

**PENGARUH SECRETOME HYPOXIA
MESENCHYMAL STEM CELLS (SH-MSCs) DAN
MINOXIDIL TERHADAP KADAR VEGF DAN IL-1
(Studi Eksperimental In Vivo Tikus Jantan Galur Wistar Model
Alopecia Like)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Okty Prahalanitya

MBK.24.23.010459

PROGAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG

SEMARANG

2025

TESIS

**PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL
STEM CELLS (SH-MSCs) DAN MINOXIDIL TERHADAP
KADAR VEGF DAN IL-1
(Studi Eksperimental In Vivo Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia
Like)**

Disusun oleh:
Okty Prahalanitya
MBK.24.23.010459

Telah Dipertahankan Didepan 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
NIP. 210.113.160


Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.
NIP. 210.101.059

Mengetahui,

Ketua Progam Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung




Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS
NIP. 210.113.160

PERNYATAAN

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

Semarang, 25 Agustus 2025

Yang menyatakan



dr. Okty Prahalanitya

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Okty Prahalanitya
Tempat, tanggal lahir : Semarang, 31 Oktober 1986
Agama : Islam
Jenis kelamin : Perempuan

B. Riwayat pendidikan

1. SDN 1 Kayu ambon Lembang : Lulus tahun 1998
2. SMPN 2 Cibinong, Kab. Bogor : Lulus tahun 2001
3. SMAN 3 Bogor, Kota Bogor : Lulus tahun 2004
4. S1 FK Universitas Diponegoro : Lulus tahun 2010
5. S2 Magister Administrasi RS : Lulus tahun 2014
6. Sp.PK Universitas Diponegoro : Lulus tahun 2020
7. S2 Biomedik FK UNISSULA : 2024 - Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Ayah : Bambang Wasgito((Alm)
2. Ibu : Evi Riyani
3. Suami : Rezza Arief Budy Artha
4. Anak : Ravy Prabawa Budy Artha
Herestika Areztya Artha
Rizki Fathyan Budy Artha
Takisha Almahira Artha

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan YME, atas berkat, kesehatan, dan rahmat karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal tesis dengan judul “PENGARUH SECRETOME HYPOXIA MESENCHYMAL STEM CELLS (SH-MSCs) DAN MINOXIDIL TERHADAP KADAR VEGF DAN IL-1”. Penelitian tesis ini merupakan salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Agung, Semarang.

Penulisan proposal tesis ini dilakukan dengan motivasi memberikan kebermanfaatan keilmuan yang dimiliki oleh penulis dalam mencari kegunaan terapi injeksi sekretom sel punca hipoksia mesenkimal pada pasien *alopecia androgen like* di Indonesia.

Penulis mendapatkan banyak dukungan, bimbingan, dan bantuan moral maupun material dari berbagai pihak selama penulisan proposal tesis ini, sehingga penulis dengan tulus ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. **Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.Hum.** selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung, Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada penulis dalam rangka menyelesaikan Magister Ilmu Biomedik.
2. **Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.F.** selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Semarang atas kesempatan dan fasilitas yang

diberikan kepada penulis dalam rangka menyelesaikan Magister Ilmu Biomedik.

3. **Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B., FINACS** selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik dan sebagai pembimbing I atas bimbingan, perhatian, dukungan, doa, kebijaksanaan serta fasilitas yang diberikan selama menempuh pendidikan dan penyusunan proposal tesis ini yang memudahkan mahasiswa dalam pelaksanaan penelitian.
4. **Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes.** selaku pembimbing II yang telah memberikan perhatian, bimbingan, motivasi, dukungan, dan arahan, serta saran yang konstruktif selama penyusunan proposal tesis ini.
5. **Sivitas Akademika Progam Studi Magister Ilmu Biomedik** yang telah memberikan saran, motivasi, bimbingan, perhatian, doa, dan dukungan selama proses pendidikan dan penyusunan proposal tesis.
6. **Orang tua, suami, dan putra-putri** tercinta yang telah memberikan semangat, perhatian dan dukungan kepada penulis melalui rangkaian doa dan kasih sayang yang tiada henti.
7. **Teman-teman Magister Ilmu Biomedik Angkatan 19**, yang telah memberikan dukungan, bantuan dan kerja sama selama menempuh pendidikan.
8. **Seluruh pihak** yang telah memberikan bantuan maupun dukungan selama pendidikan maupun penelitian ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis memohon maaf untuk hal-hal yang kurang berkenan selama penelitian, maupun selama menempuh pendidikan. Penulis juga menyadari

banyaknya kekurangan dalam proposal tesis ini, sehingga penulis mengharapkan saran dan masukan agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kedokteran dan pelayanan kesehatan. Akhirnya penulis mengucapkan banyak terima kasih, semoga Tuhan YME melimpahkan berkah dan rahmat kepada kita semua.

Semarang, Agustus 2025
Okty Prahalanitya
MBK.24.23.01045



DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR BAGAN	xvi
ABSTRAK.....	1
BAB1. PENDAHULUAN.....	3
1.1. Latar belakang.....	3
1.2. Rumusan Masalah.....	6
1.3. Tujuan penelitian.....	7
1.4. Manfaat penelitian.....	7
1.5. Orisinalitas penelitian	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Alopecia	10
2.1.1. Siklus rambut	10
2.1.2. Definisi alopecia areata (AA)	13
2.1.3. Patogenesis alopecia areata.....	13
2.1.4. Manifestasi klinis alopecia areata	17
2.1.5. Minoxidil sebagai terapi alopecia areata	18
2.1.6. Secretome pada alopecia	20
2.2. Vascular endothelial growth factor (VEGF)	22
2.2.1. Jalur persinyalan VEGF	22
2.2.2. Peran VEGF dalam alopecia areata	27
2.2.3. Pengaruh secretome terhadap VEGF	28
2.3. Interleukin 1 (IL-1)	29

2.3.1.	Jalur persinyalan IL-1	31
2.3.2.	Peran IL-1 dalam <i>alopecia areata</i>	33
2.3.3.	Pengaruh <i>secretome</i> terhadap IL-1.....	34
BAB III. KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS		37
3.1.	Kerangka teori.....	40
3.2.	Kerangka konsep.....	41
3.3.	Hipotesis.....	41
BAB IV. METODE PENELITIAN		42
4.1.	Jenis dan rancangan penelitian.....	42
4.2.	Variabel penelitian dan definisi operasional	43
4.2.1.	Variabel penelitian	43
4.2.2.	Definisi operasional	43
4.3.	Subjek dan sampel penelitian.....	45
4.3.1.	Subjek penelitian.....	45
4.3.2.	Sampel penelitian	45
4.4.	Teknik pengambilan sampel penelitian.....	46
4.5.	Besar sampel	46
4.6.	Alat dan bahan	47
4.6.1.	Alat.....	47
4.6.2.	Bahan	48
4.7.	Cara penelitian	49
4.7.1.	Perolehan <i>ethical clearance</i>	49
4.7.2.	Prosedur isolasi <i>mesenchymal stem cells</i> dari <i>umbilical cord</i>	49
4.7.3.	Pembuatan preparat dan perlakuan pada subjek percobaan	49
4.7.4.	Terminasi dan koleksi sampel jaringan.....	51
4.7.5.	Analisis <i>enzyme-linked immunosorbent assay</i> (ELISA).....	53
4.8.	Tempat dan waktu penelitian	54
4.9.	Analisa data.....	54
4.10.	Alur penelitian.....	55
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		56
5.1.	Hasil Penelitian	56

5.1.1.	Hasil Validasi SH-MSC	56
5.1.2.	Kadar IL-1	60
5.1.3.	Kadar VEGF	62
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		71
6.1.	Kesimpulan	71
6.2.	Saran.....	71
DAFTAR PUSTAKA		72

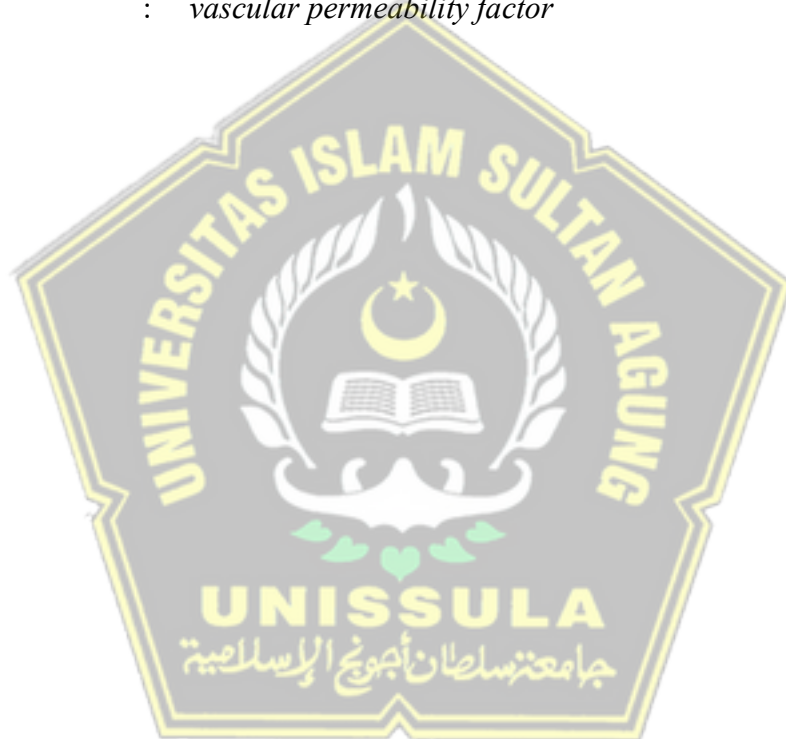


DAFTAR SINGKATAN

AA	: <i>alopecia areata</i>
AGA	: <i>alopecia androgenik</i>
Al(OH) ₃	: aluminium hidroksida
BSC	: <i>bio safety cabinet</i>
CD	: <i>cluster of differentiation</i>
COX-2	: <i>cyclooxygenase-2</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DNP-BSA	: <i>dinitrophenyl-bovine serum albumin</i>
DP	: dermal papilla
DPCs	: <i>dermal papilla cells</i>
EBV	: <i>Epstein-Barr virus</i>
EGF	: <i>epidermal growth factor</i>
ERK	: <i>extracellular signal-regulated kinase</i>
FBS	: <i>fetal bovine serum</i>
hDPCs	: <i>human hair dermal papilla cells</i>
HE	: hematoksin-eosin
HGF	: <i>hepatocyte growth factor</i>
HIF-1 α	: <i>hypoxia inducible factor 1 alpha</i>
HLA	: <i>human leukocyte antigen</i>
hMSCs	: <i>human mesenchymal stem cells</i>
HRP	: <i>horseradish peroxidase</i>
HSPG	: heparan sulfat proteoglikan
hUCB-MSCs	: <i>human umbilical cord blood mesenchymal stem cells</i>
IFN- γ	: <i>interferon-gamma</i>
IGF	: <i>insulin-like growth factor</i>
IGFBP-1	: <i>insulin-like growth factor binding protein-1</i>
IKK	: I κ B kinase
IL-1	: interleukin 1

IL-10	: interleukin 10
IL-1Ra	: <i>interleukin-1 receptor antagonist</i>
IR-1	: <i>interleukin-1 receptor</i>
IRAK	: <i>IL-1R-associated kinase</i>
I κ B	: inhibitor NF- κ B
JAKi	: <i>janus kinase inhibitors</i>
JAK-STAT	: <i>janus kinases and signal transducers and activators of transcription</i>
LES	: lupus eritematosus sistemik
LSF	: <i>least significant difference</i>
MAPK	: <i>mitogen-activated protein kinase</i>
MiRNA	: <i>micro ribonucleic acid</i>
MSCs	: <i>mesenchymal stem cells</i>
MyD88	: <i>myeloid differentiation primary response 88</i>
NaCl	: <i>natrium clorida</i>
NBF	: <i>neutral buffered formalin</i>
NFATc2	: <i>nuclear factor of activated T cells 2</i>
NF- κ B	: <i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NRP1	: <i>neuropilin-1</i>
OD	: <i>optical density</i>
PBS	: <i>phospat buffer saline</i>
PDGF	: <i>platelet delivered growth factor</i>
PI3K	: <i>phosphoinositide 3-kinase</i>
PRISMA	: <i>preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses</i>
PRP	: <i>platelet-rich plasma</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
SCCR	: <i>Stem Cell and Cancer Research</i>
SH-MSCs	: <i>secretome hypoxia mesenchymal stem cells</i>
TAK 1	: <i>TGF-β-activated kinase 1</i>

TCR	:	<i>T cell receptor</i>
TE	:	<i>telogen effluvium</i>
TFF	:	<i>tangensial flow filtration</i>
TGF- β	:	<i>transforming growth factor beta</i>
TNF- α	:	<i>tumor necrosis factor-alpha</i>
TRAF6	:	<i>tumor necrosis factor receptor-associated factor</i>
UC-MSCs	:	<i>umbilical cord mesenchymal stem cells</i>
VEGF	:	<i>vascular endothelial growth factor</i>
VPF	:	<i>vascular permeability factor</i>



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Orisinalitas penelitian	9
Tabel 2. Definisi operasional variabel	44
Tabel 3. Data Hasil Analisis Kadar IL-1.....	61
Tabel 4. Perbedaan rerata kadar IL-1 antar dua kelompok	62
Tabel 5. Data Hasil Analisis Kadar VEGF.....	64
Tabel 6. Perbedaan rerata kadar VEGF1 antar dua kelompok	64



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Siklus pertumbuhan rambut	12
Gambar 2. Jalur persinyalan VEGF	27
Gambar 3. Validasi MSC	57
Gambar 4. Validasi Alopecia Like.....	60
Gambar 5. Grafik Kadar IL-1.....	63
Gambar 6. Grafik Kadar VEGF.....	65



DAFTAR BAGAN

	Halaman
Bagan 1. Kerangka teori.....	40
Bagan 2. Kerangka konsep.....	41
Bagan 3. Skema rancangan penelitian	42
Bagan 4. Alur penelitian.	55



ABSTRAK

Latar Belakang: Alopecia adalah kondisi kerontokan rambut terkait stres oksidatif dan inflamasi, ditandai penurunan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) serta peningkatan Interleukin-1 (IL-1). Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) memiliki potensi regeneratif melalui efek antiinflamasi dan angiogenik. Minoxidil sebagai terapi standar meningkatkan vaskularisasi folikel rambut. Kombinasi SH-MSCs dan Minoxidil diharapkan memberi efek sinergis terhadap regulasi VEGF dan IL-1.

Metode: Penelitian eksperimental in vivo dilakukan pada 28 tikus jantan Wistar yang diinduksi fluconazole selama 14 hari untuk menciptakan model alopecia-like. Hewan uji dibagi empat kelompok: K1 (kontrol negatif, NaCl 0,9%), K2 (kontrol positif, Minoxidil 5%), K3 (perlakuan SH-MSCs), dan K4 (kombinasi SH-MSCs + Minoxidil 5%). Terapi diberikan selama 7 hari berupa Minoxidil 5% topikal dan/atau injeksi intradermal SH-MSCs 100 μ L. Setelah terminasi, jaringan kulit diperiksa untuk kadar VEGF dan IL-1. Data dianalisis dengan ANOVA dan uji lanjut Tamhane.

Hasil: Terdapat perbedaan bermakna kadar VEGF dan IL-1 antar kelompok ($p < 0,001$). Kelompok K4 menunjukkan VEGF tertinggi dan IL-1 terendah ($p < 0,001$) dibanding kelompok lain. Hal ini menunjukkan kombinasi SH-MSCs dan Minoxidil memberikan efek sinergis dalam meningkatkan angiogenesis dan menekan inflamasi.

Kesimpulan: Kombinasi SH-MSCs dan Minoxidil lebih efektif dibandingkan terapi tunggal dalam meningkatkan VEGF dan menurunkan IL-1 pada tikus model alopecia-like.

Kata Kunci: Alopecia, SH-MSCs, Minoxidil, VEGF, IL-1, Secretome, Tikus Wistar.

ABSTRACT

Background: Alopecia is a hair loss condition associated with oxidative stress and inflammation, characterized by reduced Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and elevated Interleukin-1 (IL-1). Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) exhibit regenerative potential through anti-inflammatory and angiogenic effects. Minoxidil, the standard alopecia therapy, enhances hair follicle vascularization. Their combination is expected to provide synergistic effects on VEGF and IL-1 regulation.

Methods: An in vivo experimental study was conducted on 28 male Wistar rats induced with fluconazole for 14 days to establish an alopecia-like model. Rats were randomized into four groups: K1 (negative control, NaCl 0.9%), K2 (positive control, 5% Minoxidil), K3 (SH-MSCs), and K4 (SH-MSCs + 5% Minoxidil). Treatments were administered for 7 days using daily topical 5% Minoxidil and/or intradermal injection of 100 μ L SH-MSCs. Skin tissue was collected post-termination for VEGF and IL-1 measurement. Data were analyzed using ANOVA followed by Tamhane post hoc tests.

Results: Significant differences in VEGF and IL-1 levels were observed among groups ($p < 0.001$). The combination group (K4) demonstrated the highest VEGF and the lowest IL-1 levels compared to other groups ($p < 0.001$). These findings indicate that SH-MSCs combined with Minoxidil synergistically enhance angiogenesis while reducing inflammation.

Conclusion: The combination of SH-MSCs and Minoxidil is more effective than single treatments in increasing VEGF expression and decreasing IL-1 levels in alopecia-like rat models.

Keywords: Alopecia, SH-MSCs, Minoxidil, VEGF, IL-1, Secretome, Wistar rats.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Alopecia merupakan kondisi terjadinya kerontokan rambut sebagian, *diffuse*, ataupun berupa bercak pada lokasi tertentu, kerontokan dapat bersifat reversibel. Banyak masalah yang ditimbulkan akibat kondisi ini, seperti depresi, ketidakpercayaan diri dan terdapat gejala ikutan lainnya karena autoimun sebagai penyakit yang mendasari. *Alopecia* dapat terjadi pada populasi pria dan wanita yang dipengaruhi oleh berbagai faktor., Menurut data yang dirilis oleh Komisi Kesehatan Nasional Tiongkok, lebih dari 250 juta orang di Tiongkok menderita kerontokan rambut, yang berarti 1 dari 6 orang mengalami *alopecia*, dan 84% kondisi tersebut dialami sebelum usia 30 tahun. Beberapa jenis klasifikasi kerontokan rambut diantaranya: *alopecia androgenik* (AGA), *alopecia areata* (AA), *telogen effluvium*, dan *alopecia sikatrikial*. *Alopecia areata* adalah kondisi autoimun yang umum, ditandai dengan kerontokan rambut tanpa jaringan parut, dan dapat muncul dalam berbagai bentuk.¹⁻³ Use the "Insert Citation" button to add citations to this document.

