba L, Kucharczyk K, Röcken M, Marycz K. Therapeutic mesenchymal stromal stem cells: Isolation, characterization and role in equine regenerative medicine and metabolic disorders. Stem Cell Rev Reports. 2020;16(2):301–22.
22. Kim R, Song BW, Kim M, Kim WJ, Lee HW, Lee MY, et al. Regulation of alternative macrophage activation by MSCs derived hypoxic conditioned medium, via the TGF- β 1/Smad3 pathway. BMB Rep [Internet]. 2020;53(11):600. Available from: /pmc/articles/PMC7704222/
23. Morales-Guadarrama G, Méndez-Pérez EA, García-Quiroz J, Avila E, Ibarra-Sánchez MJ, Esparza-López J, et al. The Inhibition of the FGFR/PI3K/Akt Axis by AZD4547 Disrupts the Proangiogenic Microenvironment and Vasculogenic Mimicry Arising from the Interplay between Endothelial and Triple-Negative Breast Cancer Cells. Int J Mol Sci. 2023;24(18).
24. Yang Y, Wu Y, Yang D, Neo SH, Kadir ND, Goh D, et al. Secretive derived from hypoxia preconditioned mesenchymal stem cells promote cartilage regeneration and mitigate joint inflammation via extracellular vesicles. Bioact Mater. 2023;27:98–112.
25. Gunawardena TNA, Rahman MT, Abdullah BJJ, Kasim NHA. Conditioned

- media derived from mesenchymal stem cell cultures: The next generation for regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med* [Internet]. 2019 Apr;13(4):569–86. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/term.2806>
26. Li Y, Wang G, Wang Q, Zhang Y, Cui L, Huang X. Exosomes Secreted from Adipose-Derived Stem Cells Are a Potential Treatment Agent for Immune-Mediated Alopecia. *J Immunol Res*. 2022;2022.
 27. Santos AC, Pereira-Silva M, Guerra C, Costa D, Peixoto D, Pereira I, et al. Topical minoxidil-loaded nanotechnology strategies for alopecia. Vol. 7, *Cosmetics*. 2020.
 28. Thompson GR, Krois CR, Affolter VK, Everett AD, Katarina Varjonen E, Sharon VR, et al. Examination of fluconazole-induced alopecia in an animal model and human cohort. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019;63(2).
 29. Majewski M, Gardaś K, Waskiel-Burnat A, Ordak M, Rudnicka L. The Role of Minoxidil in Treatment of Alopecia Areata: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2024 Dec;13(24).
 30. Hoover E, Krishnamurthy K. Physiology, Hair. *StatPearls*. 2018.
 31. Panteleyev AA. Putting the human hair follicle cycle on the map. Vol. 136, *Journal of Investigative Dermatology*. 2016. p. 4–6.
 32. Ma YQ, Sun Z, Li YM, Xu H. Oxidative stress and alopecia areata. Vol. 10, *Frontiers in Medicine*. 2023.
 33. Prie BE, Voiculescu VM, Ionescu-Bozdog OB, Petrutescu B, Iosif L, Gaman LE, et al. Oxidative stress and alopecia areata. Vol. 8 Spec, *Journal of medicine and life*. 2015. p. 43–6.
 34. Prie BE, Iosif L, Tivig I, Stoian I, Giurcaneanu C. Oxidative stress in androgenetic alopecia. Vol. 9, *Journal of medicine and life*. 2016. p. 79–83.
 35. Shakoei S, Mirmiranpoor H, Nakhjavani M, Nasimi M, Bakhshi G, Azizpour A. Oxidative stress and antioxidant markers in patients with alopecia areata: A comparative cross-sectional study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2023;89(3):411–5.
 36. Zannikou M, Fish EN, Plataniias LC. Signaling by Type I Interferons in Immune Cells: Disease Consequences. *Cancers (Basel)*. 2024 Apr;16(8).
 37. Arca E, Muşabak U, Akar A, Erbil AH, Taştan HB. Interferon-gamma in alopecia areata. *Eur J Dermatology*. 2004;14(1):33–6.
