

**PENGARUH SERUM FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MANGKOKAN
(*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM*) TERHADAP EKSPRESI
NF- κ B DAN IGF-1
(Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Alopecia Androgenetik yang
Diinduksi Testosteron Propionat)**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Program Studi Magister Ilmu Biomedik

Shinta Triadma

MBK2424010493

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

2026

TESIS

PENGARUH SERUM FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MANGKOKAN (*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM*) TERHADAP EKSPRESI

NF- κ B DAN IGF-1

**(Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Alopecia Androgenetik yang Diinduksi
Testosteron Propionat)**

Disusun oleh :

Shinta Triadma

MBK2424010493

Akan dipertahankan di depan Tim Penguji
pada tanggal 18 Februari 2026
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Atina Husaanaa, M.si, Apt

NIK. 210198047

Dr. dr. Hj. Chodidjah, M. Kes. PAK (K)

NIK. 210186023

Mengetahui,

Ketua program studi magister ilmu biomedik
Fakultas kedokteran unissula



Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes

NIK. 210198046

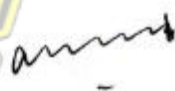
LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI

Laporan Tesis Dengan Judul " PENGARUH SERUM FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MANGKOKAN (*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM*) TERHADAP EKSPRESI NF- κ B DAN IGF-1 (Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Alopecia Androgenetik yang Diinduksi Testosteron Propionat)

" ini telah dipertahankan di depan Penguji Sidang Akhir pada :

Hari : Rabu

Tanggal : 18 Februari 2026

NO	NAMA	JABATAN	TANDA TANGAN
1.	Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS	Penguji I	
2.	Dr. Suparmi, S.Si, M.Si	Penguji II	
3.	Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, S.H., Sp.KF	Penguji III	
4.	Prof. Dr. Atina Husaanaa, M.si, Apt	Pembimbing I	
5.	Dr. dr. Chodidjah, M.Kes	Pembimbing II	

SURAT 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 penertiban maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, 19 Februari 2026

(Shinta Triadma)

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Shinta Triadma
Tempat/tanggal lahir : Sawahlunto/24 Desember 1988
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. SD : Lulus tahun 2001
2. SMP : Lulus tahun 2003
3. SMA : Lulus tahun 2006
4. S1 : Lulus tahun 2010
5. Profesi Dokter FK : Lulus tahun 2012
6. Magister Sains Manajemen : Lulus tahun 2022
7. Magister Biomedik FK Unissula : Lulus tahun 2026

C. Riwayat Keluarga

Nama Suami : dr. Kiko pandimata, Sp. OG



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penyusunan tesis dengan judul **“PENGARUH SERUM FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MANGKOKAN (*NOTHOPANAX SCUTELLARIUM*) TERHADAP EKSPRESI NF- κ B DAN IGF-1 (Studi Eksperimental Pada Model Tikus Wistar Alopecia Androgenetik yang Diinduksi Testosteron Propionat)”**.

Pada penyusunan tesis ini penyusun mendapat bantuan pengarahan dan bimbingan, untuk itu pada penyusun ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya pada yang terhormat :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, SH., M.H selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung beserta para wakil rektor yang telah memberikan kesempatan kepada saya untuk menempuh dan menyelesaikan Pendidikan Magister Ilmu Biomedik.
2. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung dan dosen penguji I yang telah memberikan kesempatan dan dorongan untuk mengikuti pendidikan di program Magister Ilmu Biomedik.
3. Dr. dr. Joko Wahyu Wibowo, M.Kes selaku ketua Program Studi Magister Ilmu yang telah berkenan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
4. Prof. Dr. Atina Husaanaa, M.si. Apt selaku pembimbing I yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.