Prevalensi AA secara global diperkirakan sekitar 1-2% dapat terjadi sekali selama seumur hidup, dengan variasi dilaporkan pada populasi yang berbeda, bahkan prevalensi dapat mencapai 7-30 kasus per 1000 pasien. Studi epidemiologi terkini di Baqubah, Irak, melaporkan prevalensi *alopecia* pada kalangan pria lebih tinggi (71%) daripada wanita (29%), kondisi tersebut dapat mempengaruhi individu dari segala usia, tapi paling sering didiagnosis pada anak-anak dan dewasa muda,

dengan insidensi puncak antara usia 15 dan 29 tahun.^{2,3} Kerontokan rambut dapat mempunyai dampak psikologis, sekitar 50% pasien anak dengan AA mengalami gangguan depresi mayor.⁴

Kerontokan rambut dapat disebabkan oleh berbagai faktor, termasuk faktor genetik, hormonal, stres, nutrisi, serta penyakit, atau gangguan medis seperti autoimun. Patogenesis AA bersifat kompleks dan melibatkan serangan autoimun pada folikel rambut, terutama dimediasi oleh limfosit T. Proses patogenesis AA dimulai dengan pengaktifan sel T, yang berfungsi sebagai mediator utama dalam respon imun. Sel T tersebut mengeluarkan sitokin proinflamasi yang merangsang inflamasi di sekitar folikel rambut. Sitokin seperti *interferon-gamma* (IFN- γ) dan *tumor necrosis factor-alpha* (TNF- α) berperan dalam meningkatkan ekspresi molekul adhesi dan kemokin, yang menarik lebih banyak sel imun ke lokasi folikel rambut, sehingga menyebabkan kerusakan folikel rambut dan mengganggu siklus pertumbuhan rambut, yang berakhir pada kerontokan.⁵⁻⁷ Sitokin utama, seperti Interleukin-1 (IL-1) dan *vascular endothelial growth factor* (VEGF) berperan penting dalam proses ini.^{8,9}

Protein VEGF berperan dalam meningkatkan permeabilitas vaskular dan memfasilitasi migrasi sel-sel imun ke area yang terinflamasi. Peningkatan kadar VEGF pada AA dapat menyebabkan pembentukan pembuluh darah baru di sekitar folikel rambut, yang berpotensi membantu peningkatan nutrisi dan menyalurkan faktor pertumbuhan untuk pertumbuhan rambut. Penelitian menunjukkan bahwa VEGF tidak hanya berperan dalam angiogenesis, tetapi juga dalam proses inflamasi jaringan. Hipoksia akibat kerusakan jaringan dapat memicu ekspresi *hypoxia*

inducible factor 1 alpha (HIF-1 α), yang berfungsi meningkatkan produksi VEGF. Peningkatan kadar HIF-1 α pada AA dapat mengaktifkan inflamasi dan kerusakan folikel rambut, dengan meningkatkan kadar VEGF.^{8,10}

Interleukin-1 dikenal sebagai mediator proinflamasi, yang berkontribusi pada berbagai kondisi autoimun, termasuk AA. Penelitian Waskiel Burnat pada tahun 2021, menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar IL-1 β dalam jaringan yang mempengaruhi. Peningkatan kadar IL-1 berhubungan dengan aktivasi sel T dan produksi sitokin proinflamasi lain, seperti TNF- α dan IFN- γ . Aktivasi sel T menyebabkan infiltrasi sel-sel imun ke dalam folikel rambut, yang mengganggu siklus pertumbuhan rambut dan menyebabkan kerontokan rambut yang khas pada AA. Interleukin 1 β berfungsi mengatur ekspresi molekul adhesi dan kemokin, yang menarik lebih banyak sel imun ke lokasi inflamasi, sehingga mengontrol kondisi AA. Interleukin 1 juga berperan dalam memicu produksi sitokin inflamasi lain, dengan meningkatkan produksi IL-6 dan IL-8, yang berkontribusi pada proses inflamasi luas di sekitar folikel rambut. Interleukin 1 memperkuat respon imun yang terjadi pada AA.¹¹

Terapi kombinasi pada AA dengan penggunaan *secretome* dari sel yang diberi perlakuan hipoksia dan minoxidil topikal menawarkan potensi dalam mengatasi *alopecia*. Sekretom mengeluarkan berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang dapat memodulasi respons inflamasi dan meningkatkan regenerasi jaringan.¹² Minoxidil, sebagai agen topikal yang telah terbukti efektif dalam memperlambat kerontokan rambut dan merangsang pertumbuhan baru, juga dapat meningkatkan kadar VEGF dan mempunyai efek antiinflamasi yang menurunkan kadar IL-1.^{13,14}

Kombinasi kedua terapi tersebut diharapkan dapat meningkatkan efektivitas pengobatan dan vaskularisasi folikel rambut dan mengurangi inflamasi yang berkontribusi pada AA. Penelitian menunjukkan bahwa *secretome hypoxia mesenchymal stem cells* (SH-MSCs) secara signifikan dapat mempengaruhi ekspresi VEGF dan IL-1, yang berpotensi menghasilkan hasil yang lebih baik pada AA. Sekretom dari sel-sel tersebut dapat membantu memulihkan keseimbangan sitokin proinflamasi dan antiinflamasi, sehingga meningkatkan pertumbuhan kembali rambut dan mengurangi keparahan kondisi AA. Kombinasi SH-MSCs dan minoxidil topikal dapat menjadi pendekatan sinergis untuk mengobati AA. Minoxidil bekerja secara lokal untuk merangsang folikel rambut, sedangkan efek sistemik SH-MSCs dapat mengatasi proses autoimun yang mendasarinya.¹⁵⁻¹⁷

Penelitian ini bertujuan membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*, dan memberikan dasar ilmiah yang kuat dalam pengembangan terapi baru yang lebih efektif dalam pengelolaan AA.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah terdapat pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

1.3. Tujuan penelitian

1.3.1. Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

1.3.2. Tujuan khusus

1. Membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar IL 1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.
2. Membuktikan pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

1.4. Manfaat penelitian

1.4.1. Manfaat pendidikan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah mengenai pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

1.4.2. Manfaat kesehatan

Memberikan informasi ilmiah dari manfaat kombinasi injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal sebagai salah satu alternatif terapi *alopecia*.

1.4.3. Manfaat kepada masyarakat

Memberikan wawasan, dan harapan baru bagi penderita *alopecia* dalam terapi AA dengan pendekatan *secretome hipoxia*.

1.4.4. Pengembangan penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan teori bagi penelitian selanjutnya, yang berkaitan dengan pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

1.5. Orisinalitas penelitian

Berdasarkan kajian yang telah dilakukan, Tabel 1 merupakan penelitian terkait pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like*.

Penelitian ini berbeda dengan penelitian sebelumnya, belum terdapat penelitian yang mengkaji pengaruh kombinasi injeksi SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar VEGF dan IL-1 pada *alopecia areata*, berdasarkan studi eksperimental *in vivo* pada tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia-like* antar kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 1. Orisinalitas penelitian

No	Peneliti dan judul	Sampel dan metode	Hasil penelitian
1.	Rahmanita M, <i>et al.</i> , 2023. ¹⁶ <i>The effect of topical gel secretome hypoxic mesenchymal stem cells (SH-MSCs) on IL-6 and TGF-β gene expression (experimental study in male Wistar alopecia-like rat models induced by fluconazole)</i>	- Sampel tikus jantan galur <i>Wistar</i> dalam 4 kelompok: sehat, kontrol negatif, kelompok perlakuan SH-MSCs 10% dan 20% dalam gel 200 mg/tikus/hari. - Pemeriksaan ekspresi IL-6 dan ekspresi <i>transforming growth factor beta</i> (TGF-β). - Metode <i>post test only control group design</i>. - Analisis data dengan Uji <i>One-Way ANOVA</i> dan <i>Kruskall-Wallis</i>.	Pemberian SH-MSCs dosis 10% dan 20% dalam gel 200 mg dapat menurunkan ekspresi IL-6 ($p=0,000$). Pemberian SH-MSC dosis 20% meningkatkan ekspresi TGF- β pada tikus yang mengalami <i>alopecia</i> .
2.	Jessica C, <i>et al.</i> , 2023. ¹⁵ <i>Therapeutic potential of secretome from hypoxic-mesenchymal stem cell (SH-MSC) in regulating platelet delivered growth factor (PDGF) and IL-1β gene expression in fluconazole-related alopecia</i>	- Sampel 6 tikus perkelompok untuk kontrol positif plasebo (K1), kelompok kontrol negatif yang diobati dengan flukonazol + plasebo (K2), dan gel topikal 10% dan 20% SH-MSC (K3 dan K4). - Pemeriksaan ekspresi PDGF dan IL-1β. - Metode <i>post test only control group design</i>. - Analisis data dengan Uji <i>One-Way ANOVA</i> dan <i>Kruskall-Wallis</i>.	Terdapat peningkatan PDGF dan penurunan kadar IL-1 β (uji LSD, <i>least significant difference</i> $p<0,001$). Ekspresi PDGF tertinggi pada K4, perubahan 1,71 $\pm$ 0,31 kali lipat, diikuti K3 dengan perubahan 0,806 $\pm$ 0,12 kali lipat. Ekspresi mRNA IL-1 β menurun signifikan pada K4, perubahan 1,41 $\pm$ 0,20 kali lipat, diikuti K3 dengan perubahan 2,71 $\pm$ 0,23 kali lipat (uji <i>Mann-Whitney</i> $p<0,001$). Kultur bersama hUCB-MSC meningkatkan kelangsungan hidup dan protein terkait induksi rambut yang diatur dari <i>human hair dermal papilla cells</i> (hDPC) secara <i>in vitro</i> . hUCB-MSC menginduksi <i>insulin-like growth factor binding protein-1</i> (IGFBP-1) dan VEGF; dan meningkatkan pertumbuhan rambut melalui mekanisme parakrin.
3.	Dong Ho, <i>et al.</i> , 2018. ¹⁷ <i>Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells (hUCB-MSCs) engineered to overexpress growth factors accelerate outcomes in hair growth</i>	Identifikasi faktor-faktor yang bertanggung jawab atas pertumbuhan rambut. Efek hUCB-MSC pada pertumbuhan rambut secara <i>in vivo</i>, dan hUCB-MSCs meningkatkan onset anagen dan neogenerasi folikel rambut.	Pemberian flukonazol harian di hari ke 7 meningkatkan fase <i>telogen effluvium</i> .
4.	Thompson G, <i>et al.</i> , 2019. ⁹ <i>Examination of fluconazole-induced alopecia in an animal model and human cohort</i>	- Sampel: tikus dan pasien dengan alopecia yang disebabkan oleh flukonazol. - Metode <i>cohort</i>.	
5.	Majewski M, <i>et al.</i> , 2024. ¹² <i>The role of minoxidil in treatment of alopecia areata: a systematic review and meta-analysis</i>	- Efektifitas minoxidil pada AA pada 3 kelompok: (1) minoxidil topikal 5%, (2) minoxidil topikal <5%, dan (3) minoxidil oral. Respon terapi didefinisikan sebagai pertumbuhan kembali rambut terminal. 372 pasien (338 dengan minoxidil topikal dan 34 minoxidil oral). Waktu pengobatan antara 2 hingga 60 minggu (rata-rata: 27 minggu). - Tinjauan sistematis dan metaanalisis dengan pedoman PRISMA (<i>preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses</i>)	Sebanyak 13 (dari 244) artikel dianalisis lebih lanjut. Tingkat respons untuk minoxidil topikal 5% sebesar 82% (95% CI 0,7–0,93), minoxidil topikal <5% sebesar 58% (95% CI 0,5–0,67), dan minoxidil oral sebesar 82%. Minoxidil topikal dan oral bermanfaat dalam monoterapi pada AA.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Alopecia*

2.1.1. Siklus rambut

Folikel rambut mempunyai ukuran dan bentuk yang berbeda-beda tergantung letak lokasinya, walaupun folikel rambut tersebut mempunyai komponen struktural sama. Batang rambut diproduksi oleh sel-sel matriks yang tumbuh dari bulbus rambut, dan melanosit yang bertanggung jawab atas pewarnaan dan pemberi pigmen dari warna rambut. Pertumbuhan batang rambut yang korteksnya terdiri dari filamen intermediat dan protein, dipengaruhi oleh diferensiasi dan gerakan rambut keatas. Sel papila dermal pada dasar folikel mengendalikan jumlah sel matriks dan ukuran rambut.¹⁸

Pertumbuhan rambut mempunyai empat fase utama, yaitu (1) fase anagen (pertumbuhan), (2) fase katagen (regresi), (3) fase telogen (istirahat), dan (4) fase eksogen (kerontokan). Folikel rambut setiap individu mengalami siklus secara independen pada setiap folikel rambut dan mengalami 10-30 siklus pertumbuhan rambut seumur hidup.

Kerontokan secara normal terjadi pada 100-150 helai rambut dan terjadi pada fase telogen per hari, walau sebagian besar individu mempunyai kurang lebih 100.000 rambut di kulit kepala. Beberapa rambut berada dalam fase anagen, sementara rambut yang lain sedang dalam fase istirahat atau

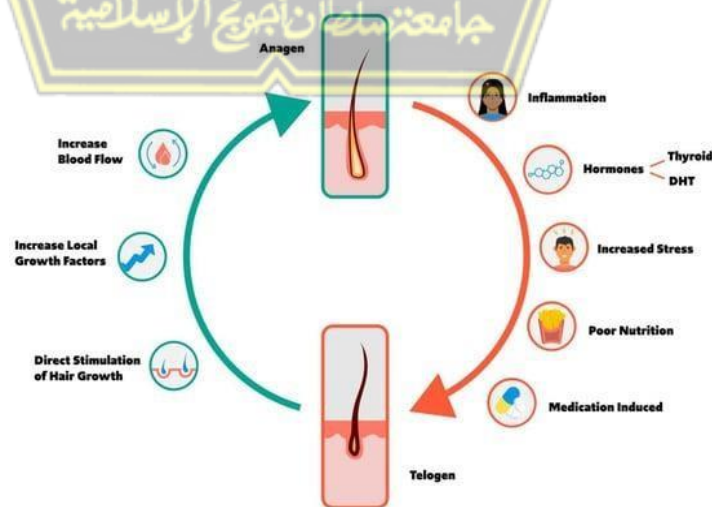
rontok, kepadatan dan keseimbangan terhadap jumlah helai rambut total setiap individu tetap relatif stabil dalam kondisi sehat.^{18,19}

Fase anagen merupakan fase terpanjang dari siklus rambut dan berlangsung sekitar 2-8 tahun, meskipun demikian berbagai faktor dapat mempengaruhi transisi anagen ke telogen, serta mengurangi pertumbuhan dan mendorong kondisi fase istirahat, sehingga terjadi kerontokan. Fase anagen ditandai dengan pertumbuhan seluruh batang rambut dari folikel rambut, sehingga panjang rambut tanpa pemotongan secara langsung sesuai dengan panjang anagen. Folikel rambut kulit kepala berada dalam anagen selama 2-8 tahun, folikel rambut alis berada dalam anagen hanya selama 2-3 bulan. Panjang fase anagen berkurang seiring bertambahnya usia, menghasilkan rambut yang lebih lemah dan lebih tipis dari waktu ke waktu. Folikel pada fase anagen juga akan menurun seiring bertambahnya usia. Kerontokan yang terjadi pada fase anagen diakibatkan oleh penghentian dini pertumbuhan anagen, atau terhentinya anagen sekunder akibat cedera.^{18,19}

Fase katagen merupakan transisi dari anagen ke telogen, yang berlangsung sekitar 2 minggu. Folikel rambut akan mengalami regresi dan terlepas dari papila dermal selama fase katagen, populasi sel mesenkimal dalam folikel rambut berkurang dan mengakibatkan apoptosis sel epitel di bulbus folikel. Siklus folikel berakhir jika papila dermal tidak dapat mencapai tonjolan selama katagen, yang mengakibatkan kerontokan rambut.^{18,19}

Fase telogen merupakan fase istirahat, berlangsung sekitar 2-3 bulan. Sekitar 9% dari total rambut kulit kepala berada dalam fase telogen, dibandingkan dengan 40–50% dari total rambut di batang tubuh. Rambut baru mulai tumbuh di pangkal folikel rambut pada saat rambut lama sedang istirahat, yang mendorong rambut lama keluar. Kerontokan dan penipisan rambut yang berlebihan dapat terjadi, jika fase anagen memasuki fase istirahat sebelum waktunya, yang dikenal sebagai *telogen effluvium* (TE). Pengurangan persentase folikel rambut yang berada dalam fase telogen dapat mengendalikan kerontokan rambut.^{18,19}

Fase eksogen menggambarkan berakhirnya fase telogen dan dimulainya fase anagen. Selama periode tersebut, rambut yang baru tumbuh terus tumbuh ke atas, mendorong rambut lama keluar, sehingga pada akhirnya rambut tersebut rontok. Penggambaran siklus pertumbuhan rambut akan terjadi keseimbangan antara anagen dan telogen, beserta faktor yang mempengaruhi siklus pertumbuhan rambut (Gambar 1).^{18,19}



Gambar 1. Siklus pertumbuhan rambut

Beserta faktor-faktor yang dapat mempengaruhi transisi dari fase anagen ke telogen vs. fase telogen ke anagen.

2.1.2. Definisi *alopecia areata* (AA)

Alopecia areata adalah penyakit autoimun yang menyebabkan kerontokan rambut secara tiba-tiba pada area tertentu di tubuh, terutama kulit kepala dan wajah. Penyakit tersebut dapat muncul dalam berbagai bentuk, berdasarkan klasifikasinya AA dapat terbagi menjadi (1) *alopecia parcialis* atau *patchy*, dimana kehilangan rambut dalam satu atau beberapa bercak kecil berbentuk bulat, atau oval pada kulit kepala atau area tubuh lainnya, (2) *alopecia totalis*, dimana kehilangan seluruh rambut di kulit kepala, dan (3) *alopecia universalis*, dimana kehilangan rambut di seluruh tubuh, termasuk alis, bulu mata, dan rambut tubuh lain. Faktor genetik dan lingkungan diyakini berperan dalam perkembangan penyakit tersebut. Penelitian menunjukkan bahwa pasien AA sering mempunyai riwayat penyakit atopik, yang menunjukkan hubungan antara atopi dan AA. Kondisi penyakit akibat infeksi *helicobacter pylori* juga telah diidentifikasi sebagai faktor yang mungkin berkontribusi terhadap perkembangan AA, melalui mekanisme mimetisme molekuler yang dapat memicu reaksi autoimun.^{3,20,21}

2.1.3. Patogenesis *alopecia areata*

Patogenesis AA merupakan proses yang kompleks dan multifaktorial, yang melibatkan interaksi antara faktor genetik, lingkungan, dan imun. *Alopecia areata* dikenal sebagai penyakit autoimun, yang ditandai dengan kehilangan rambut yang tidak bersifat jaringan parut, dan mekanismenya masih belum sepenuhnya dipahami. Penelitian menunjukkan bahwa AA

terjadi akibat serangan sistem imun terhadap folikel rambut yang sedang dalam fase anagen (pertumbuhan).^{3,22}

Patogenesis AA paling umum adalah akibat faktor imunologis dan autoimunitas. Sistem imun tubuh pada AA menyerang folikel rambut yang secara normal tidak dikenali oleh tubuh, menganggapnya sebagai antigen asing yang perlu dihancurkan. Proses tersebut adalah inti dari sifat autoimun penyakit AA. Folikel rambut dalam kondisi normal mempunyai kemampuan untuk melindungi diri dari serangan sel-sel imun; Namun, pada pasien dengan AA, terjadi gangguan pada mekanisme tersebut, terdapat peningkatan infiltrasi limfosit T, khususnya sel T *cluster of differentiation* 8+ (CD8+) sitotoksik, yang menyerang folikel rambut. Sel-sel T merespons antigen pada permukaan folikel rambut dan menyebabkan inflamasi yang mempengaruhi pertumbuhan rambut. Infiltrasi sel-sel imun lain, termasuk CD4+ limfosit T, serta sel-sel dendritik, terjadi di sekitar folikel rambut yang terpengaruh.^{22,23}

Respon imun selanjutnya memproduksi berbagai sitokin proinflamasi, seperti IFN- γ dan TNF- α yang berperan utama dalam pathogenesis AA. Sitokin tersebut memicu respon inflamasi yang meningkatkan aktivasi sel T, merangsang produksi lebih banyak sel T sitotoksik dan menyebabkan kerusakan pada folikel rambut, yang berkontribusi terhadap kerusakan folikel rambut dan penghentian fase anagen. Peran inflamasi folikuler, infiltrasi sel T di sekitar folikel rambut menyebabkan inflamasi yang

merusak folikel, meskipun folikel rambut tetap utuh dan bisa memulai kembali pertumbuhannya ketika inflamasi mereda.^{23,24}