 38. AL-Shafeiy HM, Ibrahim BMM, Safar MM, El-Shenawy SMA, Yassin NAZ, Kenawy SA. Fluconazole, a fungal cytochrome P450 enzyme inhibitor: The potential role in augmenting hepatotoxicity and hyperinsulinemia induced by dexamethasone in rats. *Egypt J Chem*.

- 2019;62(10):1895–906.
39. N.J. G, U.P. K, T.S. P. Adverse reactions to antifungal agents. *Adverse Drug Reaction Bulletin*. 2008.
 40. Haegler P, Joerin L, Krähenbühl S, Bouitbir J. Hepatocellular toxicity of imidazole and triazole antimycotic agents. *Toxicol Sci*. 2017;157(1):183–95.
 41. Dbouk NH, Covington MB, Nguyen K, Chandrasekaran S. Increase of reactive oxygen species contributes to growth inhibition by fluconazole in *Cryptococcus neoformans*. *BMC Microbiol*. 2019;19(1).
 42. Liang CH, Lin YH, Lin YK, Chiang CF. Hair growth-promotion effects and antioxidant activity of the banana flower extract HappyAngel®: double-blind, placebo-controlled trial. *Food Sci Hum Wellness*. 2023;12(5):1917–23.
 43. Lee S, Ohn J, Kang BM, Hwang ST, Kwon O. Activation of mitochondrial aldehyde dehydrogenase 2 promotes hair growth in human hair follicles. *J Adv Res*. 2024;64:237–47.
 44. Sagawa N, Oshima Y, Hiratsuka T, Kono Y, Etoh T, Inomata M. Role of increased vascular permeability in chemotherapy-induced alopecia: In vivo imaging of the hair follicular microenvironment in mice. *Cancer Sci*. 2020;111(6):2146–55.
 45. Bassino E, Antoniotti S, Gasparri F, Munaron L. Effects of flavonoid derivatives on human microvascular endothelial cells. *Nat Prod Res*. 2016;30(24):2831–4.
 46. Masriadi, Idrus HH, Sukmawati. Biological effects of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in systemic inflammation. running title: TNF- α for systemic inflammation. *Indian J Forensic Med Toxicol*. 2020;14(4):4361–7.
 47. Blaser H, Dostert C, Mak TW, Brenner D. TNF and ROS Crosstalk in Inflammation. *Trends in Cell Biology*. 2016.
 48. Tiegs G, Horst AK. TNF in the liver: targeting a central player in inflammation. Vol. 44, *Seminars in Immunopathology*. 2022. p. 445–59.
 49. Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, et al. The role of tumor necrosis factor alpha (Tnf- α) in autoimmune disease and current tnf- α inhibitors in therapeutics. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. p. 1–16.
 50. Horiuchi T, Mitoma H, Harashima SI, Tsukamoto H, Shimoda T. Transmembrane TNF- α : Structure, function and interaction with anti-TNF agents. Vol. 49, *Rheumatology*. 2010. p. 1215–28.
 51. Mustafa AI, Khashaba RA, Fawzy E, Baghdady SMAER, Rezk SM. Cross talk between oxidative stress and inflammation in alopecia areata. *J Cosmet*

Dermatol. 2021;20(7):2305–10.

52. Kim C, Shin JM, Kim D, Park S, Hong D, Jung KE, et al. Role of Substance P in Regulating Micro-Milieu of Inflammation in Alopecia Areata. *Ann Dermatol*. 2022;34(4):270–7.
53. Doche I, Wilcox GL, Ericson M, Valente NS, Romiti R, McAdams BD, et al. Evidence for neurogenic inflammation in lichen planopilaris and frontal fibrosing alopecia pathogenic mechanism. *Exp Dermatol*. 2020;29(3):282–5.
54. Béné J, Moulis G, Auffret M, Lefevre G, Coquerelle P, Coupe P, et al. Alopecia induced by tumour necrosis factor-alpha antagonists: Description of 52 cases and disproportionality analysis in a nationwide pharmacovigilance database. *Rheumatol (United Kingdom)*. 2014;53(8):1465–9.