5. Dr. dr. Hj. Chodidjah, M.Kes selaku pembimbing II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
6. Dr. Suparmi S.Si, M.si selaku Dosen penguji II yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
7. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, Sp. F, SH selaku Dosen penguji III yang telah memberikan dorongan, semangat bimbingan masukan penyusun selama penyusunan tesis ini.
8. Pada dosen pengajar dan rekan-rekan staf Magister Ilmu Biomedik yang tidak dapat disebutkan satu-satu yang telah memberikan doa dan dorongan kepada penyusun.
9. Kedua orangtua dan saudara yang terhormat Adriati, Drs. Syafril, Indriani Ekawati, S.Tr. Keb, Rionaldi, AMD yang telah memberikan dorongan, serta doa sehingga tesis ini dapat terselesaikan.
10. Kepada suami tercinta dr. Kiko Pandimata, Sp. OG dan anak-anak tersayang Dastan NP, Ranya AP, Aydan NP, Shahinazz ZP, yang selalu memberikan dorongan semangat, doa, dan nasehat kepada penyusun untuk segera mengerjakan dan menyelesaikan tesis ini.
11. Seluruh pihak yang telah memberikan perhatian dan bantuan dalam penyusunan tesis yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Manusia tidak luput dari kesalahan karena tidak ada manusia yang sempurna, untuk itu penyusun berharap dengan semua kekurangan dalam penulisan tesis ini, tetap dapat memberikan manfaat bagi penyusun pribadi, bagi Program Pendidikan Magister Program Studi Ilmu Biomedik serta bagi pihak-pihak lain yang berkepentingan. Akhir kata semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan berkah dan rahmatnya kepada kita semua, amin.

Semarang, Februari 2026



(Shinta Triadma)



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN DEWAN PENGUJI	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
RIWAYAT HIDUP.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK.....	xvi
<i>ABSTRACT</i>	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1. Tujuan Umum.....	3
1.3.2. Tujuan Khusus.....	4
1.4. Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	4
1.4.2. Manfaat praktis	5
1.5. Originalitas Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1. Alopecia Androgenetik (AGA)	8
2.1.1. Definisi Alopecia androgenetik (AGA).....	8
2.1.2. Epidemiologi Alopecia androgenetik (AGA).....	8
2.1.3. Patofisiologi Alopecia androgenetik (AGA)	9
2.1.4. Klasifikasi Alopecia androgenetik (AGA)	12

2.1.5. Pengobatan Alopecia Androgenetik (AGA).....	15
2.2. <i>Nuclear Factor-Kappa B</i> (NF- κ B)	15
2.2.1. Peran NF- κ B Pada Alopecia.....	15
2.2.2. Mekanisme kerja NF- κ B.....	16
2.2.3. Faktor yang mempengaruhi kadar ekspresi NF- κ B	18
2.3. <i>Insulin-Like Growth Factor-I</i> (IGF-1).....	20
2.3.1. Definisi IGF-1	20
2.3.2. Struktur IGF-1	21
2.3.3. Peranan IGF-1 pada alopecia.....	23
2.3.4. Faktor yang mempengaruhi kadar ekspresi IGF-1	26
2.4. Tanaman Daun Mangkogan (<i>Nothopanax scutellarium</i>)	27
2.4.1. Karakteristik Daun Mangkogan.....	27
2.4.2. Klasifikasi Tanaman Mangkogan.....	29
2.4.3. Morfologi Tanaman Mangkogan.....	29
2.4.4. Ekstrak Daun Mangkogan	30
2.4.5. Fraksi Daun Mangkogan.....	34
2.5. Model Tikus Alopecia Terinduksi Testosteron	36
2.6. Pengaruh Pemberian Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkogan terhadap Ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada Tikus Alopecia yang Diinduksi Testosteron Propionat	38
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS.....	40
3.1. Kerangka Teori.....	40
3.2. Kerangka Konsep	43
3.3. Hipotesis	43
BAB IV METODE PENELITIAN	44
4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian.....	44
4.2. Populasi dan Sampel Penelitian.....	45
4.2.1. Populasi dan Sampel.....	45
4.2.2. Cara Pengambilan Sampel Penelitian.....	45
4.2.3. Kriteria inklusi	45
4.2.4. Kriteria Eksklusi	46