Penyebab genetik pada AA, dimana sebagian besar individu mempunyai riwayat keluarga dengan kondisi serupa atau gangguan autoimun lain. Gen-gen yang terlibat termasuk gen *human leukocyte antigen* (HLA) dan *t-cell receptor* (TCR). Penelitian menunjukkan bahwa terdapat hubungan kuat antara AA dan varian genetik pada daerah HLA, khususnya HLA-DR dan HLA-DQ, yang berperan dalam pengaturan respons imun tubuh. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa varian tertentu pada gen TCR bisa mempengaruhi predileksi terhadap AA. Hal tersebut mengarah pada aktivasi sel T yang tidak terkontrol, yang menyebabkan penyerangan folikel rambut. Penelitian menunjukkan bahwa individu dengan riwayat keluarga penyakit autoimun mempunyai risiko lebih tinggi untuk mengembangkan AA. Beberapa varian genetik yang terlibat dalam respons imun dan inflamasi telah diidentifikasi, yang dapat meningkatkan kerentanan terhadap kondisi tersebut.²⁵

Faktor lingkungan juga diyakini mempunyai peran dalam memicu atau memperburuk AA pada individu yang rentan secara genetik. Beberapa pemicu lingkungan yang diketahui meliputi stres psikologis, dimana mekanismenya masih belum sepenuhnya dipahami. Stres emosional atau fisik yang signifikan bisa memicu atau memperburuk kondisi AA. Stres dapat meningkatkan produksi hormon kortisol dan mempengaruhi sistem kekebalan tubuh, yang mungkin memperburuk reaksi autoimun terhadap

folikel rambut. Beberapa penelitian menunjukkan hubungan antara infeksi virus, seperti infeksi *Epstein-Barr virus* (EBV) dan timbulnya AA. Infeksi dapat merangsang sistem kekebalan tubuh dan menyebabkan respons autoimun terhadap folikel rambut. Faktor lain termasuk paparan bahan kimia atau alergen tertentu dapat meningkatkan risiko pengembangan AA pada individu yang sudah rentan secara genetik.^{22,25,26}

Proses patofisiologis AA pada level molekuler mengarah pada peran abnormal dari sistem kekebalan tubuh dalam pengaturan kerontokan rambut, dimana infiltrasi sel T CD8+ sitotoksik mengidentifikasi dan menyerang folikel rambut dalam fase anagen. Proses tersebut dikenal sebagai serangan autoimun terhadap folikel rambut, yang menyebabkan perubahan pada siklus pertumbuhan rambut. Serangan sel T menyebabkan folikel rambut mengalami penghentian sementara dalam fase anagen dan beralih ke fase telogen (fase istirahat), yang menyebabkan kerontokan rambut. Fenomena ‘Regresi Folikel’ adalah folikel tidak mengalami kerusakan permanen, dan dalam beberapa kasus, folikel dapat memulai kembali produksi rambut setelah respons imun mereda, meskipun folikel rambut dapat rusak oleh inflamasi.^{22,27}

Penelitian terbaru mengidentifikasi peran penting dari jalur pengiriman sinyal *janus kinases and signal transducers and activators of transcription* (JAK-STAT) dalam perkembangan AA. Terapi yang menargetkan jalur JAK-STAT, seperti *janus kinase inhibitors* (JAKi), telah

menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam merangsang pertumbuhan rambut pada penderita AA.^{23,27}

Beberapa studi menunjukkan bahwa protease yang diproduksi oleh sel T mungkin berperan dalam pemecahan protein yang ada pada folikel rambut, sehingga mempermudah penyerangan sel T terhadap folikel tersebut. Penurunan ekspresi β -katenin, yang merupakan komponen penting dalam jalur sinyal Wnt, telah ditemukan pada folikel rambut pasien dengan AA. Penurunan tersebut dapat mengganggu perkembangan folikel rambut dan siklus pertumbuhan rambut, yang berkontribusi pada kehilangan rambut. Penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas sitokin, terutama IFN- γ , dapat menyebabkan atrofik dan distrofik folikel rambut, yang merupakan ciri khas dari AA yang persisten. Terdapat hubungan AA dengan gangguan autoimun lain, seperti tiroiditis autoimun, lupus eritematosus sistemik (LES), diabetes tipe 1, dan vitiligo. Hal tersebut mengindikasikan bahwa individu dengan predisposisi genetik terhadap gangguan autoimun mempunyai risiko lebih tinggi untuk mengembangkan AA.^{23,27}

2.1.4. Manifestasi klinis *alopecia areata*

Manifestasi klinis AA bervariasi, mulai dari kehilangan rambut yang terbatas pada satu atau beberapa area dimana munculnya area botak berbentuk bulat atau oval dengan batas tegas pada kulit kepala atau area tubuh lain. Area tersebut biasanya tidak disertai inflamasi atau bekas luka

(*alopecia parcialis*), hingga kehilangan seluruh rambut di kulit kepala (*alopecia totalis*), atau seluruh tubuh (*alopecia universalis*). Salah satu bentuk yang kurang dikenal adalah AA *incognita*, yang ditandai dengan kehilangan rambut yang difus dan cepat, sering kali tanpa adanya lesi yang jelas. *Alopecia areata* dalam beberapa kasus dapat disertai dengan gejala lain, seperti perubahan pada kuku, dimana individu mengalami perubahan pada kuku, seperti *pitting* (cekungan kecil) atau garis-garis horizontal dapat menunjukkan keterlibatan sistemik. Beberapa individu terdapat sensasi seperti kesemutan, gatal, atau terbakar di area kulit yang mengalami kerontokan rambut sebelum munculnya bercak botak. Penelitian menunjukkan bahwa AA dapat terjadi pada individu dari segala usia, tetapi paling umum terjadi pada orang dewasa muda, dengan puncak insiden antara usia 21-40 tahun.²⁸⁻³⁰

2.1.5. Minoxidil sebagai terapi *alopecia areata*

Terapi untuk *alopecia areata* bervariasi, tergantung pada tingkat keparahan dan luas kehilangan rambut. Beberapa pendekatan terapeutik yang umum digunakan, meliputi kortikosteroid topikal, terapi sistemik, dan terapi minoxidil. Minoxidil yang awalnya dikembangkan sebagai obat antihipertensi, telah digunakan secara topikal untuk mengatasi AA, meskipun minoxidil sering direkomendasikan sebagai terapi untuk *alopecia androgene*. Beberapa studi menunjukkan bahwa minoxidil dapat membantu merangsang pertumbuhan rambut pada beberapa pasien, tetapi hasilnya

bervariasi dan tidak selalu konsisten. Penelitian El Taieb, 2017 menggunakan minoxidil 5% dibandingkan dengan plasma kaya trombosit, menunjukkan bahwa meskipun terdapat beberapa pertumbuhan rambut, efektivitasnya tidak dapat dipastikan secara definitif.²¹

Minoxidil bekerja dengan melebarkan pembuluh darah arteriol, yang meningkatkan aliran darah dan pasokan oksigen ke area yang terkena *alopecia*. Peningkatan aliran darah tersebut membantu mengatasi hipoksia yang mungkin terjadi pada folikel rambut, yang terpengaruh oleh proses autoimun dalam AA, di mana sel-sel imun menyerang folikel rambut dan menyebabkan kerusakan. Peningkatan aliran darah oleh minoxidil dapat memberikan nutrisi dan oksigen yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan rambut yang sehat. Minoxidil juga dapat memodulasi siklus pertumbuhan rambut.^{31,32}

Penelitian Shen Y, 2023 menunjukkan bahwa minoxidil dapat memperpendek fase telogen (istirahat) dan memperpanjang fase anagen (pertumbuhan) dari siklus rambut.³³ Minoxidil dapat merangsang pertumbuhan rambut baru dan memperbaiki kepadatan rambut di area yang terkena AA dengan mempercepat transisi dari fase telogen ke fase anagen. Minoxidil juga dapat mempengaruhi ekspresi faktor pertumbuhan dan sitokin yang terlibat dalam proses regenerasi folikel rambut.³³

Beberapa studi menunjukkan bahwa minoxidil dapat meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF dan *platelet-derived growth factor* (PDGF), yang berperan penting dalam angiogenesis dan proliferasi

sel-sel folikel rambut. Peningkatan kadar faktor pertumbuhan tersebut dapat membantu memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh reaksi autoimun dan mendukung pertumbuhan rambut yang lebih baik.^{34,35}

2.1.6. *Secretome pada alopecia*

Penggunaan *secretome* sel punca mesenkimal (MSCs, *mesenchymal stem cells*), khususnya yang berasal dari tali pusat, menunjukkan potensi terapeutik yang menjanjikan dalam regenerasi jaringan, termasuk dalam konteks *alopecia*. *Secretome* terdiri dari berbagai faktor pertumbuhan, sitokin, dan *exosome* atau molekul bioaktif yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan dan regenerasi sel. *Umbilical cord mesenchymal stem cells* (UC-MSCs), khususnya dari *Wharton's jelly*, diketahui mempunyai kemampuan diferensiasi yang tinggi dan potensi regeneratif yang signifikan.³⁶ Penelitian menunjukkan bahwa UC-MSCs dapat memproduksi berbagai faktor pertumbuhan seperti TGF- β , *epidermal growth factor* (EGF), dan VEGF yang berperan penting dalam proses penyembuhan dan regenerasi jaringan. Sel UC-MSCs juga bersifat imunomodulasi kuat, yang memungkinkan pengurangan inflamasi dan mempercepat proses penyembuhan.^{37,38} *Secretome* dari UC-MSCs mengandung berbagai biomolekul yang dapat merangsang pertumbuhan folikel rambut dan memperbaiki kerusakan jaringan kulit terkait dengan *alopecia*. Penelitian oleh Sabapathy, 2014 menunjukkan bahwa MSCs yang berasal dari *Wharton's jelly* dapat meningkatkan penyembuhan luka dan pertumbuhan

rambut, berkat kemampuannya untuk memproduksi sitokin dan faktor pertumbuhan yang mendukung proliferasi sel, *secretome* tersebut juga dapat menginduksi sel progenitor menjadi sel-sel yang berperan dalam regenerasi folikel rambut.³⁹ Peran MSCs dalam regenerasi folikel rambut adalah kemampuan untuk berinteraksi dengan berbagai jenis sel dalam mikro lingkungan folikel rambut, termasuk dermal papilla (DP) dan epidermal *stem cell*. Dermal papilar berfungsi sebagai pengatur utama dalam siklus pertumbuhan rambut dengan memberikan sinyal yang diperlukan untuk memulai fase anagen, fase pertumbuhan rambut aktif. Sel hUC-MSCs dapat mempengaruhi aktivitas DP melalui sekresi faktor pertumbuhan dan sitokin, yang berkontribusi pada regenerasi folikel rambut. Mekanisme aksi *secretome* UC-MSCs dalam konteks *alopecia* melibatkan beberapa jalur sinyal yang berkontribusi pada proliferasi dan migrasi sel. Faktor-faktor yang terdapat dalam *secretome* dapat memodulasi jalur *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K)/AKT, yang berperan dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel. Mekanisme utama *secretome* hMSCs berkontribusi terhadap patogenesis AA adalah melalui modulasi respons imun. Sel hMSCs mempunyai kemampuan untuk memproduksi sitokin antiinflamasi, seperti interleukin 10 (IL-10) dan TGF- β yang dapat menghambat aktivasi sel T dan mengurangi inflamasi di sekitar folikel rambut.^{40–42} Penelitian menunjukkan bahwa *secretome* dari hMSCs dapat mengurangi infiltrasi sel T CD8⁺ yang berperan dalam kerusakan folikel rambut pada AA, sehingga membantu memulihkan "*privilege imun*" folikel rambut yang terganggu.^{3,43}

Secretome hMSCs juga merangsang regenerasi folikel rambut melalui faktor pertumbuhan yang terkandung di dalamnya, seperti VEGF dan *hepatocyte growth factor* (HGF) yang dapat meningkatkan angiogenesis dan proliferasi sel-sel folikel rambut dan penting untuk pemulihan pertumbuhan rambut. Peningkatan aliran darah dan pasokan nutrisi ke folikel rambut oleh *secretome* hMSCs membantu mengatasi kerusakan yang disebabkan oleh reaksi autoimun dalam AA. Penelitian juga menunjukkan bahwa hMSCs dapat berinteraksi dengan sel-sel dendritik dan sel-sel imun lain, yang dapat memodulasi respons imun secara keseluruhan. Misalnya, hMSCs dapat mengubah fenotipe sel dendritik dari proinflamasi menjadi antiinflamasi, yang dapat mengurangi aktivasi sel T dan menghambat proses autoimun yang menyebabkan AA.^{11,44}

2.2. *Vascular endothelial growth factor* (VEGF)

2.2.1. Jalur persinyalan VEGF

Vascular endothelial growth factor adalah salah satu faktor pertumbuhan yang berperan dalam angiogenesis. Angiogenesis adalah proses terbentuknya pembuluh darah baru dimana sebelumnya berasal dari pembuluh darah yang sudah ada sebelumnya. *Vascular endothelial growth factor* juga mempunyai kontribusi terhadap peningkatan permeabilitas vaskular yang menjadi salah satu peran utama berbagai proses fisiologis, diantaranya termasuk penyembuhan luka dan pertumbuhan rambut. Ekspresi VEGF pada *alopecia* berfungsi untuk memberi pasokan suplai

darah yang cukup ke folikel rambut, yang sangat penting untuk pertumbuhan rambut yang sehat.⁴⁵

Berbagai peran VEGF serta implikasi terapeutik sering dipelajari, walau lebih dikenal berperan dalam angiogenesis, beberapa isoform, khususnya VEGF-A. Isoform VEGF-A berperan penting untuk mendorong proliferasi dan migrasi sel endotel, selanjutnya akan memfasilitasi pembentukan pembuluh darah baru atau dikenal dengan angiogenesis. Isoform VEGF-A merupakan pengatur angiogenesis, suatu proses yang penting bagi kondisi fisiologis dan patologis. Kompleksitas VEGF-A ditegaskan oleh berbagai isoformnya, yang berasal dari gen VEGF-A. Isoform utama meliputi VEGF-A121, VEGF-A165, dan VEGF-A189, dimana masing-masing menunjukkan karakteristik struktural dan fungsional berbeda yang mempengaruhi perannya dalam angiogenesis dan perilaku terhadap sel endotel. Isoform VEGF-A dihasilkan melalui penyambungan alternatif, khususnya pada ekson 8, yang menghasilkan produksi varian pro-angiogenik dan anti-angiogenik. Isoform VEGF-A165 adalah isoform yang paling banyak ditemukan dan dikenal mempunyai sifat angiogenik yang dominan, terutama melalui interaksinya dengan reseptor VEGF, khususnya VEGFR-2.^{46,47}

Isoform VEGF-A165b menunjukkan sifat antiangiogenik, memodulasi respons sel endotel dan permeabilitas vaskular. Ekspresi diferensial dari isoform tersebut dapat secara signifikan mempengaruhi respons angiogenik dalam berbagai kondisi patologis pada kondisi penyakit

diantaranya kanker dan retinopati diabetik. Afinitas pengikatan isoform VEGF-A ke komponen dan reseptor matriks ekstraseluler merupakan penentu penting aktivitas biologis. Misalnya, VEGF-A165 dan VEGF-A189 dapat mengikat heparan sulfat proteoglikan (HSPG) dan neuropilin-1 (NRP1), yang meningkatkan kemampuan pensinyalan, menstabilkan isoform dan juga memfasilitasi interaksi dengan VEGFR- 2, yang mengarah ke kaskade pensinyalan bertujuan meningkatkan proliferasi, migrasi, dan kekuatan sel endotel. Kemampuan isoform tersebut untuk berinteraksi dengan koreseptor seperti NRP1 sangat penting untuk potensi angiogenik yang mempengaruhi transportasi dan sinyal terhadap VEGFR-2.⁴⁸⁻⁵⁰

Mekanisme yang digunakan isoform VEGF-A untuk mengatur angiogenesis bersifat multifaset. Isoform VEGF-A melibatkan modulasi jalur pensinyalan intraseluler, termasuk aktivasi *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dan jalur PI3K, yang penting untuk fungsi sel endotel. Regulasi faktor transkripsi yang spesifik terhadap isoform, seperti *Nuclear Factor of Activated T cells 2* (NFATc2) yang dimainkan oleh berbagai isoform VEGF-A dalam ekspresi gen endotel.⁵¹

Keseimbangan antara isoform pro-angiogenik dan anti-angiogenik dalam kondisi patologis dapat menentukan hasil angiogenesis. Keberadaan isoform anti-angiogenik, seperti VEGF-A165b dapat menangkal efek tersebut, yang menunjukkan jalur terapi potensial untuk mengelola angiogenesis abnormal. Interaksi antara isoform tersebut lebih rumit oleh regulasi diferensial di bawah berbagai rangsangan fisiologis dan patologis,

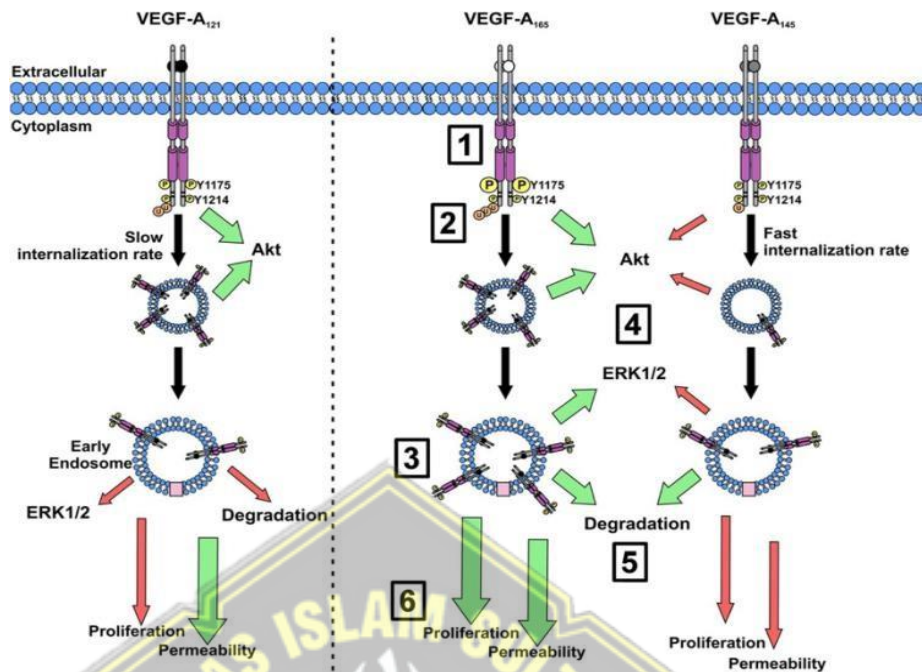
menggarisbawahi pentingnya konteks dalam hasil fungsional. Peran isoform VEGF-A melampaui angiogenesis; juga terlibat dalam proses inflamasi. Misalnya, isoform tertentu dapat memodulasi interaksi endotel-leukosit, sehingga mempengaruhi respons inflamasi. Peran ganda VEGF-A ini dalam angiogenesis dan inflamasi menyoroti signifikansinya dalam berbagai kondisi penyakit.⁴⁹⁻⁵¹

Ekspresi VEGF sangat penting, sebagai protein yang berfungsi dalam pensinyalan untuk merangsang pembentukan pembuluh darah sepanjang hidup. Protein tersebut berperan dalam pensinyalan dinamis yang menginduksi proses awal vaskular atau angiogenesis. VEGF memberi sinyal dan berperan utama dalam perkembangan embrionik dengan upaya angiogenesis. Pensinyalan tersebut akan ditangkap ke reseptor VEGF spesifik yang kemudian menimbulkan respons seluler.⁴⁹⁻⁵¹