55. Secombes CJ, Zou J. Evolution of interferons and interferon receptors. Vol. 8, *Frontiers in Immunology*. 2017.
56. Lee AJ, Ashkar AA. The dual nature of type I and type II interferons. Vol. 9, *Frontiers in Immunology*. 2018.
57. van Loo G, Bertrand MJM. Death by TNF: a road to inflammation. Vol. 23, *Nature Reviews Immunology*. 2023. p. 289–303.
58. Scuteri A, Monfrini M. Mesenchymal stem cells as new therapeutic approach for diabetes and pancreatic disorders. *Int J Mol Sci*. 2018;19(9).
59. Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells-current trends and future prospective. *Biosci Rep*. 2015;35(2):e00191.
60. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Krause DS, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* [Internet]. 2006;8(4):315–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14653240600855905>
61. Ibrahim R, Mndlovu H, Kumar P, Adeyemi SA, Choonara YE. Cell Secretome Strategies for Controlled Drug Delivery and Wound-Healing Applications. *Polymers*. 2022.
62. Putra A, Widyatmoko A, Ibrahim S, Amansyah F, Amansyah F, Berlian MA, et al. Case series of the first three severe COVID-19 patients treated with the secretome of hypoxia-mesenchymal stem cells in Indonesia. *F1000Research* 2021 10228 [Internet]. 2021 Oct;10:228. Available from: <https://f1000research.com/articles/10-228>
63. Huzes G, Sipos F. Mesenchymal stem cell-derived secretome: a potential therapeutic option for autoimmune and immune-mediated inflammatory diseases. *Cells*. 2022;11(15):2300.

64. Caroti CM, Ahn H, Salazar HF, Joseph G, Sankar SB, Willett NJ, et al. A Novel Technique for Accelerated Culture of Murine Mesenchymal Stem Cells that Allows for Sustained Multipotency. *Sci Rep* [Internet]. 2017;(September):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-13477-y>
65. Macrin D, Joseph JP, Pillai AA, Devi A. Eminent Sources of Adult Mesenchymal Stem Cells and Their Therapeutic Imminence. *Stem Cell Rev Reports*. 2017;13(6):741–56.
66. Zhang B, Tian X, Qu Z, Hao J, Zhang W. Hypoxia-Preconditioned Extracellular Vesicles from Mesenchymal Stem Cells Improve Cartilage Repair in Osteoarthritis. *Membranes* (Basel). 2022;12(2).
67. Cheng H, Chang S, Xu R, Chen L, Song X, Wu J, et al. Hypoxia-challenged MSC-derived exosomes deliver miR-210 to attenuate post-infarction cardiac apoptosis. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1).
68. Liu Y, Ren H, Zhou Y, Shang L, Zhang Y, Yang F, et al. The hypoxia conditioned mesenchymal stem cells promote hepatocellular carcinoma progression through YAP mediated lipogenesis reprogramming. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38(1).
69. Lan YW, Choo KB, Chen CM, Hung TH, Chen Y Bin, Hsieh CH, et al. Hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells attenuate bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6(1).
70. Xue M, Zhang X, Chen J, Liu F, Xu J, Xie J, et al. Mesenchymal Stem Cell-Secreted TGF- β 1 Restores Treg/Th17 Skewing Induced by Lipopolysaccharide and Hypoxia Challenge via miR-155 Suppression. *Stem Cells Int*. 2022;2022.
71. Zhang Z, Ge LL, Zhang S, Wang J, Jiang W, Xin Q, et al. The protective effects of MSC-EXO against pulmonary hypertension through regulating Wnt5a/BMP signalling pathway. *J Cell Mol Med*. 2020;24(23):13938–48.
72. Zulkifli A, Ahmad RE, Krishnan S, Kong P, Nam HY, Kamarul T. The potential mechanism of hypoxia-induced tenogenic differentiation of mesenchymal stem cell for tendon regeneration. Vol. 82, *Tissue and Cell*. 2023.