4.2.5.	Kriteria <i>Drop out</i>	46
4.2.6.	Besar Sampel	46
4.3.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	47
4.3.1.	Variabel bebas	47
4.3.2.	Variabel terikat	47
4.3.3.	Definisi Operasional	47
4.4.	Alat dan Bahan Penelitian	50
4.4.1.	Alat	50
4.4.2.	Bahan	51
4.5.	Cara Penelitian.....	52
4.5.1.	Cara Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Mangkokan	52
4.5.2.	Pembuatan Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkokan	55
4.5.3.	Penetapan Dosis Fraksi Daun Mangkokan.....	58
4.5.4.	Adaptasi Hewan Uji Coba	58
4.5.5.	Cara induksi testotestosterone	58
4.5.6.	Pembagian Kelompok.....	60
4.5.7.	Pengukuran Panjang rambut.....	61
4.5.8.	Pengukuran Kadar testotestosterone	61
4.6.	Tempat dan Waktu Penelitian.....	62
4.7.	Metode Analisis Data	62
4.8.	Alur Penelitian.....	64
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....		65
5.1.	Hasil Penelitian.....	68
5.1.1.	Panjang Rambut.....	68
5.1.2.	Kadar Testosterone	71
5.1.3.	Ekspresi NF- κ B	72
5.1.4.	Ekspresi IGF-1	75
5.2.	Pembahasan	78
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN		97
6.1.	Kesimpulan.....	97
6.2.	Saran	98

DAFTAR PUSTAKA	99
LAMPIRAN.....	107



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Originalitas Penelitian	6
Tabel 4.1.	Formulasi Pembuatan Serum	56
Tabel 5.1.	Hasil Pengukuran Panjang Rambut.....	68
Tabel 5.2.	Hasil Penelitian Kadar Testosteron	71
Tabel 5.3.	Hasil Penelitian Ekspresi NF- κ B	73
Tabel 5.4.	Uji Post Hoc Ekspresi NF- κ B antar kelompok penelitian.....	74
Tabel 5.5.	Hasil Penelitian Ekspresi NF- κ B dan IGF-1	76
Tabel 5.6.	Uji Post Hoc Ekspresi IGF-1 antar kelompok penelitian.....	77



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Siklus Pertumbuhan Rambut yang Menyebabkan AGA	10
Gambar 2.2.	Ilustrasi skematis mekanisme seluler aksi androgen, DHT, dan AR dalam memediasi AGA.....	12
Gambar 2.3.	Klasifikasi Norwood-Hamilton Untuk Alopecia Androgenetik Pada Pria	15
Gambar 2.4.	Fungsi biologis sinyal NF- κ B.....	18
Gambar 2.5.	Sistem GH-IGF-SST.....	23
Gambar 2.6.	Interaksi IGF-1 dan faktor pertumbuhan lainnya dalam regulasi pertumbuhan rambut.....	25
Gambar 2.7.	Pohon dan Daun Mangkokan.....	28
Gambar 2.8.	Senyawa aktif dalam <i>Nothopanax scutellarium</i>	31
Gambar 2.9.	Mekanisme Kerja Daun Mangkokan dalam Pertumbuhan Rambut.....	33
Gambar 2.10.	Perhitungan indeks iritasi.....	35
Gambar 2.11.	Kriteria penggolongan sediaan uji yang bersifat iritan.....	35
Gambar 2.12.	Penilaian reaksi iritasi pada kulit.....	36
Gambar 3.1.	Kerangka Teori.....	42
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep.....	43
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian.....	45
Gambar 4.2.	Alur Pembuatan Ekstrak Daun Mangkokan.....	54
Gambar 4.3.	Alur Pembuatan Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkokan.....	55
Gambar 4.4.	Alur Penelitian.....	64
Gambar 5.1.	Validasi alopecia pada tikus (A) tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan induksi testosterone propionate.....	66
Gambar 5.2.	Uji Iritasi Dermal Pada Tikus.....	67
Gambar 5.3.	Panjang Rambut Hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28.....	70
Gambar 5.4.	Kadar Testosteron Hari ke 7 dan 28.....	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clereance</i>	107
Lampiran 2. Data Penelitian.....	108
Lampiran 3. Hasil Analisis Data	113
Lampiran 4. Dokumentasi.....	157