Protein VEGF terdiri dari empat keluarga subkelompok yang dikenal VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C dan VEGF-D merupakan kelas *vascular factor* yang menjadi dasar meningkatnya pembuluh darah primer sistemik. Pengembangan protein VEGF ditemukan pada pertengahan tahun 1970-an oleh Dr. Harold Dvorak VF yang awalnya ditemukan dengan nama *vascular permeability factor* (VPF), saat itu dianggap bahwa VPF adalah satu-satunya faktor yang menginduksi sel darah. Faktor permeabilitas tersebut menyebabkan sel tumor menjadi hiperpermeabel, meskipun kemudian Harold Dvorak memurnikan protein dan menggunakan antibodi pada tumor tikus, lalu menemukan akumulasi cairan yang tersumbat, selanjutnya

menjelaskan fungsi permeabilitas dari VEGF. Protein yang ditemukan sebagai rantai peptida glikoprotein secara khusus, dimana struktur gabungan protein sendiri dikodekan oleh gen vegf yang menghasilkan sifat dan pola ekspresi protein VEGF. Pengembangan penjelasan ikatan antara VEGF dan VEGFR 1, 2, dan 3. Kejadian ikatan, khususnya pensinyalan dengan VEGFR2 digunakan terutama untuk angiogenesis dan diperlukan pada pembentukan pembuluh darah, sedangkan ikatan dengan VEGFR1 dimana pensinyalan digunakan terutama pada embrionik digunakan untuk perkembangan pembuluh darah dan sel darah.^{49,51,52}

Jalur persinyalan VEGF melibatkan interaksi antara VEGF dan reseptor spesifiknya, yaitu VEGFR-1 dan VEGFR-2. Serangkaian reaksi biokimia diaktifkan yang mengarah kepada angiogenesis, ketika VEGF mengikat reseptor ini. Pembentukan pembuluh darah baru meningkatkan aliran darah ke folikel rambut. Peningkatan permeabilitas pembuluh darah, memungkinkan nutrisi dan faktor pertumbuhan lebih mudah mencapai folikel rambut, mempengaruhi proliferasi dan migrasi sel-sel yang terlibat dalam proses regenerasi folikel rambut. Aktivasi jalur akan mengaktifkan berbagai jalur sinyal intraseluler yang berkontribusi pada proliferasi sel, migrasi, dan peningkatan permeabilitas vaskular (Gambar 2).^{53,54}



Gambar 2. Jalur persinyalan VEGF

2.2.2. Peran VEGF dalam alopecia areata

Peran VEGF dalam AA diantaranya sebagai regulasi pada pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis, dimana VEGF berfungsi sebagai perangsang pembentukan pembuluh darah di sekitar folikel rambut. Pembuluh darah yang sehat sangat penting untuk menyediakan oksigen dan nutrisi yang diperlukan bagi sel-sel folikel rambut untuk berfungsi dengan baik. Penurunan kadar VEGF telah diamati pada kulit kepala pasien dengan AA, yang dapat mengganggu suplai darah ke folikel rambut dan berkontribusi terhadap kerontokan rambut. Peran VEGF juga mempengaruhi dampak pada siklus pertumbuhan rambut dimana dalam regulasi siklus pertumbuhan rambut VEGF dapat mempromosikan proliferasi dan migrasi sel-sel di dermal papilla (DPCs), yang merupakan sel-sel kunci dalam pengaturan pertumbuhan rambut. Peningkatan ekspresi

VEGF diharapkan dapat memperbaiki siklus pertumbuhan rambut yang terganggu pada pasien AA. Interaksi VEGF dengan faktor pertumbuhan lain seperti *insulin-like growth factor* (IGF), mendukung pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel folikel rambut. Peningkatan kadar VEGF dapat mengurangi apoptosis.^{55,56}

Protein VEGF terlibat dalam proses inflamasi dan mempengaruhi migrasi sel-sel imun ke lokasi inflamasi. Protein VEGF berfungsi sebagai mediator yang menghubungkan antara proses inflamasi dan kerontokan rambut. Peran penting VEGF dalam mendukung kesehatan folikel rambut, beberapa target terapi mempunyai tujuan untuk meningkatkan kadar VEGF, seperti penggunaan *platelet-rich plasma* (PRP) atau terapi berbasis sel punca, sedang dieksplorasi sebagai pendekatan potensial untuk mengobati AA. Terapi tersebut bertujuan untuk merangsang angiogenesis dan memperbaiki suplai darah ke folikel rambut, yang dapat membantu dalam pemulihan pertumbuhan rambut.^{57,58}

2.2.3. Pengaruh *secretome* terhadap VEGF

Protein VEGF diketahui mempunyai peran kunci dalam angiogenesis dan regenerasi jaringan, yang sangat penting dalam proses penyembuhan dan pertumbuhan rambut.⁵⁹ *Mesenchymal* berasal dari *umbilical cord*, jaringan adiposa, mengandung berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang dapat mempengaruhi lingkungan mikro di sekitar folikel rambut. Penelitian menunjukkan bahwa kadar VEGF, EGF, dan IL-6 dalam

secretome sel punca adiposa lebih tinggi di area yang mengalami kebotakan daripada area yang tidak mengalami kebotakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa *secretome* dapat memberikan sinyal yang diperlukan untuk merangsang pertumbuhan folikel rambut dan meningkatkan vaskularisasi.^{60,61} Penggunaan *secretome* MSC dalam terapi AA juga menawarkan keuntungan dibandingkan dengan terapi sel hidup. *Secretome* dapat diproduksi dengan cara yang lebih sederhana dan lebih murah, serta menghindari beberapa masalah yang terkait dengan terapi hUSC yang dipengaruhi oleh kelangsungan hidup sel, jumlah dan risiko infeksi. Penelitian Salhab, 2022 menunjukkan bahwa *secretome* MSCs mempunyai efek antiinflamasi yang dapat membantu mengurangi inflamasi yang sering terjadi pada kondisi AA, sehingga pemberian *secretome* mempengaruhi proses regenerasi folikel rambut. *Secretome* menunjukkan potensi untuk meningkatkan regenerasi rambut dengan cara yang lebih aman dan efektif daripada terapi konvensional seperti minoxidil dan *finasteride* dimana *secretome* dapat merangsang diferensiasi sel punca folikel rambut dan meningkatkan penyembuhan luka, yang merupakan aspek penting dalam mengatasi kondisi AA.^{13,60,62}

2.3. Interleukin 1 (IL-1)

Interleukin 1 adalah salah satu sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam proses inflamasi. Terdapat dua bentuk isoform utama dari IL-1, yaitu IL-1 α dan IL-1 β yang berfungsi serupa tetapi berbeda dalam cara

produksi dan pengaktifan. Interleukin 1α terdapat dalam bentuk terikat membran sel dan dilepaskan dalam jumlah kecil, biasa ketika terjadi kerusakan atau kematian sel, ditemukan dalam bentuk aktif di dalam sel. Interleukin 1β diproduksi sebagai pro-form (prekursor) yang tidak aktif dan membutuhkan pemrosesan proteolitik oleh inflammasom untuk menjadi aktif. Interleukin 1β akan dilepaskan ke sirkulasi dan berfungsi dalam tubuh. Kedua isoform tersebut berikatan dengan reseptor IL1-IR1 (reseptor IL-1 tipe 1) pada permukaan sel target, yang mengarah pada aktivasi berbagai jalur pensinyalan dalam sel IL-1. Interleukin 1 merupakan sitokin proinflamasi penting yang memainkan peran penting dalam berbagai proses fisiologis dan patologis, termasuk AA.^{59,63}

Peran IL-1 dalam proses inflamasi diantaranya aktivasi respon inflamasi dimana IL-1 berfungsi sebagai mediator utama dalam memicu dan mempertahankan respon inflamasi. Makrofag dan sel dendritik akan melepaskan IL-1 ke dalam sirkulasi, ketika terjadi kerusakan jaringan atau infeksi, memicu rekrutmen sel imun seperti neutrofil dan limfosit ke lokasi inflamasi. Sitokin IL-1 juga berperan dalam meningkatkan ekspresi molekul adhesi pada sel endotel, yang memfasilitasi migrasi leukosit ke jaringan yang terinflamasi. Sitokin IL-1 juga meningkatkan produksi sitokin lain, seperti IL-6, TNF- α , dan IL-8, yang berperan dalam mempercepat reaksi imun terhadap infeksi atau cedera jaringan, yang merupakan sitokin penting dalam respon inflamasi dan dapat berkontribusi pada pengembangan kondisi inflamasi kronis.^{59,63}

Sitokin IL-1 juga mempunyai efek langsung pada pembuluh darah dengan meningkatkan permeabilitas, yang memungkinkan sel-sel imun dan molekul lainnya masuk ke area yang terinfeksi atau terluka. Sitokin IL-1 juga berperan dalam pengaturan produksi prostaglandin melalui aktivasi *cyclooxygenase-2* (COX-2), yang berkontribusi pada proses inflamasi dan rasa nyeri. Efek pada hipotalamus dimana IL-1 meningkatkan produksi prostaglandin yang berperan dalam mengatur set-point suhu tubuh di hipotalamus, yang menyebabkan demam sebagai respons terhadap infeksi. Sitokin IL-1 dapat menginduksi aktivasi inflammasom, sebuah kompleks protein yang mengatur pemrosesan aktif dari pro-IL-1 β menjadi IL-1 β yang aktif. Deregulasi sinyal IL-1 dapat menyebabkan berbagai penyakit inflamasi, termasuk artritis rheumatoid, penyakit inflamasi usus, dan bahkan kanker.⁶⁴⁻⁶⁶

2.3.1. Jalur persinyalan IL-1

Keluarga IL-1 terdiri dari beberapa anggota, terutama IL-1 α dan IL-1 β , yang memberikan efeknya melalui reseptor spesifik, yang mengarah pada aktivasi berbagai jalur pensinyalan intraseluler, terutama jalur *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B) dan MAPK.⁷⁰ Jalur-jalur tersebut penting untuk memediasi respons inflamasi dan mengatur ekspresi sitokin, kemokin, dan molekul adhesi lainnya, yang secara kolektif berkontribusi pada lingkungan inflamasi.^{67,68}

Jalur Sinyal IL-1 pada Inflamasi dimulai dari pengikatan IL-1 pada IL-1R di permukaan sel target. Reseptor tersebut terdiri dari dua jenis, yaitu IL-1R1, yang berfungsi sebagai reseptor utama untuk IL-1 β , dan IL-1R2, yang berfungsi sebagai reseptor penghambat. Pengikatan IL-1 pada IL-1R1 menginduksi perubahan konformasi pada reseptor, yang memungkinkan rekrutmen adaptor protein *myeloid differentiation primary response* 88 (MyD88) ke lokasi pengikatan. Setelah IL-1 terikat pada IL-1R1, MyD88 direkrut ke kompleks reseptor. Protein MyD88 berfungsi sebagai adaptor yang menghubungkan IL-1R dengan jalur sinyal *downstream*. Aktivasi MyD88 mengarah pada rekrutmen dan aktivasi protein kinases, termasuk IL-1R-associated kinase (IRAK) dan *tumor necrosis factor receptor-associated factor 6* (TRAF6). Aktivasi TRAF6 memicu serangkaian reaksi yang mengarah pada aktivasi jalur NF- κ B. Protein TRAF6 berinteraksi dengan TGF- β -activated kinase 1 (TAK1), yang selanjutnya mengaktifkan *I κ B kinase* (IKK), IKK kemudian memfosforilasi inhibitor NF- κ B (I κ B), yang menyebabkan degradasi I κ B dan pelepasan NF- κ B dari kompleksnya. Jalur NF- κ B kemudian berpindah ke inti sel dan menginduksi ekspresi gen proinflamasi, diantaranya IL-6, IL-8, dan TNF- α .^{69,70}

Jalur NF- κ B, sinyal IL-1 juga mengaktifkan jalur MAPK, yang melibatkan *extracellular signal-regulated kinase* (ERK), p38 MAPK, dan JNK (c-Jun N-terminal kinase). Aktivasi jalur tersebut berkontribusi pada produksi sitokin proinflamasi dan mediator inflamasi lain. Jalur MAPK juga

berperan dalam regulasi transkripsi gen yang terlibat dalam respon inflamasi.⁷¹⁻⁷³

Setelah aktivasi NF- κ B dan MAPK, sel-sel yang terlibat dalam respon inflamasi, seperti makrofag dan sel endotel, mulai memproduksi berbagai sitokin dan mediator inflamasi. Sitokin IL-1 β , IL-6, IL-8, dan TNF- α adalah beberapa contoh sitokin yang dihasilkan, yang berfungsi untuk merekrut lebih banyak sel imun ke lokasi inflamasi dan memperkuat respon inflamasi. Selanjutnya proses inflamasi yang diinduksi oleh IL-1 juga melibatkan mekanisme umpan balik. Misalnya, IL-1 dapat merangsang produksi *interleukin-1 receptor antagonist* (IL-1Ra), yang berfungsi untuk menghambat efek IL-1 dengan mengikat IL-1R tanpa mengaktifkan jalur sinyal yang membantu mengatur dan membatasi respon inflamasi agar tidak berlebihan.⁷⁴

2.3.2. Peran IL-1 dalam alopecia areata

Peran IL-1 dalam AA diantaranya dalam inflamasi folikel rambut dengan memicu dan mempertahankan inflamasi di sekitar folikel, dimulai dari infiltrasi sel T, terutama CD8⁺ T cells, yang merupakan karakteristik dari AA, hal tersebut dipicu oleh IL-1, yang sebabkan kerusakan pada folikel rambut. Kadar IL-1 β yang tinggi berhubungan dengan disregulasi sitokin lain dalam AA, sehingga terjadi kerontokan rambut dan mengganggu siklus pertumbuhan rambut.⁷⁵ Interaksi antara sel-sel imun dan sel-sel folikel rambut pada peningkatan kadar IL-1 dapat menyebabkan aktivasi

sel-sel imun yang lebih besar, yang meningkatkan kerusakan pada folikel rambut dan memperburuk kondisi AA, bahkan terapi yang menargetkan IL-1, seperti antagonis reseptor IL-1 (misalnya, anakinra), sedang dieksplorasi sebagai pendekatan potensial untuk mengurangi inflamasi dan memperbaiki pertumbuhan rambut.^{23,76}

Jalur sinyal IL-1 mengarah pada aktivasi jalur NF- κ B dan MAPK, yang memproduksi berbagai sitokin proinflamasi, termasuk IL-6, IL-8, dan TNF- α . Peningkatan kadar sitokin tersebut berkontribusi pada rekrutmen lebih banyak sel imun ke lokasi inflamasi dan memperkuat respon inflamasi. Sitokin tersebut berperan penting dalam infiltrasi limfosit T CD8+ pada AA. Ketiga sitokin tersebut berkontribusi pada proses inflamasi yang terjadi di sekitar folikel rambut, meningkatkan migrasi dan aktivasi sel T, serta memperburuk kerusakan pada folikel rambut. Pemahaman yang lebih baik tentang peran sitokin ini dapat membantu dalam pengembangan terapi yang lebih efektif untuk mengatasi AA.^{11,77,78}

2.3.3. Pengaruh *secretome* terhadap IL-1

Pengaruh *secretome* terhadap IL-1 telah menjadi fokus penelitian yang signifikan dalam bidang biomedis, terutama dalam konteks inflamasi dan perbaikan jaringan. *Secretome*, yang terdiri dari berbagai sitokin, faktor pertumbuhan, dan mediator inflamasi, berperan penting dalam mengatur respon imun dan proses penyembuhan. Interleukin 1, khususnya IL-1 β ,

berfungsi sebagai mediator proinflamasi yang dapat memicu berbagai jalur sinyal dalam sel.¹⁵

Potensi penggunaan *secretome* dalam terapi penyakit autoimun, di mana IL-1 β berkontribusi pada proses inflamasi. Pengaruh *secretome* terhadap kadar IL-1 dalam AA. *Secretome* dari hMSCs mempunyai kemampuan untuk memodulasi respon inflamasi dengan mengatur produksi sitokin, termasuk IL-1. Penelitian Kuczara, 2024 menunjukkan bahwa hMSCs dapat memproduksi sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β , yang dapat menekan produksi IL-1 β oleh sel-sel imun. Pengurangan kadar IL-1, *secretome* hMSCs dapat membantu mengurangi inflamasi di sekitar folikel rambut, yang merupakan ciri khas dari AA. *Secretome* hMSCs dapat mempengaruhi interaksi antara sel-sel imun dan sel-sel folikel rambut.^{15,77}

Profil sitokin yang dihasilkan oleh sel-sel imun dapat dirubah ketika *secretome* dilepaskan, mengarah pada penurunan produksi IL-1 dan sitokin proinflamasi lainn. Hal tersebut dapat membantu memulihkan "*privilege imun*" folikel rambut yang terganggu dalam AA.¹¹ *Secretome* hMSCs juga mengandung faktor pertumbuhan yang dapat merangsang regenerasi folikel rambut dan memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh inflamasi. Peningkatan kadar faktor pertumbuhan seperti VEGF dalam *secretome* dapat meningkatkan aliran darah dan nutrisi ke folikel rambut, yang pada gilirannya dapat mengurangi produksi IL-1 dan mediator inflamasi lain menurut penelitian Wang tahun 2023.⁵⁵ Pengurangan kadar IL-1, *secretome* hMSCs dapat membantu mencegah kerusakan lebih lanjut pada folikel

rambut yang disebabkan oleh reaksi autoimun. Interleukin 1 berkontribusi pada infiltrasi sel T dan kerusakan folikel rambut, sehingga penurunan kadar IL-1 melalui pengaruh *secretome* dapat membantu memperlambat progresi AA.^{79,80}

Sel punca mesenkimal dari jaringan tali pusat manusia, terutama yang berasal dari *Wharton's Jelly*, telah menunjukkan hasil yang menjanjikan dalam pengobatan regeneratif karena sifat imunomodulator. Sel-sel tersebut dapat memodulasi respons imun dan mengurangi inflamasi dengan mengeluarkan berbagai sitokin dan faktor pertumbuhan.⁸¹ Penelitian Marino *et al.*, tahun 2019 menunjukkan bahwa MSCs yang berasal dari tali pusat dapat menurunkan regulasi sitokin proinflamasi, termasuk IL-1, dalam berbagai model eksperimental.⁸² Hal tersebut menunjukkan bahwa terapi MSCs dapat menawarkan pendekatan baru untuk mengelola alopecia dengan mengurangi kadar sitokin inflamasi dan mendorong pertumbuhan kembali rambut. Penelitian Wardoyo, 2022 yang meneliti efek MSCs dari tali pusat terhadap penanda inflamasi, ditemukan bahwa sel-sel tersebut dapat secara signifikan menurunkan kadar IL-1 pada subjek yang diobati. Penurunan kadar IL-1 sangat penting, karena dapat menyebabkan penurunan inflamasi pada folikel rambut, sehingga menciptakan lingkungan yang lebih baik untuk pertumbuhan kembali rambut.⁸³

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

Flukonazol merupakan obat anti jamur yang mempunyai efek samping kerontokan rambut, termasuk dapat digunakan pada penelitian *alopecia*, dapat dijelaskan melalui beberapa mekanisme biokimia kompleks. Penghambatan enzim *lanosterol 14- α -demethylase* yang mempengaruhi biosintesis ergosterol pada jamur, adalah salah satu mekanisme utama. Enzim tersebut mempunyai kesamaan struktur enzim pada metabolisme kolesterol, sehingga berfungsi menghambat membran sel folikel rambut dan mengurangi produksi hormon yang digunakan untuk pertumbuhan rambut. selanjutnya terjadi kondisi alopecia yang dapat memicu stres oksidatif dimana produksi spesies oksigen reaktif (ROS) melebihi kapasitas sel untuk menghilangkannya dan menyebabkan kerusakan komponen seluler penting seperti DNA, protein, dan lipid, yang pada akhirnya mengganggu fungsi normal folikel rambut dan memicu proses inflamasi.^{84,85}

Produksi ROS bertindak sebagai komponen pensinyalan penting dalam imunitas sel T dan berdampak pada aktivasi sel T. Produksi ROS juga telah terbukti sangat penting dalam memediasi beberapa aspek imunitas yang dimediasi limfosit T dari pensinyalan TCR termasuk proliferasi sel T, fungsi efektor, dan kematian. Jalur NF- κ B berperan utama dalam mengatur jumlah ROS dalam sel, ROS mempunyai berbagai peran penghambatan atau stimulasi dalam pensinyalan NF- κ B. Jalur NF- κ B bertindak sebagai mediator utama yang menginduksi transkripsi gen sitokin dan kemokin yang diperlukan untuk respons imun.^{86,87}