73. Nakajima M, Nito C, Sowa K, Suda S, Nishiyama Y, Nakamura-Takahashi A, et al. Mesenchymal Stem Cells Overexpressing Interleukin-10 Promote Neuroprotection in Experimental Acute Ischemic Stroke. *Mol Ther - Methods Clin Dev*. 2017;
74. Yang L, Cao J, Du Y, Zhang X, Hong W, Peng B, et al. Initial IL-10 production dominates the therapy of mesenchymal stem cell scaffold in spinal cord injury. *Theranostics*. 2024;14(2):879–91.
75. Putra A, Ridwan FB, Putridewi AI, Kustiyah AR, Wirastuti K, Sadyah

- NAC, et al. The role of $\text{tnf-}\alpha$ induced mscs on suppressive inflammation by increasing $\text{tgf-}\beta$ and il-10 . *Open Access Maced J Med Sci*. 2018;
76. Saldaña L, Bensiamar F, Vallés G, Mancebo FJ, García-Rey E, Vilaboa N. Immunoregulatory potential of mesenchymal stem cells following activation by macrophage-derived soluble factors. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1).
 77. Yamamichi K, Fukuda T, Sanui T, Toyoda K, Tanaka U, Nakao Y, et al. Amelogenin induces M2 macrophage polarisation via PGE_2/cAMP signalling pathway. *Arch Oral Biol*. 2017;83:241–51.
 78. Kulesza A, Paczek L, Burdzinska A. The Role of COX-2 and PGE_2 in the Regulation of Immunomodulation and Other Functions of Mesenchymal Stromal Cells. Vol. 11, *Biomedicines*. 2023.
 79. Liu L, Ge D, Ma L, Mei J, Liu S, Zhang Q, et al. Interleukin-17 and prostaglandin E_2 are involved in formation of an M2 macrophage-dominant microenvironment in lung cancer. *J Thorac Oncol*. 2012;7(7):1091–100.
 80. Kheirkhah AH, Shahcheraghi SH, lotfi M, lotfi M, Raeisi S, Mirani Z. Mesenchymal Stem Cell Derived-Exosomes as Effective Factors in Reducing Cytokine Storm Symptoms of COVID-19. *Protein Pept Lett*. 2021;
 81. Nath Neerukonda S, Egan NA, Patria J, Assakhi I, Tavlarides-Hontz P, Modla S, et al. Comparison of exosomes purified via ultracentrifugation (UC) and Total Exosome Isolation (TEI) reagent from the serum of Marek's disease virus (MDV)-vaccinated and tumor-bearing chickens. *J Virol Methods*. 2019;
 82. Cao M, Zhao Y, Chen T, Zhao Z, Zhang B, Yuan C, et al. Adipose mesenchymal stem cell-derived exosomal microRNAs ameliorate polycystic ovary syndrome by protecting against metabolic disturbances. *Biomaterials*. 2022;288.
 83. Al-Khafaji ASK, Hade IM, Al-Naqqash MA, Alnefaie GO. Potential effects of miR-146 expression in relation to malondialdehyde as a biomarker for oxidative damage in patients with breast cancer. *World Acad Sci J*. 2023;5(1).
 84. Testa U, Pelosi E, Castelli G, Labbaye C. miR-146 and miR-155: Two key modulators of immune response and tumor development. Vol. 3, *Non-coding RNA*. 2017.
 85. Quinn SR, O'Neill LA. A trio of microRNAs that control Toll-like receptor signalling. *Int Immunol*. 2011;23(7):421–5.
 86. Luo Q, Guo D, Liu G, Chen G, Hang M, Jin M. Exosomes from MiR-126-Overexpressing Adscs Are Therapeutic in Relieving Acute Myocardial Ischaemic Injury. *Cell Physiol Biochem*. 2018;44(6):2105–16.

87. Coulson DJ, Bakhashab S, Latief JS, Weaver JU. MiR-126, IL-7, CXCR1/2 receptors, inflammation and circulating endothelial progenitor cells: The study on targets for treatment pathways in a model of subclinical cardiovascular disease (type 1 diabetes mellitus). *J Transl Med.* 2021;19(1).
88. Foo JB, Looi QH, Chong PP, Hassan NH, Yeo GEC, Ng CY, et al. Comparing the Therapeutic Potential of Stem Cells and their Secretory Products in Regenerative Medicine. Vol. 2021, *Stem Cells International.* 2021.