ABSTRAK

Latar belakang: Alopecia androgenetik (AGA) merupakan bentuk kerontokan rambut progresif yang paling sering terjadi pada pria, dengan prevalensi tinggi dan dampak signifikan terhadap kualitas hidup. Terapi standar seperti minoksidil topikal dan finasterid oral efektif menekan kerontokan rambut, namun penggunaannya terbatas oleh efek samping dan efektivitas yang hanya berlangsung selama terapi. Daun mangkoka diketahui mengandung flavonoid, saponin, dan tanin yang memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan. Senyawa bioaktif tersebut berpotensi menekan jalur inflamasi melalui inhibisi aktivasi NF- κ B serta meningkatkan IGF-1 yang berperan penting dalam mempertahankan fase anagen dan regenerasi rambut. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat.

Metode: Penelitian eksperimental dengan *post-test only control group design*. Kelompok K2, K3, K4 dan K5 masing-masing diinduksi testosteron, sedangkan pada kelompok K1 adalah kelompok sehat. Pada K4 diberi serum fraksi etil asetat daun mangkoka dengan dosis 2% dan K5 diberi 5% setiap hari selama 28 hari, sedangkan K2 diinduksi testosteron propionat sedangkan K3 diberi minoksidil 2%. Ekspresi NF- κ B dan IGF-1 diperiksa dari sampel jaringan kulit punggung pada hari ke 28.

Hasil: Hasil analisis ekspresi gen NF- κ B diperoleh nilai Δ Cq rata-rata (mean $\pm$ SD) kelompok K5 memiliki tingkat penurunan paling besar sebesar $8,456\pm0,35$ diikuti K4 sebesar $7,952\pm0,34$, K3 sebesar $7,312\pm0,33$, dan K2 sebesar $7,12\pm0,34$, sedangkan K1 sebesar $0,00\pm0,00$. Hasil analisis ekspresi gen IGF-1 diperoleh nilai K1 sebesar $7,452\pm0,47$; K2 $0,00\pm0,00$; K3 $7,296\pm0,47$; K4 $8,774\pm0,46$; dan K5 $7,824\pm0,49$. Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka konsentrasi 2% dan 5% terbukti berpengaruh signifikan dalam menurunkan ekspresi NF- κ B ($p = 0,000$) dan meningkatkan ekspresi IGF-1 ($p = 0,000$) pada tikus Wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat. Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka menyebabkan ekspresi NF- κ B paling rendah dengan efek paling optimal pada dosis 5% dan menyebabkan ekspresi IGF-1 paling tinggi pada dosis 5%.

Kesimpulan: Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka berpengaruh terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat.

Kata Kunci: serum fraksi etil asetat, daun mangkoka, ekspresi, NF- κ B, IGF-1.

ABSTRACT

Background: Androgenetic alopecia (AGA) is the most common form of progressive hair loss in men, with a high prevalence and significant impact on quality of life. Standard therapies such as topical minoxidil and oral finasteride are effective in suppressing hair loss, but their use is limited by side effects and effectiveness that only lasts as long as therapy continues. Mangkokan leaves are known to contain flavonoids, saponins, and tannins that have anti-inflammatory and antioxidant activities. These bioactive compounds have the potential to suppress inflammatory pathways through the inhibition of NF- κ B activation and increase IGF-1, which plays an important role in maintaining the anagen phase and hair regeneration. This study aims to prove the effect of ethyl acetate fraction serum from mangkokan leaves on NF- κ B and IGF-1 expression in Wistar rats with androgenetic alopecia induced by testosterone propionate.