Penurunan kadar VEGF diamati pada kulit kepala pasien AA, yang mengganggu suplai darah ke folikel rambut dan berkontribusi terhadap kerontokan rambut. Peningkatan ekspresi VEGF, diharapkan memperbaiki siklus pertumbuhan rambut yang terganggu pada pasien AA. Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar VEGF dapat mengurangi apoptosis (kematian sel terprogram). Protein VEGF dapat berfungsi sebagai mediator yang menghubungkan antara proses inflamasi dan kerontokan rambut.^{55,56}

Jalur sinyal IL-1 mengarah pada aktivasi jalur NF- κ B dan MAPK, yang memproduksi berbagai sitokin proinflamasi, termasuk IL-6, IL-8, dan TNF- α . Peningkatan kadar sitokin tersebut berkontribusi pada rekrutmen lebih banyak sel imun ke lokasi inflamasi dan memperkuat respon inflamasi. Sitokin tersebut berperan penting dalam infiltrasi limfosit T CD8+ pada AA.^{11,78,88}

Minoxidil bekerja dengan melebarkan pembuluh darah arteriol, meningkatkan aliran darah, dan pasokan oksigen ke area yang terkena *alopecia*. Peningkatan aliran darah tersebut membantu mengatasi hipoksia pada folikel rambut yang terpengaruh oleh proses autoimun dalam AA. Minoxidil juga dapat meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan seperti VEGF dan PDGF, yang berperan penting dalam angiogenesis dan proliferasi sel-sel folikel rambut. Peningkatan kadar faktor pertumbuhan tersebut dapat membantu memperbaiki kerusakan yang disebabkan oleh reaksi autoimun dan mendukung pertumbuhan rambut yang lebih baik.^{32,34}

Sel punca *mesenchymal* yang berasal dari *umbilical cord*, jaringan adiposa, mengandung berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin yang dapat mempengaruhi

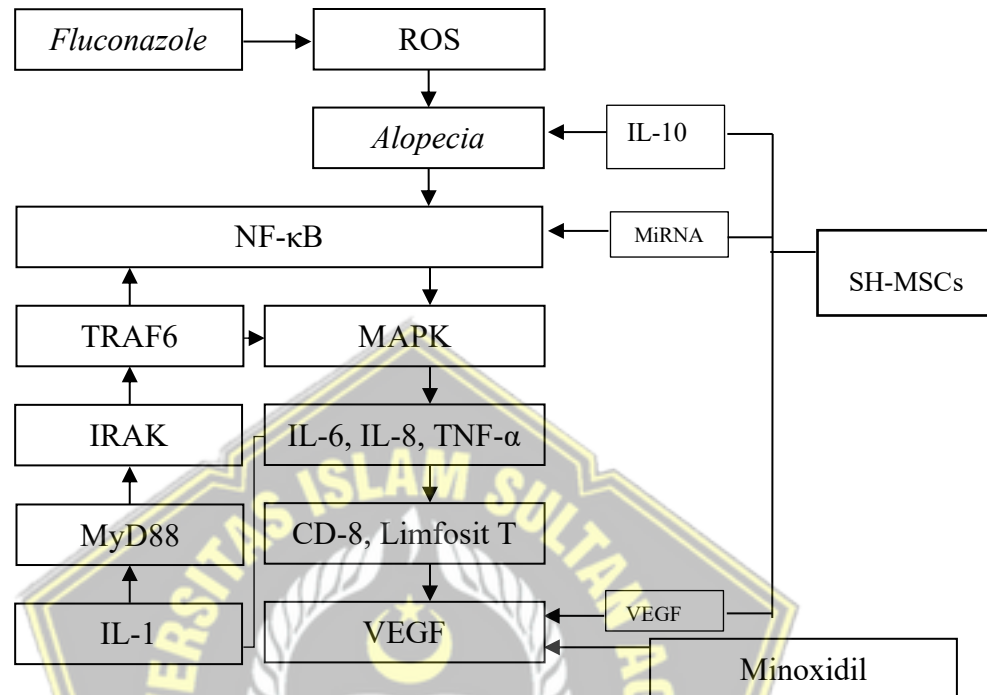
lingkungan mikro di sekitar folikel rambut. Penelitian menunjukkan bahwa kadar VEGF, EGF, dan IL-6 dalam *secretome* sel punca adiposa lebih tinggi di area yang mengalami kebotakan daripada area yang tidak mengalami kebotakan. Hal tersebut menunjukkan bahwa *secretome* dapat memberikan sinyal yang diperlukan untuk merangsang pertumbuhan folikel rambut dan meningkatkan vaskularisasi. Sitokin antiinflamasi seperti IL-10 dan TGF- β dapat diproduksi oleh hMSCs, yang dapat menekan produksi IL-1 β oleh sel-sel imun. *Secretome* hMSCs dapat membantu mengurangi inflamasi di sekitar folikel rambut, dengan mengurangi kadar IL-1.

12,14–16



3.1. Kerangka teori

Adapun kerangka teori penelitian ini dapat dilihat pada skema:

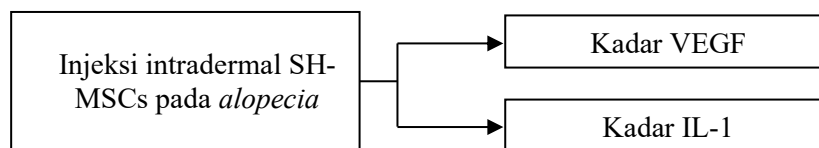


Bagan 1. Kerangka teori

Ket: CD, cluster of differentiation; IL, interleukin; IRAK, interleukin 1 receptor - associated kinase; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MiRNA, micro ribonucleic acid; MyD88, myeloid differentiation primary response 88; NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; TRAF6, tumor necrosis factor receptor-associated factor; ROS, reactive oxygen species; SH-MSCs, secretome hypoxia mesenchymal stem cells; TNF-α, tumor necrosis factor-alpha; VEGF, vascular endothelial growth factor.

3.2. Kerangka konsep

Adapun kerangka konsep penelitian ini dapat dilihat pada skema:



Bagan 2. Kerangka konsep

Ket: IL-1, interleukin 1; SH-MSCs, *secretome hypoxia mesenchymal stem cells*; VEGF, *vascular endothelial growth factor*.

3.3. Hipotesis

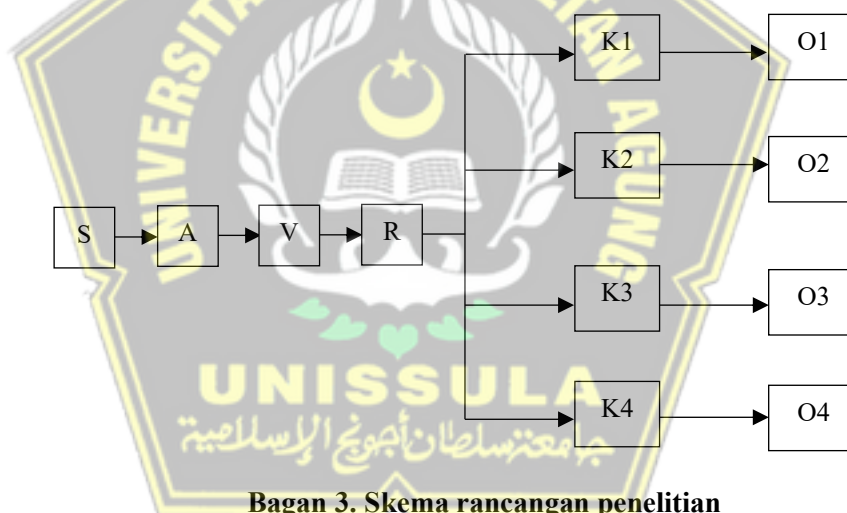
1. Terdapat pengaruh secretome hypoxia mesenchymal (SH-MSCs) dan minoxidil terhadap kadar VEGF dan IL 1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur Wistar model *alopecia like* antar kelompok perlakuan dibanding kontrol.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan *post test only control group design*, menggunakan hewan coba sebagai objek penelitian. Subjek penelitian adalah tikus jantan galur *Wistar* dengan berat badan $200 \text{ gr} \pm 10 \text{ gr}$ ($\text{cv} = 5\%$). Penelitian dengan 4 kelompok dengan pengukuran sesudah intervensi (Bagan 3).



Bagan 3. Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- S : Subjek penelitian (tikus) sehat
- A : Adaptasi
- V : Validasi
- R : Randomisasi
- K1 : KN, kontrol negatif (tikus induksi *fluconazole* model *alopecia like* dengan pemberian *natrium clorida* (NaCl) 0,9%)
- K2 : KP, kontrol positif (tikus induksi *fluconazole* model *alopecia like* dengan pemberian minoxidil topikal 5%)
- K3 : P1, perlakuan 1 (tikus induksi *fluconazole* model *alopecia like* pemberian injeksi SH-MSCs 100 μl)
- K4 : P2, perlakuan 2 (tikus induksi *fluconazole* model *alopecia like* pemberian injeksi SH-MSCs 100 μl dan minoxidil topikal 5%)
- O1 : Observasi hasil pengukuran kelompok kontrol negatif
- O2 : Observasi hasil pengukuran kelompok kontrol positif
- O3 : Observasi hasil pengukuran kelompok perlakuan 1
- O4 : Observasi hasil pengukuran kelompok perlakuan 2

4.2. Variabel penelitian dan definisi operasional

4.2.1. Variabel penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas adalah tikus model *alopecia like* dengan injeksi SH-MSCs dosis 100 μ l/kgBB (P1); dan injeksi SH-MSCs dosis 100 μ l/kgBB + minoxidil topikal 5% (P2).

2. Variabel terikat

Variabel terikat adalah kadar VEGF dan IL-1.

4.2.2. Definisi operasional

1. *Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells* (SH-MSCs)

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells 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-MSC dilakukan secara intradermal pada area dorsal. Skala ordinal dan satuan uL.

2. Hewan model

Hewan model adalah hewan model tikus jantan galur *Wistar* yang mendapatkan paparan *fluconazole*. *Alopecia* yang terbentuk akan divalidasi pengecatan hematoksilin-eosin (HE). Skala rasio.

3. Kadar VEGF

Kadar VEGF merupakan protein yang berperan dalam proses angiogenesis. yang diukur dari sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke-7 pasca perlakuan. Konsentrasi VEGF dianalisis menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk menentukan kadar spesifiknya dalam jaringan kulit. Skala: Rasio dan Satuan : pg/mL

4. Kadar IL-1

Interleukin 1 merupakan protein yang berperan sebagai sitokin proinflamasi sebagai biomarker *alopecia like* yang diukur dari sampel jaringan kulit yang diambil pada hari ke-7 pasca perlakuan. Konsentrasi IL-1 dianalisis menggunakan metode *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) untuk menentukan kadar spesifiknya dalam jaringan kulit. Skala: Rasio dan Satuan : pg/mL

Tabel 2. Definisi operasional variabel

No.	Parameter	Definisi	Skala
Variabel Bebas			
1.	SH-MSCs	Injeksi SH-MSC 100 µl dilakukan secara intradermal pada area dorsal.	Ordinal
2.	Minoxidil topikal	Minoxidil topikal 5%	Ordinal
Variabel Tergantung			
3.	Kadar VEGF	Kadar VEGF serum yang diukur menggunakan metode ELISA.	Rasio
4.	Kadar IL-1	Kadar IL-1 serum yang diukur menggunakan metode ELISA.	Rasio

4.3. Subjek dan sampel penelitian

4.3.1. Subjek penelitian

Tikus jantan galur Wistar berusia 6-8 minggu dengan berat badan 200-250 gram digunakan sebagai subjek penelitian ini setelah dinyatakan sehat dan layak oleh dokter hewan dari Laboratorium *Stem Cell and Cancer Research* (SCCR) Indonesia. Hewan percobaan ini dipelihara dalam kondisi laboratorium yang memenuhi standar, dengan ventilasi udara yang memadai dan suhu ruangan terjaga pada kisaran 20-28°C. Selama masa pemeliharaan, tikus makanan standar berupa pakan pelet komersial serta air minum bersih diberikan *ad libitum* untuk memastikan kebutuhan nutrisinya tercukupi dan kondisi fisiknya tetap optimal.

4.3.2. Sampel penelitian

Sampel penelitian ini adalah subjek penelitian yang memenuhi kriteria inklusi, eksklusi, dan *dropout*.

Kriteria inklusi

1. Tikus galur *Wistar*.
2. Jenis kelamin jantan.
3. Umur 6-8 minggu.
4. Berat badan 200-250 gram.
5. Tidak mempunyai kelainan anatomis.
6. Tikus bergerak secara aktif.
7. Mengalami *Alopecia Like*

Kriteria eksklusi

1. Tikus sakit selama masa penelitian.

Kriteria *drop out*

1. Tikus mengalami infeksi.
2. Tikus mati selama penelitian.

4.4. Teknik pengambilan sampel penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini dengan menggunakan cara *randomized sampling*. Tikus putih jantan galur *Wistar* dibagi menjadi 4 kelompok yaitu (K1) Kontrol negatif (KN) dengan tikus induksi *fluconazole* dan pemberian NaCl 0,9%, (K2) Kontrol positif (KP) dengan tikus induksi *fluconazole* dan pemberian minoxidil topikal 5%, (K3) Perlakuan 1 (P1) dengan tikus induksi *fluconazole* dan pemberian injeksi SH-MSCs 100 μ L, serta (K4) Perlakuan 2 (P2) dengan tikus induksi *fluconazole* dan pemberian kombinasi injeksi SH-MSCs 100 μ L dan minoxidil topikal 5%. Tikus dilakukan pemeriksaan histopatologi sebelum dan setelah perlakuan.

4.5. Besar sampel

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan rumus sampel eksperimental dari Federer¹⁰⁷, dengan rumus:

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6 \text{ (Pembulatan menjadi 6)}$$

Keterangan:

t = banyaknya perlakuan.

n = banyaknya sampel setiap perlakuan.

Berdasarkan perhitungan rumus tersebut, penelitian ini menggunakan 6 ekor sampel pada setiap kelompok, dengan menambahkan 1 ekor sampel untuk risiko mortalitas pada tikus selama penelitian, sehingga total menjadi 7 ekor perkelompok. Jumlah total sampel yang digunakan sebanyak 28 ekor.

4.6. Alat dan bahan

4.6.1. Alat

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

1. *Bio safety cabinet* (BSC)
2. CO₂ inkubator
3. *Centrifuge*
4. *uPulse tangential flow filtration*
5. membran filtrasi TFF 100 kda dan 500 kda
6. *Flowcytometer*
7. Mikroskop *inverted*

8. Inkubator biasa
9. Mikropipet
10. Tabung *sentrifuge*
11. *Flask* kultur sel
12. Botol beher
13. *Hypoxia chamber*
14. pH meter
15. *Autoclave*
16. ELISA dan reader
17. Lampu UV

4.6.2. Bahan

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

1. *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM)
2. *Fetal bovine serum* (FBS)
3. *Phospat buffer saline* (PBS)
4. Antibiotik dan anti jamur
5. *Flask* kultur
6. *Centrifuge tube*
7. Pipet tip
8. NaCl dan aquabidest
9. Alkohol 70%
10. Kapas steril

11. Ketamin
12. *Xylazine*
13. *Vial tube*
14. Pisau bisturi
15. ELISA *kit*

4.7. Cara penelitian

4.7.1. Perolehan *ethical clearance*

Penelitian dilakukan setelah mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Agung, Semarang.

4.7.2. Prosedur isolasi *mesenchymal stem cells* dari *umbilical cord*

Seluruh proses dilakukan di dalam *biosafety cabinet class 2*, Secretome hipoksia *mesenchymal stem cell* pada penelitian ini diperoleh *Integrated Laboratory of Stem Cell and Cancer Research (SCCR)* dari PT SCCR.

4.7.3. Pembuatan preparat dan perlakuan pada subjek percobaan

1. Tikus yang sudah diadaptasi selama 1 minggu, dibius dengan campuran *ketamine* (60 mg/kgBB) dan *xylazine* (20 mg/kgBB).
2. Rambut pada bagian punggung tikus dipotong hingga bersih.
3. Selanjutnya dengan pemberian *fluconazole* perorale 35mg/kgbb selama 14 hari.

4. Validasi mikroskopis dengan preparat histologi menggunakan pewarnaan HE. *Alopecia* ditandai jika tidak ditemukan folikel dalam fase anagen pada kulit tikus. Langkah validasi mikroskopis adalah sebagai berikut:
 - a. Sampel kulit tikus pada semua kelompok diambil dan difiksasi dalam larutan *neutral buffered formalin* (NBF) 10%.
 - b. Sampel kulit dibilas dengan alkohol 70% sampai bersih dari sisa larutan fiksatif.
 - c. Sampel kulit dimasukkan ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, dan alkohol absolut, masing-masing selama 30 menit untuk proses dehidrasi.
 - d. Sampel kulit dimasukkan ke dalam *toluol* sampai jernih atau transparan selama 1 jam.
 - e. Infiltrasi ke dalam parafin dilakukan di dalam oven pada suhu 56-60°C dengan cara memasukkan sampel kulit ke dalam campuran *toluol* dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Sampel dimasukkan ke dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III masing-masing perlakuan selama 30 menit.
 - f. *Embedding*, sampel kulit dari parafin murni ditanamkan ke dalam cetakan blok parafin yang telah berisi parafin cair dan ditunggu hingga parafin mengeras.
 - g. Sampel kulit dalam blok parafin diiris dengan ketebalan irisan sebesar 6 μm menggunakan mikrotom.

- h. Irisan sampel jaringan ditempelkan pada gelas benda dengan cara mengoleskan *Mayer's albumin* dan ditetesi sedikit aquades lalu dipanaskan di atas *hot plate* hingga irisan menempel dengan sempurna.
 - i. Sediaan histologis dideparafinasi dengan cara dimasukkan ke dalam *xylol* selama 24 jam.
 - j. *Staining* (pewarnaan) dilakukan dengan pewarna HE.
 - k. Kandungan *xylol* diserap dengan kertas saring, kemudian berturut-turut dimasukkan ke alkohol 96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, dan aquades masing-masing selama 1-2 menit. Preparat dimasukkan ke dalam pewarna hematoksilin selama 5-10 detik, lalu dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Preparat dicelupkan ke dalam alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% masing-masing selama 3-5 menit. Preparat dimasukkan ke dalam pewarna eosin selama 5-10 menit, kemudian dicelupkan ke alkohol 70%, 80%, 90%, dan 96% masing-masing selama 3-5 menit, lalu dikeringkan dengan kertas saring. Preparat dimasukkan ke dalam *xylol* selama 15 menit, kemudian sediaan histologis ditetesi *canada balsam*.
 - l. Preparat ditutup kaca penutup, diberi label, dan disimpan dalam kotak sediaan. Lakukan pengambilan data pengecatan HE ke4 kelompok intervensi.
6. Selanjutnya Intervensi dengan pemberian injeksi intradermal mengandung SH-
MSC dosis 100 μ L dan minoksidil topikal 5% selama 7 hari

4.7.4. Terminasi dan koleksi sampel jaringan

1. Tempatkan tikus dalam kondisi restrain menggunakan alat restrainer untuk membatasi pergerakan tanpa menyebabkan stres berlebihan.

2. Lakukan prosedur terminasi dengan dislokasi servikal. Konfirmasi kematian dengan memastikan tidak ada refleks nyeri, henti napas, dan henti jantung.
3. Pengambilan Sampel kulit punggung dengan meletakkan tikus pada permukaan steril dalam posisi tengkurap. Bersihkan area punggung dengan etanol 70% dan betadine untuk mengurangi kontaminasi.
4. Gunakan pisau bedah steril untuk membuat sayatan pada kulit punggung sepanjang 1–2 cm² lebih presisi, gunakan *biopsy punch* (diameter 4–6 mm).
5. Potong jaringan kulit dengan hati-hati, hindari kontaminasi dari bulu atau jaringan lain.
6. Masukkan sampel ke dalam wadah sesuai metode penyimpanan: simpan dalam tabung berisi buffer lisis dan tempatkan di es dan simpan dalam tabung kriogenik dan letakkan di nitrogen cair, lalu pindahkan ke freezer -80°C.
7. Homogenisasi jaringan dalam buffer lisis menggunakan homogenizer atau sonikator. Sentrifugasi sampel untuk mendapatkan supernatan. Simpan supernatan dalam freezer -80°C sebelum analisis ELISA.