89. Kim JY, Rhim WK, Yoo YI, Kim DS, Ko KW, Heo Y, et al. Defined MSC exosome with high yield and purity to improve regenerative activity. *J Tissue Eng.* 2021;12.
90. Driscoll J, Yan IK, Patel T. Development of a Lyophilized Off-the-Shelf Mesenchymal Stem Cell-Derived Acellular Therapeutic. *Pharmaceutics.* 2022;14(4).
91. Sung SE, Seo MS, Kim YI, Kang KK, Choi JH, Lee S, et al. Human Epidural AD-MSC Exosomes Improve Function Recovery after Spinal Cord Injury in Rats. *Biomedicines.* 2022;10(3).
92. Yujiao Xie, Xiawei Xu, Jie Lin, Yanping Xu, Jing Wang, Yong Ren AW. Effective Separation of Cancer-Derived Exosomes in Biological Samples for Liquid Biopsy: Classic Strategies and Innovative Development. *Glob Challenges.* 2022;6(20):1–16.
93. Salhab O, Khayat L, Alaaeddine N. Stem cell secretome as a mechanism for restoring hair loss due to stress, particularly alopecia areata: narrative review. Vol. 29, *Journal of Biomedical Science.* 2022.
94. Xia J, Minamino S, Kuwabara K, Arai S. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends [Internet].* 2019;13(4):299–307. Available from: www.biosciencetrends.com
95. Warnecke A, Harre J, Staecker H, Prenzler N, Strunk D, Couillard-Despres S, et al. Extracellular vesicles from human multipotent stromal cells protect against hearing loss after noise trauma in vivo. *Clin Transl Med.* 2020;10(8).
96. Sari MI, Jusuf NK, Munir D, Putra A, Putra IB, Bisri T, et al. Mesenchymal stem cell secretome therapy on inflammation: A systematic review. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2024;12(1):39–49.
97. Bedja D, Yan W, Lad V, Iocco D, Sivakumar N, Bandaru VVR, et al. Inhibition of glycosphingolipid synthesis reverses skin inflammation and hair loss in ApoE^{-/-} mice fed western diet. *Sci Reports* 2018 81 [Internet]. 2018 Jul;8(1):1–11. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-28663-9>
98. Raftopoulou S, Rapti A, Karathanasis D, Evangelopoulos ME, Mavragani

- CP. The role of type I IFN in autoimmune and autoinflammatory diseases with CNS involvement. Vol. 13, *Frontiers in Neurology*. 2022.
99. Dai Z, Sezin T, Chang Y, Lee EY, Wang EHC, Christiano AM. Induction of T cell exhaustion by JAK1/3 inhibition in the treatment of alopecia areata. *Front Immunol*. 2022;13.
 100. Choi N, Hwang J, Kim DY, Kim J, Song SY, Sung JH. Involvement of DKK1 secreted from adipose-derived stem cells in alopecia areata. *Cell Prolif*. 2024;57(3).
 101. Heffron SP, Weinstock A, Scolaro B, Chen S, Sansbury BE, Marecki G, et al. Platelet-conditioned media induces an anti-inflammatory macrophage phenotype through EP4. *J Thromb Haemost*. 2021;19(2):562–73.
 102. 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.
 103. Gupta AK, Talukder M, Venkataraman M, Bamimore MA. Minoxidil: a comprehensive review. Vol. 33, *Journal of Dermatological Treatment*. 2022. p. 1896–906.
 104. Shen Y, Zhu Y, Zhang L, Sun J, Xie B, Zhang H, et al. New Target for Minoxidil in the Treatment of Androgenetic Alopecia. *Drug Des Devel Ther*. 2023;17:2537–47.
 105. Shadi Z. Compliance to Topical Minoxidil and Reasons for Discontinuation among Patients with Androgenetic Alopecia. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023;13(5):1157–69.
 106. Chien WY, Huang HM, Kang YN, Chen KH, Chen C. Stem cell–derived conditioned medium for alopecia: A systematic review and meta-analysis. Vol. 88, *Journal of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgery*. 2024. p. 182–92.