Method: Experimental research with a post-test only control group design. The K2, K3, K4, and K5 groups were each induced with testosterone, while the K1 group was the healthy control group. K4 was given 1% ethyl acetate fraction serum from mangkokan leaves and K5 was given 5% daily for 28 days, while K2 induced by testosterone propionate and K3 was given 2% minoxidil. NF- κ B and IGF-1 expression was examined from back skin tissue samples on day 28.

Results: The results of NF- κ B gene expression analysis obtained an average Δ Cq value (mean $\pm$ SD) for group K5 with the largest decrease of $8,456\pm0,35$, followed by K4 at $7,952\pm0,34$, K3 at $7,312\pm0,33$, and K2 at $7,12\pm0,34$, while K1 was $0,00\pm0,00$. The results of the IGF-1 gene expression analysis obtained values of K1 at $7,452\pm0,47$, K2 at $0,00\pm0,00$, K3 at $7,296\pm0,47$, K4 at $8,774\pm0,46$, and K5 at $7,824\pm0,49$. Administration of 2% and 5% ethyl acetate fraction serum from mangkokan leaves was shown to have a significant effect in reducing NF- κ B expression ($p = 0.000$) and increasing IGF-1 expression ($p = 0.003$) in Wistar rats with testosterone propionate-induced androgenetic alopecia. Administration of ethyl acetate fraction serum from mangkokan leaves caused the lowest NF- κ B expression with the most optimal effect at a dose of 5% and caused the highest IGF-1 expression at a dose of 5%.

Conclusion: Administration of ethyl acetate fraction serum from mangkokan leaves affected NF- κ B and IGF-1 expression in testosterone propionate-induced androgenetic alopecia Wistar rats.

Keywords: ethyl acetate fraction serum, mangkokan leaves, expression, NF- κ B, IGF-1.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alopecia androgenetik (AGA) merupakan bentuk kerontokan rambut progresif yang paling sering terjadi pada pria memengaruhi 30-50% pria usia 50 tahun.¹ Terapi yang disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) adalah minoksidil topikal dan finasterid oral, bekerja dengan memperpanjang fase anagen, maupun penghambatan enzim 5 α -reduktase.^{2,3} Minoksidil dan finasterid terbukti menekan kerontokan rambut, efeknya hanya berlangsung selama penggunaan dan dapat menimbulkan efek samping seperti iritasi kulit kepala, hipertrikosis, serta gangguan fungsi seksual.⁴ Selain itu, minoksidil dapat menimbulkan iritasi kulit kepala dan hipertrikosis pada area tubuh lain, sedangkan finasterid sering dikaitkan dengan gangguan fungsi seksual seperti penurunan libido, dan disfungsi ereksi yang dapat menetap.⁴⁻⁸ Kekhawatiran terhadap efek jangka panjang, mendorong eksplorasi bahan tradisional, misalnya daun mangkokan (*Nothopanax scutellarium*).⁹⁻¹¹

AGA merupakan penyebab paling umum kerontokan rambut progresif kronis pada pria muda dan setengah baya, dan memiliki tingkat kejadian di seluruh dunia sekitar 20%.^{12,13} Prevalensi AGA diperkirakan mencapai 50% pada pria berusia di atas 50 tahun.¹⁴ Penipisan rambut dapat dimulai sejak masa pubertas.^{15,16} AGA berdampak negatif terhadap kualitas hidup serta kesehatan fisik dan mental.¹³ Gangguan AGA dapat sangat merugikan kesejahteraan psikologis, mengurangi harga diri dan kepercayaan diri, serta

meningkatkan kecemasan dan depresi.^{17,18} Tingginya angka prevalensi dengan beban psikososial menegaskan AGA merupakan masalah medis yang penting untuk ditangani secara komprehensif.