4.7.5. Analisis *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

1. Tentukan sumuran untuk standar, blanko, dan sampel yang akan dianalisis.
2. Tambahkan sebanyak 100 μL larutan standar, blanko, dan sampel ke sumur yang telah ditentukan.
3. Tutup plat sumuran menggunakan plastik penutup hingga rapat untuk mencegah terjadinya penguapan reagen, kemudian inkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C .
4. Buang cairan dari setiap sumur, tanpa pembilasan. Segera tambahkan 100 μL larutan antibodi deteksi biotinilasi ke setiap sumur.
5. Tutupi plat dengan penutup baru dan inkubasi 1 jam pada suhu 37°C .
6. Lakukan pencucian dengan menambahkan 350 μL larutan *wash buffer* ke setiap sumur, diulangi sebanyak 3 kali.
7. Tambahkan 100 μL konjugat *horseradish peroxidase* (HRP) ke setiap sumur.
8. Tutup plat dengan penutup baru, inkubasi 30 menit pada suhu 37°C .
9. Buang larutan dari setiap sumur, dan lakukan proses pembilasan sebanyak 5 kali seperti pada langkah 3.
10. Tambahkan 90 μL reagen substrat ke setiap sumur.
11. Tutup plat dengan penutup baru, inkubasi 15 menit pada suhu 37°C .
12. Tambahkan 50 μL larutan *stop* ke setiap sumur.
13. Ukur *optical density* (OD) dari setiap sumur sekaligus menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm.

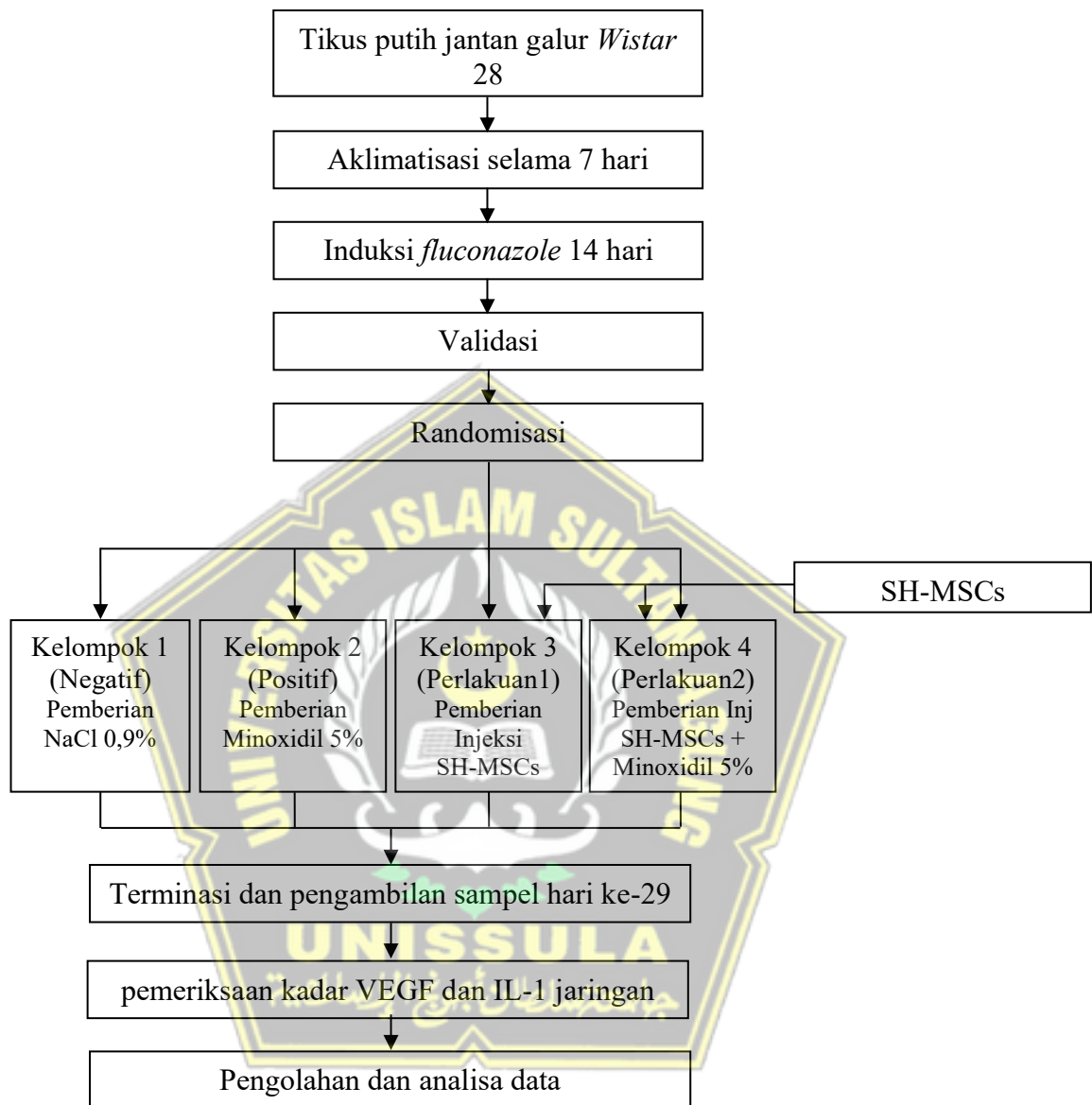
4.8. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli - Agustus 2025 di *Integrated Laboratory of Stem Cell and Cancer Research (SCCR)*. Pemeriksaan kadar VEGF dan IL-1 dilakukan di SCCR.

4.9. Analisa data

Data yang terkumpul diolah melalui proses *editing, coding, entrying and cleaning data*, lalu data dianalisis secara statistik menggunakan *software program Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) IBM* versi 22. Analisis normalitas dan variasi data dilakukan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan *Levene's Test*. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), dan data homogen dilakukan uji *Oneway ANOVA* atau *welch ANOVA* jika data terdistribusi normal namun data tidak homogen. Uji *Post Hoc LSD* dilakukan apabila didapatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan variasi data homogen ($p > 0,05$). Uji *Post Hoc Tamhane's T2* dilakukan apabila didapatkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) dengan variasi data tidak homogen ($p < 0,05$). Data yang terdistribusi tidak normal, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan *Post Hoc Mann-Whitney*. Nilai p dianggap bermakna bila $< 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%.

4.10. Alur penelitian



Bagan 4. Alur penelitian

Ket: IL-1, interleukin 1; NaCl, *natrium clorida*; SH-MSCs, *secretome hypoxia mesenchymal stem cells*; TFF, *tangensial flow filtration*; VEGF, *vascular endothelial growth factor*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

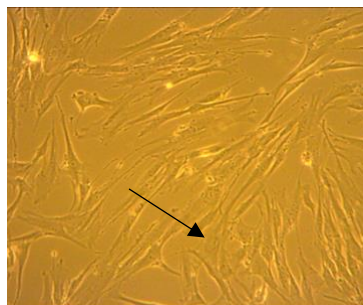
5.1. Hasil Penelitian

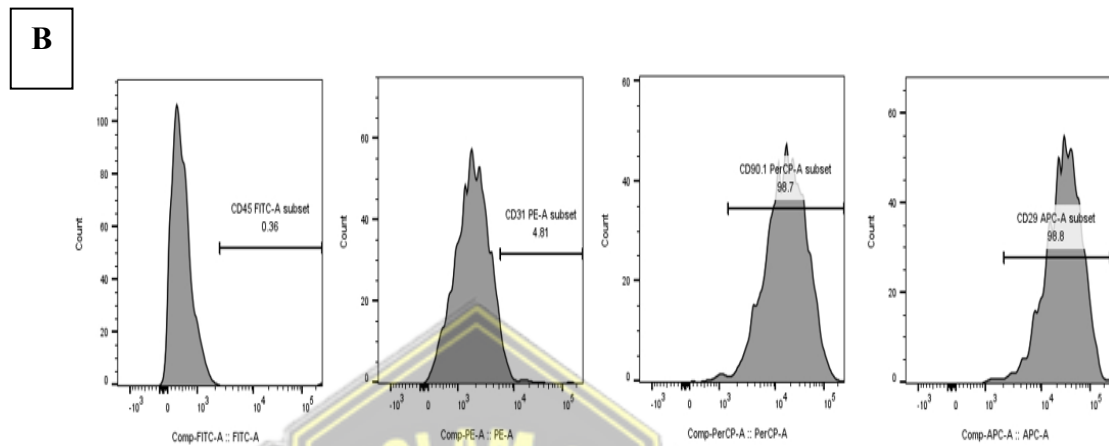
5.1.1. Hasil Validasi SH-MSc

Penelitian ini melibatkan 28 ekor tikus putih jantan galur *Wistar* yang mengalami proses aklimatisasi selama 7 hari, kemudian diinduksi dengan *fluconazole* selama 14 hari untuk menimbulkan kondisi kerontokan. Setelah validasi dan randomisasi, tikus dibagi ke dalam empat kelompok perlakuan. Kelompok 1 (kontrol negatif) hanya diberikan NaCl 0,9%, kelompok 2 (kontrol positif) diberikan minoxidil 5%, kelompok 3 diberikan injeksi SH-MSCs, dan kelompok 4 mendapat kombinasi SH-MSCs dan minoxidil 5%. Pada hari ke-29, dimana tidak ada tikus yang drop out, tikus diterminasi dan jaringan diambil untuk analisis kadar VEGF dan IL-1 sebagai variabel terikat yang merupakan indikator angiogenesis dan inflamasi, kemudian data dianalisis secara statistik.

Laboratorium Riset Stem Cell dan Kanker (SCCR) Semarang membuat *Mesenchymal stem cells* dan menghasilkan Sclerome Hypoxia *Mesenchymal stem cells*. Gambaran validasi SH-MSc sel-sel tersebut menunjukkan adhesi pada dasar cawan petri dengan morfologi sel yang menyerupai spindle saat diamati di bawah mikroskop (lihat Gambar 5.1A).

A



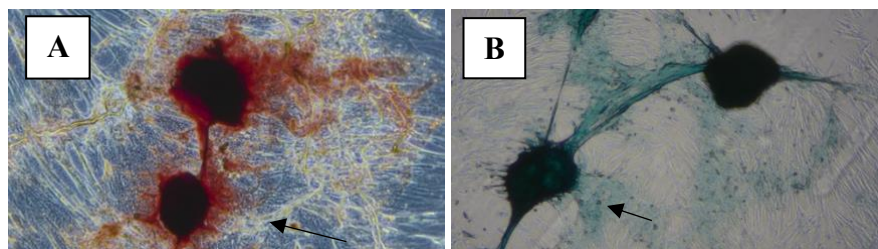


Gambar 5.1. (A) morfologi MSC berbentuk fibroblas-like (ditunjuk oleh anak panah) pada pembesaran 100x. (B) Analisis *flow cytometry* terhadap ekspresi CD45, CD31, CD90, dan CD29

Analisis identitas sel menggunakan *Surface marker* sel MSCs kemudian diuji validitasnya menggunakan analisis *flow cytometry* untuk menunjukkan kemampuan MSCs dalam mengekspresikan berbagai marker permukaan spesifik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MSCs mampu mengekspresikan CD45(0,36%), CD31(4,81%), CD90(98,7), dan CD29(98,8%). (lihat Gambar 5.1B).

Studi ini juga mengevaluasi kapasitas MSCs dalam mengalami diferensiasi menjadi berbagai jenis sel dewasa. MSC diberi medium yang disesuaikan untuk menginduksi diferensiasi, baik menjadi osteosit maupun adiposit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa MSC mampu mengalami diferensiasi menjadi osteosit dan adiposit, yang terindikasi oleh endapan kalsium dan lemak yang berwarna merah menggunakan

pewarna Alizarin Red dan *Alician Blue* dalam kultur osteogenik dan adipogenik masing-masing. (Gambar 5.2 (A dan B)).



Gambar 5.2. (A) Kemampuan MSCs berdiferensiasi menjadi osteosit pada pewarna *alizarin red* pembesaran 200x dan (B) Chondrosit pada pewarnaan *Alician Blue* pembesaran 200x (ditunjukkan dengan panah hitam).

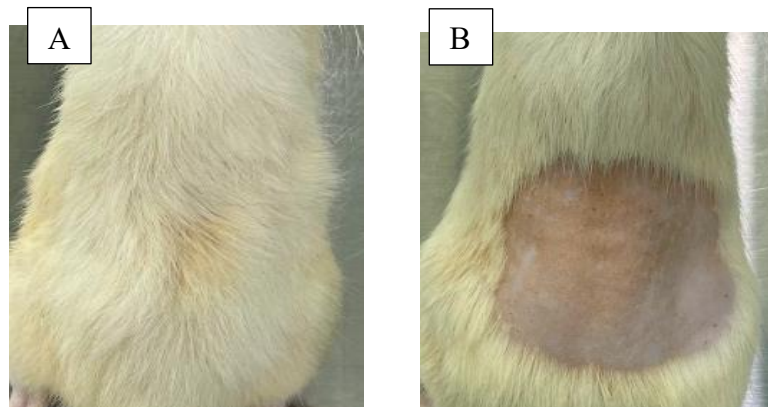
Mesenchymal stem cell kemudian ditempatkan dalam kondisi hipoksia dengan kadar oksigen 5% selama 24 jam menggunakan *hypoxia chamber*. Medium kultur terkondisi dikumpulkan, disentrifugasi bertingkat 200 G untuk menghilangkan debris. Filtrat yang jernih kemudian dikonsentrasikan menggunakan ultrafiltrasi atau filtrasi aliran lateral TFF dengan 100-500 kDa dilanjutkan sterilisasi 0,1um untuk memperoleh fraksi secretome hipoksia yang kaya faktor terlarut diantaranya sitokin, faktor pertumbuhan diterangkan pada tabel 5.1.

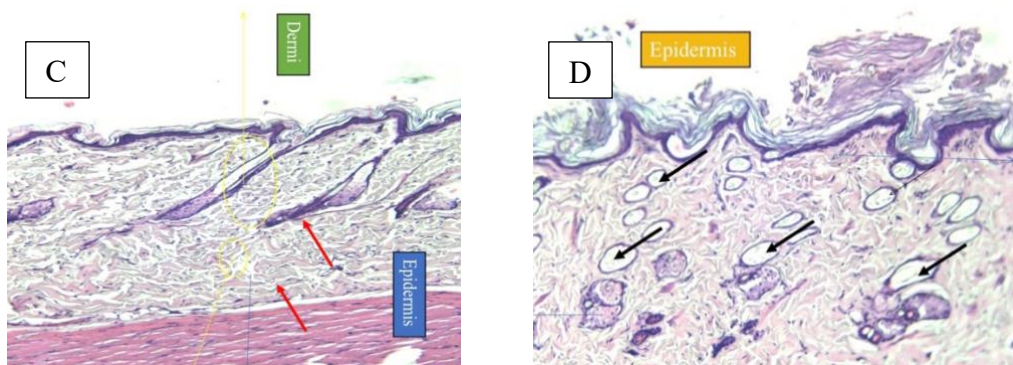
Tabel 5.1 Kadar protein pada SH-MSC

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

3.1.2. Hasil Validasi Alopecia dengan fluconazole

Validasi Model *alopecia-like* berhasil dibentuk melalui paparan fluconazole topikal, yang dapat mengganggu keseimbangan mikroflora kulit kepala dan menyebabkan inflamasi, sehingga menciptakan kondisi yang menyerupai kerontokan rambut pada manusia. Parameter utama yang diamati dalam studi ini adalah kadar VEGF yang berperan dalam angiogenesis dan pertumbuhan folikel rambut, serta IL-1 sebagai sitokin proinflamasi yang berkontribusi terhadap kerusakan folikel rambut. Berdasarkan pengamatan visual, terlihat bahwa tikus yang terpapar fluconazole memiliki kerontokan lebih jelas dibandingkan dengan tikus yang tidak terpapar, sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.3. Selain validasi secara makroskopis, pengecekan juga dilakukan secara mikroskopis dengan menggunakan pengecatan HE untuk mengevaluasi Folikel pertumbuhan rambut *alopecia like* yang diinduksi fluconazole. Hasil pengecatan menunjukkan bahwa terjadi penurunan jumlah folikel, sebagaimana terlihat dalam Gambar 5.3.





Gambar 5.3. Validasi Alopecia Like. Kulit tikus yang tidak terpapar Fluconazole (A) dibandingkan dengan yang terpapar fluconazole (B). folikel rambut kulit tikus yang tidak dipapar Fluconazole pembesaran 100x (C), folikel rambut kulit tikus yang terpapar Fluconazole pembesaran 100x (D)

Injeksi SH-MSC diberikan sekali selama periode 7 hari pada perlakuan, dan pengambilan sampel jaringan dilakukan pada hari ke-29. Jaringan kulit kemudian dianalisa menggunakan metode ELISA.^{3,4}

5.1.2. Kadar IL-1

Data analisis tingkat IL-1 yang tercantum dalam Tabel 5.2 dilakukan analisis distribusi normalitas pada masing-masing kelompok kadar IL-1. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa distribusi normal dengan data kadar IL-1 dalam keempat kelompok tersebut normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varian data menggunakan uji Levene menunjukkan parameter IL-1 bersifat tidak homogen ($p > 0,05$), Berdasarkan hasil data normal namun tidak homogen untuk IL-1 data dilanjutkan analisis menggunakan uji *Welch ANOVA* untuk menilai distribusi data dengan nilai $p < 0,05$. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa data kadar IL-1 secara statistika berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian SH-MSC berpengaruh terhadap kadar IL-1.

Tabel 5.2. Data Hasil Analisis Kadar IL-1

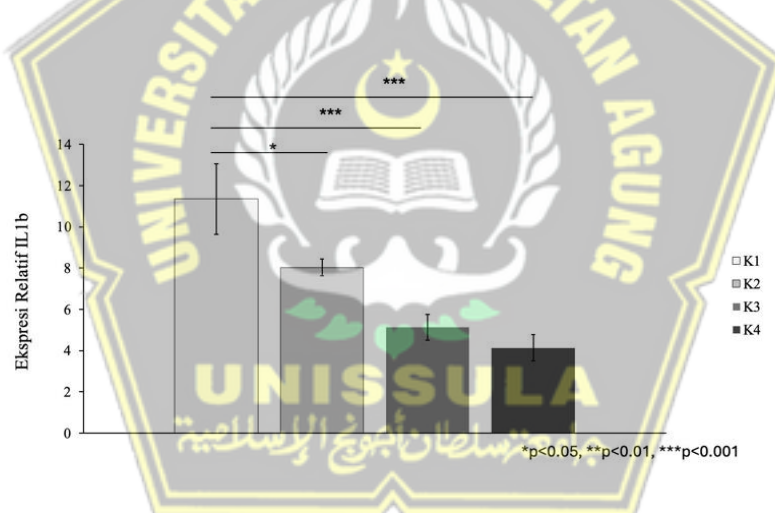
Variabel	K1 (pg/mL) Rerata±SD	K2 (pg/mL) Rerata±SD	K3 (pg/mL) Rerata±SD	K4 (pg/mL) Rerata±SD	<i>p</i>
IL-1					
<i>Mean</i>	11,35	8,03	5,145	4,146	
<i>Std. deviasi</i>	1,70	0,41	0,62	0,63	
<i>Shapiro Wilk</i>					>0,05
<i>Lavene test</i>					<0,05
<i>Welch</i>					<0,001
<i>ANOVA</i>					

Data *welch ANOVA* ditemukan kadar IL-1 jaringan yang signifikan selanjutnya akan dianalisis dengan uji *Post Hoc Tamhene* agar dapat menentukan perbandingan kelompok dengan signifikansi $p < 0,05$. Hasilnya analisis data IL-1 menunjukkan bahwa K2 ($8,03 \pm 0,41$ pg/mL), K3 ($5,145 \pm 0,62$ pg/mL) dan K4 ($4,146 \pm 0,63$ pg/mL) secara signifikan berbeda dibandingkan dengan K1 ($11,35 \pm 1,70$ pg/mL), mengindikasikan bahwa pemberian sekretom MSC hipoksia, baik sendiri maupun dalam kombinasi dengan minoxidil, berpengaruh nyata dalam menurunkan kadar IL-1 pada jaringan kulit tikus alopecia. Kelompok K3 dan K4 memiliki kadar IL-1 yang tidak berbeda signifikan ($P > 0,05$). Hal ini menandakan bahwa pemberian minoksidil tambahan pada terapi SH MSC tidak memberikan efek penurunan kadar IL 1 yang lebih signifikan dibandingkan dengan SH MSC tunggal pada tabel 5.3.