 107. Chen H, Yamaguchi S, Wang Y, Kaminogo K, Sakai K, Hibi H. Cytoprotective role of human dental pulp stem cell-conditioned medium in chemotherapy-induced alopecia. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15(1).
 108. Fukuoka H, Suga H. Hair Regeneration Treatment Using Adipose-Derived Stem Cell Conditioned Medium: Follow-up With Trichograms. *Eplasty*. 2015;15:e10.
 109. Benitez LL, Carver PL. Adverse Effects Associated with Long-Term Administration of Azole Antifungal Agents. Vol. 79, *Drugs*. 2019. p. 833–53.
 110. Yum S, Jeong S, Kim D, Lee S, Kim W, Yoo JW, et al. Minoxidil induction of VEGF is mediated by inhibition of HIF-prolyl hydroxylase. *Int J Mol Sci*. 2018;19(1).

111. 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.
112. Godse K, De A, Vedamurthy M, Shankar DSK, Shah B, Girdhar M, et al. Low- dose Oral Minoxidil in the Treatment of Alopecia: Evidence and Experience- based Consensus Statement of Indian Experts. Vol. 15, *International Journal of Trichology*. 2023. p. 91–7.
113. 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.
114. Ni J, Ye D, Zeng W, Ma S, Wang Z, Kuang Y, et al. Promotion of hair growth by a conditioned medium from human umbilical cord mesenchymal stem cells cultivated in a 3D scaffold of gelatin sponge. *Eur J Med Res*. 2024 May;29(1):270.
115. Hati IP. Pengaruh Pemberian Gel Topikal *SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS* (Sh-Mscs) Terhadap Ekspresi Gen IL-10 DAN TNF- α . Universitas Islam Sultan Agung; 2023.
116. Arindani NDP. Pengaruh Pemberian Krim Ekstrak Kacang Kedelai Terhadap Kadar Matrix Metalloproteinase-1 (MMP-1) Dan Interleukin-6 (IL-6) (Studi Eksperimental in Vivo Pada Mencit Balb/c yang diinduksi sinar UVB). Unissula; 2023.
117. Waśkiel-Burnat A, Osińska M, Salińska A, Blicharz L, Goldust M, Olszewska M, et al. The role of serum th1, th2, and th17 cytokines in patients with alopecia areata: Clinical implications. Vol. 10, *Cells*. 2021.
118. Darlan DM, Munir D, Putra A, Jusuf NK. MSCs-released TGF β 1 generate CD4+CD25+Foxp3+ in T-reg cells of human SLE PBMC. *J Formos Med Assoc*. 2020;(xxxx):1–7.
119. Lai P, Weng J, Guo L, Chen X, Du X. Novel insights into MSC-EVs therapy for immune diseases. *Biomark Res*. 2019;7(1):1–10.
120. Shibabaw T, Molla MD, Teferi B, Ayelign B. Role of ifn and complements system: Innate immunity in sars-cov-2. *J Inflamm Res*. 2020;13:507–18.
121. Tomaszewska K, Kozłowska M, Kaszuba A, Lesiak A, Narbutt J, Zalewska-Janowska A. Increased Serum Levels of IFN- γ , IL-1 β , and IL-6 in Patients with Alopecia Areata and Nonsegmental Vitiligo. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
122. Arjunan P, Lin X, Tang Z, Du Y, Kumar A, Liu L, et al. VEGF-B is a potent antioxidant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(41):10351–6.
123. Kustiyah AR, Putra A, Nasihun T, Ramasamy R. The Normal Ratio of

- Th17 and Th1 Post-mesenchymal Stem Cells Coculture with PBMCs of Systemic Lupus Erythematosus Patients. Open Access Maced J Med Sci [Internet]. 2021 Apr;9(A):169–76. Available from: <https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/5604>
124. Dong L, Li L, Song Y, Fang Y, Liu J, Chen P, et al. MSC-derived immunomodulatory extracellular matrix functionalized electrospun fibers for mitigating foreign-body reaction and tendon adhesion. Acta Biomater. 2021;133:280–96.