Penelitian pra-klinik menunjukkan ekstrak daun mangkoka mampu meningkatkan jumlah folikel fase anagen dan mempertebal diameter rambut, bahkan lebih baik dibandingkan minoksidil 2% pada hewan coba.¹⁹ Namun, sebagian besar penelitian masih berfokus pada parameter makroskopis.^{17,18} Penelitian yang mengevaluasi biomarker molekuler penting masih terbatas seperti ekspresi *Nuclear Factor-Kappa B* (NF- κ B) dan *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1). Studi terdahulu masih berfokus pada panjang, jumlah, atau diameter rambut, tanpa mengukur biomarker molekuler yang relevan dengan patogenesis AGA.¹⁹⁻²¹

Daun mangkoka dari famili *Araliaceae* sumber anti-inflamasi dan imunomodulator.²² Fraksi etil asetat daun mangkoka memiliki daya hambat sebagai antibakteri, memiliki aktivitas sebagai antioksidan.^{23,24} Secara fitokimia, daun mangkoka diketahui kaya flavonoid terutama *quarcetin*, dengan aktivitas antioksidan berpotensi menekan jalur inflamasi.^{25,26} *Quarcetin* berperan sebagai antiinflamasi, antioksidan, dan protektor jaringan. Studi sebelumnya menunjukkan aktivasi NF- κ B berperan dalam inflamasi folikel dan miniaturisasi rambut, sedangkan IGF-1 berfungsi mempertahankan fase anagen dan regenerasi rambut.^{27,28} Penelitian terdahulu membuktikan bahwa daun mangkoka menekan aktivasi NF- κ B dengan menurunkan ekspresi *Interleukin-6* (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor alpha*

(TNF- α) pada Makrofag RAW 264.7.²⁶ Dibanding obat konvensional, produk alami memiliki potensi lebih besar karena bekerja melalui multi-mekanisme. Senyawa uji alami seperti *quercetin* mendukung pengembangan terapi anti alopecia yang lebih efektif dan minim efek samping.²⁹ *Quercetin* juga dilaporkan menurunkan IL-6 dan TNF- α serta mendukung respon antiinflamasi.³⁰

Penelitian ini bertujuan untuk menguji secara langsung efek serum fraksi etil asetat daun mangkogan terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-1. Ekstrak daun mangkogan diformulasikan dalam bentuk serum fraksi etil asetat kadar 2% dan 5% dan diamati berdasarkan efektivitasnya dalam merangsang pertumbuhan rambut. Hasil penelitian diharapkan dapat mendorong pemanfaatan daun mangkogan dalam regulasi inflamasi dan angiogenesis.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkogan berpengaruh terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada tikus wistar jantan alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkogan terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-

1 pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat.

1.3.2. Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah:

1. Mengukur ekspresi NF- κ B pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat.
2. Mengukur ekspresi IGF-1 pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat.
3. Membedakan pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% dan 5% terhadap ekspresi NF- κ B pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat dibandingkan kelompok kontrol.
4. Membedakan pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% dan 5% terhadap ekspresi IGF-1 pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat dibandingkan kelompok kontrol.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Manfaat teoritis yang terdapat dari penelitian ini adalah adanya tambahan khasanah ilmu pengetahuan di bidang farmakologi dan fitoterapi khususnya mengenai pemberian fraksi etil asetat daun

mangkogan terhadap ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada tikus wistar jantan alopecia yang diinduksi testosterone propionat.

1.4.2. Manfaat praktis

Mengembangkan potensi pemanfaatan serum fraksi etil asetat daun mangkogan sebagai terapi tambahan atau alternatif dari bahan alam yang bermanfaat mengatasi masalah kerontokan rambut akibat alopecia.

1.5. Originalitas Penelitian

Penelitian terdahulu telah banyak mengkaji potensi produk alami dalam menstimulasi pertumbuhan rambut melalui mekanisme antiinflamasi, antioksidan, dan regulasi molekuler. Namun, fokus, metode, dan objek yang digunakan berbeda-beda. Tabel 1.1 menunjukkan posisi serta kebaruan penelitian ini, berdasarkan perbandingan dengan penelitian sebelumnya. Studi-studi terdahulu lebih banyak berfokus pada pertumbuhan rambut makroskopis (panjang, jumlah, diameter) dan aktivitas antiinflamasi umum. Belum ada penelitian efek fraksi etil asetat daun mangkogan yang secara langsung mengevaluasi ekspresi NF- κ B (proinflamasi) dan IGF-1 (regeneratif) secara bersamaan pada model alopecia androgenetik berbasis induksi testosteron. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah serum fraksi etil asetat daun mangkogan di treatment pada tikus yang diinduksi testosteron propionat dan dianalisis ekspresi NF- κ B dan IGF-1.