Tabel 5.3. Perbedaan rerata kadar IL-1 antar dua kelompok dengan Uji *Post Hoc Temhene*

Kelompok	Kelompok	Signifikansi
K1	K2	0,026
	K3	<0,001
	K4	<0,001
K2	K3	<0,001
	K4	<0,001
K3	K4	0,116

Berdasarkan hasil analisis statistika, grafik pada Gambar 5.4 yang menunjukkan terdapat pola penurunan kadar IL-1 dan paling rendah pada kelompok K3 dan K4, dengan nilai yang tidak berbeda jauh satu sama lain, serta jauh lebih rendah dibandingkan kontrol negatif (K1) dan kontrol positif (K2).



Gambar 5.4. Grafik Kadar IL-1. Terdapat pola penurunan yang ditunjukkan menghasilkan penurunan kadar IL-1 yang signifikan.

5.1.3. Kadar VEGF

Data analisis tingkat VEGF yang tercantum dalam Tabel 5.4 dilakukan analisis distribusi normalitas pada masing-masing kelompok kadar VEGF. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa distribusi data kadar VEGF dalam keempat kelompok tersebut normal ($p > 0,05$). Uji homogenitas varian data

menggunakan uji Levene menunjukkan parameter VEGF tidak bersifat homogen ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas untuk VEGF, data normal namun tidak homogen dilanjutkan analisis menggunakan uji *welch ANOVA* untuk menilai distribusi data dengan nilai $p < 0,05$. Hasil analisis statistika menunjukkan bahwa data kadar VEGF secara statistika berbeda nyata ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian SH-MSC berpengaruh terhadap kadar VEGF.

Tabel 5.4. Data Hasil Analisis Kadar VEGF

Variabel	K1 (pg/mL) Rerata $\pm$ SD	K2 (pg/mL) Rerata $\pm$ SD	K3 (pg/mL) Rerata $\pm$ SD	K4 (pg/mL) Rerata $\pm$ SD	P
VEGF					
<i>Mean</i>	19,61	23,7	33,11	43,52	
<i>Std. deviasi</i>	0,41	0,73	1,62	1,65	
<i>Shapiro Wilk</i>					$>0,05$
<i>Lavene test</i>					$<0,05$
<i>Welch ANOVA</i>					$<0,001$

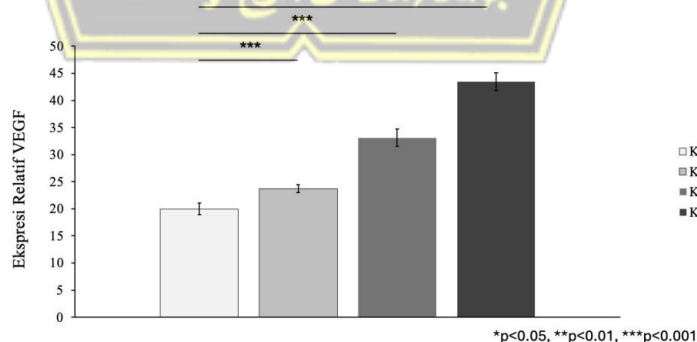
Data VEGF yang memiliki beda nyata setelah uji parametrik dengan *welch ANOVA*. Selanjutnya, untuk mengevaluasi hubungan antar kelompok, dilakukan uji *Post Hoc Tamhane*, karena data bersifat normal namun tidak homogen. Data hasil uji *post hoc Tamhane* tersebut ditampilkan dalam Tabel 5.5. Berdasarkan hasil analisis data ditemukan bahwa K2 ($23,7 \pm 0,73$, K3 ($33,11 \pm 1,62$) dan K4 ($43,52 \pm 1,65$) lebih rendah secara signifikan ($p < 0,05$) dibanding dengan K1 ($19,61 \pm 0,41$). Data menunjukkan K2, K3, dan K4 kadar VEGF secara signifikan berbeda dibandingkan dengan K1 ($p < 0,05$). Data ini mengindikasikan bahwa

pemberian sekretom MSC hipoksia, baik sendiri maupun dalam kombinasi dengan minoxidil, berpengaruh nyata dalam meningkatkan kadar VEGF pada jaringan kulit tikus alopecia.

Tabel 5.5. Perbedaan rerata kadar VEGF antar dua kelompok dengan Uji *Post Hoc Tamhane*

Kelompok	Kelompok	Signifikansi
K1	K2	<0,001
	K3	<0,001
	K4	<0,001
K2	K3	<0,001
	K4	<0,001
K3	K4	<0,001

Berdasarkan hasil analisis statistika, didapatkan bahwa terdapat kadar VEGF yang berarti bahwa SH-MSC meningkatkan kadar VEGF dibandingkan dengan pemberian minoxidil. Grafik pada gambar 5.5 pola peningkatan kadar VEGF terlihat paling tinggi pada kelompok kombinasi (K4), diikuti oleh kelompok K3, K2 sedangkan kelompok kontrol negatif memiliki kadar VEGF paling rendah.



Gambar 5.5. Grafik Kadar VEGF. Terdapat pola penurunan yang ditunjukkan menghasilkan peningkatan VEGF yang signifikan.

5.2. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi dampak pemberian injeksi intradermal SH-MSC dan minoxidil topikal pada tikus wistar jantan yang terpapar fluconazol secara berulang selama 2 minggu. Temuan penelitian menunjukkan bahwa kedua dosis injeksi SH-MSC dan minoxidil topikal berhasil menurunkan kadar IL-1 dan meningkatkan kadar VEGF

Perbandingan antar kelompok diantaranya kelompok 1/K1 (Kontrol Negatif) tikus yang diinduksi *alopecia-like* namun hanya diberi NaCl 0,9% menunjukkan kadar VEGF terendah dan kadar IL-1 tertinggi, mencerminkan kerontokan aktif dan peradangan yang tidak tertangani. Keberhasilan induksi kondisi alopecia dan menjadi dasar pembandingan yang valid bagi kelompok lain. Kelompok 2/K2 (minoxidil topikal 5%) Kelompok ini menunjukkan peningkatan kadar VEGF dibanding K1, sesuai dengan mekanisme kerja minoxidil yang meningkatkan vasodilatasi dan merangsang pertumbuhan rambut melalui peningkatan angiogenesis. Penurunan kadar IL-1 pada kelompok ini relatif terbatas, menunjukkan bahwa minoxidil memiliki efek inflamasi yang minimal terhadap sitokin proinflamasi.^{12,89} Kelompok 3/K3 (Injeksi SH-MSCs) kelompok yang diberi SH-MSCs saja menunjukkan kenaikan kadar VEGF yang signifikan, dan penurunan kadar IL-1 yang bermakna. Mendukung hipotesis bahwa SH-MSCs bekerja tidak hanya dengan mendukung angiogenesis melalui sekresi VEGF, tetapi juga melalui efek imunomodulatornya yang menekan aktivitas inflamasi. SH-MSCs diketahui menghasilkan eksosom dan sitokin antiinflamasi yang mampu

menekan IL-1 dan memperbaiki folikel rambut.^{13,90} Kelompok 4/K4 (SH-MSCs + Minoxidil) Kelompok ini yang menunjukkan hasil terbaik secara sinergis, dengan VEGF tertinggi dan IL-1 terendah di antara semua kelompok. Kombinasi SH-MSCs dan minoxidil meningkatkan efektivitas dimana minoxidil mendukung efek angiogenik dan stimulasi pertumbuhan rambut, sedangkan SH-MSCs memperkuat efek antiinflamasi dan regeneratif. kombinasi ini menunjukkan potensi terapi kombinasi sebagai pendekatan yang lebih komprehensif untuk alopecia dibanding monoterapi.^{13,34,91}

VEGF meningkat di kelompok perlakuan menunjukkan stimulasi pembentukan pembuluh darah baru dan perbaikan mikrosirkulasi folikel rambut, memperkuat fase anagen (pertumbuhan rambut). Interleukin-1 yang menurun menandakan penurunan peradangan lokal yang sering menghambat regenerasi folikel rambut. Terapi kombinasi pada K4 bekerja secara sinergis bukan sekadar aditif, mempercepat perbaikan jaringan dan lingkungan folikel rambut yang lebih sehat.^{14,92}

Mesenchymal Stem Cells (MSCs) yang berasal dari jaringan human , merupakan sel punca multipoten yang mampu berdiferensiasi menjadi berbagai jenis sel mesenkimal seperti adiposit, kondrosit, dan osteosit. *Mesenchymal Stem Cells* memainkan peran kunci dalam regenerasi jaringan melalui mekanisme parakrin, yaitu melalui sekresi berbagai faktor bioaktif, termasuk sitokin antiinflamasi, *growth factors*, dan eksosom yang mengandung microRNA (miRNA), protein, dan lipid. Kondisi mikroenvironment folikel rambut yang

terganggu pada alopecia, termasuk stres oksidatif, hipoksia, dan peradangan lokal, merupakan hambatan utama bagi pertumbuhan rambut. Terapi yang mampu meregulasi kembali lingkungan mikro, mengurangi inflamasi, dan menstimulasi faktor pertumbuhan menjadi sangat penting.⁹¹

Secretome Hypoxia Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) memiliki peran terhadap VEGF yang merupakan faktor pertumbuhan angiogenik utama dimana terdapat peran vital dalam mendukung pertumbuhan dan pemeliharaan folikel rambut melalui stimulasi angiogenesis lokal akan menghasilkan kapiler baru di sekitar papilla dermal yang meningkatkan suplai oksigen dan nutrisi ke sel folikel rambut. Perpanjangan fase anagen dimana VEGF meningkatkan durasi fase pertumbuhan rambut akan menunda masuk ke fase katagen (regresi). Aktivasi sel dermal papilla dimana VEGF bekerja pada sel-sel papila dermal yang mengatur siklus folikel rambut. SH-MSCs menghasilkan VEGF secara autokrin dan parakrin. SH-MSCs yang disuntikkan secara intradermal menginduksi ekspresi VEGF baik secara langsung maupun melalui eksosom yang menstimulasi sel lokal yaitu fibroblas dermis dan sel folikel rambut untuk memproduksi VEGF. Kondisi hipoksia ringan yang terjadi pada area injeksi dapat memperkuat ekspresi *Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha* (HIF-1 α), yang secara langsung mengaktifasi transkripsi gen VEGF. SH-MSCs merespon kondisi hipoksia dengan meningkatkan sekresi VEGF untuk memperbaiki perfusi lokal, ini menjelaskan kenaikan VEGF yang signifikan pada kelompok K3 dan K4.^{54,55,93}

Pengaruh SH-MSCs terhadap Interleukin-1 terutama IL-1 β merupakan salah satu sitokin proinflamasi utama yang berperan dalam patogenesis berbagai jenis inflamasi kulit, termasuk kerontokan rambut. IL-1 berperan dalam menghambat proliferasi sel folikel rambut, meningkatkan infiltrasi sel imun (seperti makrofag dan neutrofil), menstimulasi produksi *Reactive Oxygen Species*(ROS), memperburuk kerusakan jaringan, mempromosikan masuknya folikel ke fase katagen terjadi regresi rambut. SH-MSCs secara biomolekuler mampu menekan ekspresi IL-1 melalui berbagai jalur, yaitu jalur sekresi sitokin anti inflamasi dimana IL-10 dan TGF- β hasil sekresi SH-MSCs yang mampu menekan aktivitas sel Th1 dan makrofag M1, dua sel utama yang memproduksi IL-1. Jalur Modulasi Sel Imun dimana SH-MSCs menginduksi pergeseran fenotipe makrofag dari M1 (proinflamasi) ke M2 (antiinflamasi). Makrofag M2 berperan dalam perbaikan jaringan dan menghambat produksi IL-1. Aktivasi NLRP3 inflammasome, kompleks protein intraseluler yang mengaktivasi IL-1 β dalam bentuk aktifnya melalui enzim caspase-1. Jalur dimana Eksosom yang dikeluarkan SH-MSCs mengandung microRNA (miR-146a, miR-21) yang diketahui secara spesifik menghambat jalur NF- κ B, yaitu jalur transduksi sinyal utama yang menginduksi ekspresi IL-1. Jalur Pengurangan ROS dan Perbaikan Mitokondria dimana SH-MSCs meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti *superoxide dismutase*(SOD) dan catalase, sehingga menurunkan ROS, yang juga merupakan stimulan ekspresi IL-1.^{82,86,94}

Penurunan kadar IL-1 yang disertai peningkatan VEGF mengindikasikan bahwa SH-MSCs tidak hanya menargetkan aspek pertumbuhan atau inflamasi,

tetapi memberikan implikasi klinis dan regeneratif. Kondisi alopecia areata yang dipicu oleh stres, inflamasi, dan disregulasi imun dengan penambahan minoxidil akan meningkatkan ekspresi VEGF secara langsung pada sel folikel rambut dan fibroblas dermis. Minoxidil membuka saluran K_{ATP} yang merupakan ATP-sensitive potassium channels pada membran sel dermis dan selanjutnya memicu depolarisasi serta aktivasi HIF-1 α dan transkripsi VEGF meningkat. Angiogenesis terjadi dipercepat di sekitar folikel, memberikan suplai oksigen dan nutrisi yang lebih baik sehingga memperpanjang fase anagen (fase pertumbuhan rambut). Efek sinergis akan terjadi dimana sumber VEGF ganda yang berasal dari minoxidil dan SH-MSCs menghasilkan efek angiogenik dan peningkatan perfusi kapiler di sekitar folikel rambut. Metabolisme sel folikel akan mempercepat transisi dari fase telogen menjadi fase anagen.^{54,55}

Inflamasi akan tertekan akibat penurunan IL-1 secara langsung dan tidak langsung dengan adanya pemberian minoxidil, meskipun efek anti inflamasi langsung minoxidil relatif terbatas namun terjadi vasodilatasi dan peningkatan perfusi dapat menurunkan stres hipoksia, yang berkontribusi terhadap peradangan lokal. Tekanan oksidatif dapat secara tidak langsung menurunkan produksi IL-1. Efek Sinergis dari minoxidil akan memperbaiki hemodinamika lokal, sehingga mendukung viabilitas dan integritas sel SH-MSCs setelah injeksi. Efek antiinflamasi SH-MSCs lebih optimal karena tidak terhambat oleh hipoksia berat. Penurunan IL-1 sebabkan lingkungan folikel menjadi lebih stabil dan suportif terhadap regenerasi rambut. Integrasi dengan mekanisme efek kombinasi yang komprehensif efek minoxidil yang mempercepat stimulasi pertumbuhan rambut

secara langsung dan meningkatkan perfusi dan penetrasi SH-MSCs di area target berkolaborasi dengan efek SH-MSCs yang memperbaiki lingkungan biologis folikel melalui regenerasi dan perbaikan jaringan. Efek imunomodulasi dan proteksi jangka panjang.^{13,14,94}

Hasil penelitian ini mendukung hipotesis bahwa pemberian SH-MSCs, baik sendiri maupun dikombinasikan dengan minoxidil topikal, berpengaruh signifikan terhadap peningkatan kadar VEGF dan penurunan kadar IL-1 pada model tikus Wistar *alopecia-like*. Kombinasi terapi (K4) menunjukkan hasil paling optimal dan membuka peluang untuk pengembangan terapi regeneratif dan anti inflamasi yang lebih efektif untuk alopecia areata pada manusia.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, antara lain penggunaan model alopecia-like pada tikus Wistar yang belum sepenuhnya merepresentasikan kondisi klinis pada manusia. Selain itu, durasi penelitian yang relatif singkat membuat hasilnya belum dapat menggambarkan efek jangka panjang maupun potensi efek samping yang mungkin timbul. Analisis penelitian juga hanya berfokus pada ekspresi VEGF dan IL-1, sehingga belum mencakup biomarker lain yang berperan penting dalam mekanisme alopecia secara menyeluruh.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Hasil penelitian tentang pengaruh injeksi SH-MSC secara Intradermal terhadap penurunan kadar IL-1 dan peningkatan VEGF pada tikus jantan galur Wistar yang terpapar fluconazole menunjukkan hal-hal berikut:

1. Terbukti adanya pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar IL 1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.
2. Terbukti adanya pengaruh injeksi intradermal SH-MSCs dan minoxidil topikal terhadap kadar IL 1 pada studi eksperimental *in vivo* tikus jantan galur *Wistar* model *alopecia like* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

6.2. Saran

Studi yang akan datang diharapkan mengukur kadar protein pada kelompok sehat sebelum dilakukan injeksi SH-MSC pada tikus yang terpapar fluconazole dengan memberikan waktu pengamatan lebih lama untuk melihat efektivitas terapi. Penelitian ini perlu mengkaji biomarker tambahan seperti FGF, IGF-1, TNF alfa untuk memahami mekanisme lebih komperhensif.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kaliyadan F, Nambiar A, Vijayaraghavan S. Androgenetic alopecia: An update. In: *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 2013. p. 613–25.
2. Kaur G, Kuldeep C, Bhargava P, Mathur D, Sharda S, Chaturvedi P. Insignificant correlation between thyroid hormone and antithyroid peroxidase antibodies in alopecia areata patients in Northern Rajasthan. *Int J Trichology*. 2017;9(4):149.
3. Gök AM, Serdaroğlu S, Kutlubay Z. Retrospective Analysis of the Effect of Comorbid Atopic Dermatitis on the Treatment Response to Topical Immunotherapy in Pediatric Alopecia Areata Patients. *Dermatol Pract Concept*. 2024 Jan 31;e2024006.
4. Gandhi K, Shy ME, Ray M, Fridman M, Vaghela S, Mostaghimi A. The Association of Alopecia Areata-Related Emotional Symptoms with Work Productivity and Daily Activity Among Patients with Alopecia Areata. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2023 Jan 9;13(1):285–98.
5. WANG E, MCELWEE KJ. Etiopathogenesis of alopecia areata: Why do our patients get it? *Dermatol Ther*. 2011 May;24(3):337–47.
6. Rinaldi F, Trink A, Giuliani G, Pinto D. Italian Survey for the Evaluation of the Effects of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic on Alopecia Areata Recurrence. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2021 Apr 12;11(2):339–45.
7. Toena HT, Danarti R. Diagnosis Alopecia Areata Pada Anak: Kasus Serial. *Cermin Dunia Kedokteran*. 2022 Apr 1;49(4):214.
8. Bahashwan E, Alshehri M. Insights into Alopecia Areata: A Systematic Review of Prevalence, Pathogenesis, and Psychological Consequences. *Open Dermatol J*. 2024 Feb 13;18(1).
9. Thompson GR, Krois CR, Affolter VK, Everett AD, Varjonen EK, Sharon VR, et al. Examination of Fluconazole-Induced Alopecia in an Animal Model and Human Cohort. *Antimicrob Agents Chemother*. 2019 Feb;63(2).
10. Amalia L, Parwati I, Rizal A, Panigoro R, Gamayani U, Rasyid A, et al. Hypoxia Inducible Factor (HIF) 1-A dan Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada Stroke Iskemik Fase Akut. *Jurnal Neuroanestesi Indonesia*. 2019 Oct 29;8(3):226–32.
11. Stochmal A, Waśkiel-Burnat A, Chrostowska S, Zaremba M, Rakowska A, Czuwara J, et al. Adiponectin as a novel biomarker of disease severity in alopecia areata. *Sci Rep*. 2021 Jul 5;11(1):13809.
12. Majewski M, Gardaś K, Waśkiel-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 17;13(24):7712.
13. Suwarna N, Sidharta VM, Wijaya L, Tan ST. Unlocking the potential of the secretome in hair growth enhancement. *Int J Basic Clin Pharmacol*. 2024 Aug 28;13(5):732–8.
14. Lachgar S, Charveron M, Gall Y, Bonafe JL. Minoxidil upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in human hair dermal papilla cells.

15. Jessika C, Putra A, Sumarawati T. Therapeutic Potential of Secretome from Hypoxic-Mesenchymal Stem Cell (SH-MSC) in Regulating PDGF and IL-1 β Gene Expression in Fluconazole-Related Alopecia. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* [Internet]. 2024 Apr 20;16(1):10–22. Available from: <https://journal.unnes.ac.id/journals/biosaintifika/article/view/3499>
16. Rahmanita MA, Putra A, Hermansyah D. The Effect of Topical Gel Secretome Hypoxic Mesenchymal Stem Cells (SH-MSCs) on IL-6 and TGF- β Gene Expression (Experimental Study in Male Wistar Alopecia-Like Rat Models Induced by Fluconazole). *INTERNATIONAL JOURNAL OF MULTIDISCIPLINARY RESEARCH AND ANALYSIS* [Internet]. 2023 Dec 16;06(12). Available from: <https://ijmra.in/v6i12/34.php>
17. Bak DH, Choi MJ, Kim SR, Lee BC, Kim JM, Jeon ES, et al. Human umbilical cord blood mesenchymal stem cells engineered to overexpress growth factors accelerate outcomes in hair growth. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*. 2018;22(5):555.
18. Ntarelli N, Gahoonia N, Sivamani RK. Integrative and Mechanistic Approach to the Hair Growth Cycle and Hair Loss. Vol. 12, *Journal of Clinical Medicine*. MDPI; 2023.
19. Harrison S, Bergfeld W. Diffuse hair loss: Its triggers and management. Vol. 76, *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. 2009. p. 361–7.
20. Hordinsky MK. Overview of Alopecia Areata. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. 2013 Dec;16(1):S13–5.
21. El Taieb MA, Ibrahim H, Nada EA, Seif Al-Din M. Platelets rich plasma versus minoxidil 5% in treatment of alopecia areata: A trichoscopic evaluation. *Dermatol Ther*. 2017 Jan;30(1):e12437.
22. Bhat YJ, Sajad P, Hassan I. Etiopathogenesis of Alopecia Areata. *Hair : Therapy & Transplantation*. 2014 Feb 28;04(02).
23. Gregoriou S, Papafragkaki D, Kontochristopoulos G, Rallis E, Kalogeromitros D, Rigopoulos D. Cytokines and Other Mediators in Alopecia Areata. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:1–5.
24. Xu W, Shen Y, Sun J, Wei D, Xie B, Song X. Causal role of immune cells in alopecia areata: A two-sample Mendelian randomization study. *Skin Research and Technology*. 2024 Jan 14;30(1).
25. McElwee KJ, Gilhar A, Tobin DJ, Ramot Y, Sundberg JP, Nakamura M, et al. What causes alopecia areata? *Exp Dermatol*. 2013 Sep 16;22(9):609–26.
26. K. RG, RM, GO, Rendon Juarez. Alopecia Areata. Current situation and perspectives. *Arch Argent Pediatr*. 2017 Dec 1;115(6).
27. Simakou T, Butcher JP, Reid S, Henriquez FL. Alopecia areata: A multifactorial autoimmune condition. *J Autoimmun*. 2019 Mar;98:74–85.
28. Moqadam SD, Mofarrah R, Amiri KJ, Montazer F, Barqi A, Mofarrah R. Tinea capitis mimicking alopecia areata. *Our Dermatology Online*. 2021 Jan 2;12(1):40–3.
29. Renert-Yuval Y, Guttman-Yassky E. The Changing Landscape of Alopecia Areata: The Therapeutic Paradigm. *Adv Ther*. 2017 Jul 23;34(7):1594–609.

30. Arousse A, Boussofara L, Mokni S, Gammoudi R, Saidi W, Aounallah A, et al. Alopecia areata in Tunisia: epidemio-clinical aspects and comorbid conditions. A prospective study of 204 cases. *Int J Dermatol*. 2019 Jul 24;58(7):811–5.
31. Herskovitz I, Freedman J, Tosti A. Minoxidil induced hypertrichosis in a 2 year-old child. *F1000Res*. 2013 Oct 28;2:226.
32. Perera E, Sinclair R. Treatment of chronic telogen effluvium with oral minoxidil: A retrospective study. *F1000Res*. 2017 Sep 6;6:1650.
33. Shen Y, Sun J, Zhu Y, Chen Y, Hu Y, Luo H, et al. Effect of fractional laser alone or in combination on alopecia areata: A systematic review and meta-analysis. *J Cosmet Dermatol*. 2023 May 31;22(5):1528–35.
34. Vastarella M, Cantelli M, Patrì A, Annunziata MC, Nappa P, Fabbrocini G. Efficacy and safety of oral minoxidil in female androgenetic alopecia. *Dermatol Ther*. 2020 Nov 14;33(6).
35. Kharis Khamdan M, Widia Y, J. Setiabudi R, Ervianti E. Potential Herbal Medicine for Alopecia Areata Treatment: A Systematic Review. *International Journal of Research Publications*. 2022 Dec 1;115(1).
36. Zuo XL, Dongcheng W, Yu D, Sa'ad MA, Teng SL, Ravichandran M, et al. Isolation, Biological Characterization, and Quality Inspection of Human Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells for Clinical Research. *Asian Journal of Biochemistry, Genetics and Molecular Biology*. 2024 Mar 19;16(4):49–69.
37. Li X, Zhang D, Yu Y, Wang L, Zhao M. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell secretome promotes skin regeneration and rejuvenation: From mechanism to therapeutics. *Cell Prolif*. 2024 Apr 26;57(4).
38. Konala VBR, Mamidi MK, Bhonde R, Das AK, Pochampally R, Pal R. The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytotherapy*. 2016 Jan;18(1):13–24.
39. Sabapathy V, Sundaram B, VM S, Mankuzhy P, Kumar S. Human Wharton's Jelly Mesenchymal Stem Cells Plasticity Augments Scar-Free Skin Wound Healing with Hair Growth. *PLoS One*. 2014 Apr 15;9(4):e93726.
40. Soe ZC, Ei ZZ, Visuttijai K, Chanvorachote P. Potential Natural Products Regulation of Molecular Signaling Pathway in Dermal Papilla Stem Cells. *Molecules*. 2023 Jul 19;28(14):5517.
41. Hu S, Li Z, Lutz H, Huang K, Su T, Cores J, et al. Dermal exosomes containing miR-218-5p promote hair regeneration by regulating β -catenin signaling. *Sci Adv*. 2020 Jul 24;6(30).
42. Budamakuntla L, Loganathan E, Suryanarayana S, Dongre A. Neonatal derived mesenchymal stem cell mesotherapy in androgenetic alopecia: a retrospective observational study and review of literature. *International Journal of Scientific Reports*. 2015 May 1;1(1):32.
43. Serarslan G, Savaş N, Yenin JZ. Is atopy and autoimmunity more prevalent in patients with alopecia areata? A comparative study. *Journal of the*

- European Academy of Dermatology and Venereology. 2012 Jun 21;26(6):720–3.
44. Nowaczyk J, Makowska K, Rakowska A, Sikora M, Rudnicka L. Cyclosporine With and Without Systemic Corticosteroids in Treatment of Alopecia Areata: A Systematic Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2020 Jun 8;10(3):387–99.
 45. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. Vol. 25, *Endocrine Reviews*. 2004. p. 581–611.
 46. Zheng Z, Yu Y. A review of recent advances in exosomes and allergic rhinitis. *Front Pharmacol*. 2022 Dec 15;13.
 47. Peach CJ, Mignone VW, Arruda MA, Alcobia DC, Hill SJ, Kilpatrick LE, et al. Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2. *Int J Mol Sci*. 2018 Apr 23;19(4):1264.
 48. Manetti M, Guiducci S, Romano E, Ceccarelli C, Bellando-Randone S, Conforti ML, et al. Overexpression of VEGF_{165b}, an Inhibitory Splice Variant of Vascular Endothelial Growth Factor, Leads to Insufficient Angiogenesis in Patients With Systemic Sclerosis. *Circ Res*. 2011 Jul 22;109(3).
 49. Ved N, Hulse RP, Bestall SM, Donaldson LF, Bainbridge JW, Bates DO. Vascular endothelial growth factor-A165b ameliorates outer-retinal barrier and vascular dysfunction in the diabetic retina. *Clin Sci*. 2017 Jun 1;131(12):1225–43.
 50. Stevens M, Oltean S. Modulation of Receptor Tyrosine Kinase Activity through Alternative Splicing of Ligands and Receptors in the VEGF-A/VEGFR Axis. *Cells*. 2019 Mar 28;8(4):288.
 51. Fearnley GW, Bruns AF, Wheatcroft SB, Ponnambalam S. VEGF-A isoform-specific regulation of calcium ion flux, transcriptional activation and endothelial cell migration. *Biol Open*. 2015 Jun 15;4(6):731–42.
 52. Fearnley GW, Odell AF, Latham AM, Mughal NA, Bruns AF, Burgoyne NJ, et al. VEGF-A isoforms differentially regulate ATF-2–dependent VCAM-1 gene expression and endothelial–leukocyte interactions. *Mol Biol Cell*. 2014 Aug 15;25(16):2509–21.
 53. Fearnley GW, Smith GA, Abdul-Zani I, Yuldasheva N, Mughal NA, Homer-Vanniasinkam S, et al. VEGF-A isoforms program differential VEGFR2 signal transduction, trafficking and proteolysis. *Biol Open*. 2016 May 15;5(5):571–83.
 54. Wu XJ, Jing J, Lu ZF, Zheng M. Expression and localization of VEGFR-2 in hair follicles during induced hair growth in mice. *Arch Dermatol Res*. 2018 Sep 1;310(7):591–8.
 55. Wang Q, Zhou M, Zhang H, Hou Z, Liu D. Hypoxia Treatment of Adipose Mesenchymal Stem Cells Promotes the Growth of Dermal Papilla Cells via HIF-1 α and ERK1/2 Signaling Pathways. *Int J Mol Sci*. 2023 Jul 7;24(13):11198.
 56. Park S, Park HW, Seo DB, Yoo DS, Bae S. In vitro hair growth-promoting effects of araliadiol via the p38/PPAR- γ signaling pathway in human hair follicle stem cells and dermal papilla cells. *Front Pharmacol*. 2024 Dec 3;15.

57. Ding YW, Li Y, Zhang ZW, Dao JW, Wei DX. Hydrogel forming microneedles loaded with VEGF and Ritlecitinib/polyhydroxyalkanoates nanoparticles for mini-invasive androgenetic alopecia treatment. *Bioact Mater.* 2024 Aug;38:95–108.
58. Yoon SY, Dieterich LC, Karaman S, Proulx ST, Bachmann SB, Sciaroni C, et al. An important role of cutaneous lymphatic vessels in coordinating and promoting anagen hair follicle growth. *PLoS One.* 2019 Jul 25;14(7):e0220341.
59. Koning T, Calaf GM. Association of Inflammation and Immune Cell Infiltration with Estrogen Receptor Alpha in an Estrogen and Ionizing Radiation-Induced Breast Cancer Model. *Int J Mol Sci.* 2024 Aug 7;25(16):8604.
60. Andjelkov K, Eremin I, Korac A. Different Levels of EGF, VEGF, IL-6, MCP-1, MCP-3, IP-10, Eotaxin and MIP-1 in Adipose Derived Stem Cells (ADSCs) Secretome in Androgenetic Alopecia [Internet]. 2021. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-137172/v1>
61. Silveira BM, Ribeiro TO, Freitas RS, Carreira ACO, Gonçalves MS, Sogayar M, et al. Secretome from human adipose-derived mesenchymal stem cells promotes blood vessel formation and pericyte coverage in experimental skin repair. *PLoS One.* 2022 Dec 19;17(12):e0277863.
62. 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*. BioMed Central Ltd; 2022.
63. Oz-Tuncer G, Olgunturk R, Pektas A, Cilsal E, Kula S, Oguz DA, et al. The role of inflammatory biomarkers in CHD-associated pulmonary hypertension in children. *Cardiol Young.* 2017 Mar 16;27(2):255–60.
64. Di Paolo NC, Shayakhmetov DM. Interleukin 1 α and the inflammatory process. *Nat Immunol.* 2016 Aug 19;17(8):906–13.
65. Al-Jebouri MM, Al-Mahmood BYR. Estimation of Cytokines Involved in Acute-Phase Wound Infection with Reference to Residence Time of Patients in Hospitals. *Mod Res Inflamm.* 2019;08(01):1–10.
66. Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage. *Ann Rheum Dis.* 2011 Mar;70:i104–8.
67. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. Vol. 281, *Immunological Reviews*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 197–232.
68. Mamoor S. Interleukin-1 α and the interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RN) are differentially expressed in the primary tumors of breast cancer patients treated with trastuzumab.
69. Zhang X, Shephard F, Kim HB, Palmer IR, McHarg S, Fowler GJS, et al. TILRR, a Novel IL-1RI Co-receptor, Potentiates MyD88 Recruitment to Control Ras-dependent Amplification of NF- κ B. *Journal of Biological Chemistry.* 2010 Mar;285(10):7222–32.

70. Liu F, Wang Z, Qiu Y, Wei M, Li C, Xie Y, et al. Suppression of MyD88-dependent signaling alleviates neuropathic pain induced by peripheral nerve injury in the rat. *J Neuroinflammation*. 2017 Dec 31;14(1):70.
71. Kumar V, Al-Abbasi FA, Ahmed D, Verma A, Mujeeb Mohd, Anwar F. *Paederia foetida* Linn. inhibits adjuvant induced arthritis by suppression of PGE₂ and COX-2 expression via nuclear factor- κ B. *Food Funct*. 2015;6(5):1652–66.
72. Ahn CB, Jung WK, Park SJ, Kim YT, Kim WS, Je JY. Gallic Acid-g-Chitosan Modulates Inflammatory Responses in LPS-Stimulated RAW264.7 Cells Via NF- κ B, AP-1, and MAPK Pathways. *Inflammation*. 2016 Feb 28;39(1):366–74.
73. Hirsiger S, Simmen HP, Werner CML, Wanner GA, Rittirsch D. Danger Signals Activating the Immune Response after Trauma. *Mediators Inflamm*. 2012;2012:1–10.
74. Yu CH, Suh B, Shin I, Kim EH, Kim D, Shin YJ, et al. Inhibitory Effects of a Novel Chrysin-Derivative, CPD 6, on Acute and Chronic Skin Inflammation. *Int J Mol Sci*. 2019 May 28;20(11):2607.
75. Satyasri T, Nawani S, Narasimharao Netha G, Rammohan G, Kumar B. Autoimmune associations of alopecia areata in pediatric population - A study in tertiary care centre. *IP Indian Journal of Clinical and Experimental Dermatology*. 2020 May 28;6(1):41–4.
76. Behrangi E, Zamanian A, Ghaffarpour G, Hashemi Orimi M, Heydarian A, Azizian Z. Platelet-Rich Plasma (PRP) Effect on Androgenetic Alopecia and Female Pattern Hair Loss. *Journal of Skin and Stem Cell*. 2019 Dec 21;6(1).
77. Kuczara A, Wałkiel-Burnat A, Rakowska A, Olszewska M, Rudnicka L. Trichoscopy of Androgenetic Alopecia: A Systematic Review. *J Clin Med*. 2024 Mar 28;13(7):1962.
78. Kandpal R. Alopecia universalis in a case of rheumatoid arthritis after treatment with etanercept. *Int J Trichology*. 2019;11(4):173.
79. Wang J, Ma Y, Li T, Li J, Yang X, Hua G, et al. MiR-199a-3p Regulates the PTPRF/ β -Catenin Axis in Hair Follicle Development: Insights into the Pathogenic Mechanism of Alopecia Areata. *Int J Mol Sci*. 2023 Dec 18;24(24):17632.
80. Sellami R, Féki I, Masmoudi R, Hentati S, Turki H, Masmoudi J. Stressful life events in alopecia areata patients: A case control study. *Our Dermatology Online*. 2020 Aug 15;11(e):e108.1-e108.3.
81. Bangsawan CC, Kurniawaty E, Utari Gita Mutiara, Betta Kurniawan. Pengaruh Pemberian Injeksi Intramuskular Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia Terhadap Gambaran Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague dawley yang diinduksi Aspirin. *MAJORITY*. 2022 Aug 10;11(1):31–6.
82. Marino L, Castaldi MA, Rosamilio R, Ragni E, Vitolo R, Fulgione C, et al. Mesenchymal Stem Cells from the Wharton's Jelly of the Human Umbilical Cord: Biological Properties and Therapeutic Potential. *Int J Stem Cells*. 2019 Jul 30;12(2):218–26.

83. Wardoyo AV, Kurniawati E, Susianti S, Busman H. Pengaruh Pemberian Injeksi Intramuskular Sel Punca Mesenkimal Tali Pusat Manusia terhadap Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Aspirin. *Medical Profession Journal of Lampung*. 2022 Jul 30;12(1):88–94.
84. Choi YM, Choi SY, Kim H, Kim J, Ki MS, An I sook, et al. TGFβ family mimetic peptide promotes proliferation of human hair follicle dermal papilla cells and hair growth in C57BL/6 mice. *Biomedical Dermatology*. 2018 Dec 7;2(1):23.
85. Benitez LL, Carver PL. Adverse Effects Associated with Long-Term Administration of Azole Antifungal Agents. *Drugs*. 2019 Jun 15;79(8):833–53.
86. Yarosz EL, Chang CH. The Role of Reactive Oxygen Species in Regulating T Cell-mediated Immunity and Disease. *Immune Netw*. 2018;18(1).
87. Peng HY, Lucavs J, Ballard D, Das JK, Kumar A, Wang L, et al. Metabolic Reprogramming and Reactive Oxygen Species in T Cell Immunity. *Front Immunol*. 2021 Mar 31;12.
88. Zhang Z, Wang L, Li F, Qian X, Hong Z, Wu L, et al. Therapeutic effects of human umbilical cord mesenchymal stem cell on sepsis-associated encephalopathy in mice by regulating PI3K/AKT pathway. *J Integr Neurosci*. 2022 Jan 28;21(1).
89. Uzel BPC, Takano GHS, Chartuni JCN, Cesetti MV, Gavioli CFB, Lemes AM, et al. Intradermal injections with 0.5% minoxidil for the treatment of female androgenetic alopecia: A randomized, placebo-controlled trial. *Dermatol Ther*. 2021 Jan 10;34(1).
90. Shiddiqi T, Arifin Adnan Z, Nurudhin Sub Bagian Reumatologi A, Ilmu Penyakit Dalam B. PENGARUH SECRETOME SEL PUNCA MESENKIMAL TERHADAP EKSPRESI INTERLEUKIN-1β DAN CASPASE-1 THE EFFECT OF MESENCHYMAL STEM CELL SECRETOME TOWARD INTERLEUKIN-1β AND CASPASE-1 EXPRESSION. Vol. 9. 2017.
91. 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 Jan 1;12(1):39–49.
92. Gnann LA, Castro RF, Azzalis LA, Feder D, Perazzo FF, Pereira EC, et al. Hematological and hepatic effects of vascular epidermal growth factor (VEGF) used to stimulate hair growth in an animal model. *BMC Dermatol*. 2013 Dec 29;13(1):15.
93. Jessika C, Putra A, Sumarawati T. Therapeutic Potential of Secretome from Hypoxic-Mesenchymal Stem Cell (SH-MSC) in Regulating PDGF and IL-1β Gene Expression in Fluconazole-Related Alopecia. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education [Internet]*. 2024 Apr 20;16(1):10–22. Available from: <https://journal.unnes.ac.id/journals/biosaintifika/article/view/3499>
94. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) Pathway. *Sci Signal*. 2010 Jan 19;3(105).