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti, tahun	Judul	Hewan coba	Hasil
1.	Rifkia et al., 2017 ¹¹	<i>Hair Growth Promoting Activity of Nothopanax scutellarium Merr. Leaves</i>	Kelinci putih jantan New Zealand	Fraksi etil asetat daun <i>N. scutellarium</i> sebanyak 0,2 g memberikan efek iritasi ringan, sedangkan formula yang mengandung fraksi 0,5% dan 1% mampu meningkatkan pertumbuhan rambut dan diameter rambut.
2.	Rahmi et al., 2021 ¹⁹	<i>Formulation and Evaluation of Phytosome Lotion From Nothopanax Scutellarium Leaf Extract for Hair Growth</i>	Kelinci jantan New Zealand	Pemberian <i>phytosome lotion</i> menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi daripada minoksidil 2% ($p = 0,0001$). <i>Phytosome lotion</i> (30%) menunjukkan efikasi tertinggi untuk panjang, berat, dan diameter rambut.
3.	Budi, 2022 ³¹	Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Kelinci Jantan Sediaan <i>Water Based Pomade</i> Ekstrak Daun Mangkokan (<i>Nothopanax scutellarium Merr</i>)	Kelinci jantan New Zealand	Formulasi dengan konsentrasi ekstrak daun mangkokan 10% merupakan ekstrak yang paling signifikan dalam pertumbuhan rambut. Pertumbuhan rata-rata panjang rambut yang paling signifikan yaitu pada hari ke 7, dimana untuk persentase kenaikan pertumbuhan rambut mencapai 61,8%.
4.	Sriyanti et al, 2023 ³²	<i>Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of Nothopanax Scutellarium, Moringa Oleifera and</i>	Kelinci	Ekstrak etanol <i>Nothopanax Scutellarium</i> memiliki ekspresi IL-6 yang lebih rendah secara signifikan

No	Peneliti, tahun	Judul	Hewan coba	Hasil
		<i>Piper Betle Extracts on Staphylococcal Mastitis Animal Model</i>		dibandingkan dengan kontrol mastitis
5.	Nguyen et al., 2025 ²⁶	<i>The Ethanol Extract of Polyscias Scutellaria (EEPS) Shows Anti-Inflammatory Signaling Pathway Against LPS-Induced Inflammation in RAW 264.7 Macrophages</i>	Makrofag RAW 264.7	EEPS secara signifikan menghambat efek-efek ini. EEPS juga mengurangi ekspresi sitokin pro-inflamasi IL-1 β , IL-6, dan TNF- α yang diinduksi LPS. Data imunoblot mengungkapkan bahwa EEPS menekan aktivasi NF- κ B dengan mencegah fosforilasi p65 dan I κ B- α serta menghambat fosforilasi protein MAPK ERK, p38, dan JNK.
6.	Wang et al., 2025 ³³	<i>Fucoidan Treatment Reverses Hair Loss and Inhibits Inflammatory Responses in A Mouse Model Of Androgenetic Alopecia</i>	Tikus C57BL/6	Fukoidan 2% secara signifikan meringankan gejala AGA, meningkatkan pertumbuhan rambut, dan meningkatkan kepadatan rambut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Alopecia Androgenetik (AGA)

2.1.1. Definisi Alopecia androgenetik (AGA)

Alopecia androgenetik (AGA) adalah kerontokan rambut tanpa jaringan parut yang ditandai dengan penurunan folikel rambut secara progresif, atau folikel rambut yang tidak berfungsi atau mati di kulit kepala dengan pola yang jelas. Ini adalah kerontokan rambut yang paling umum, lebih umum terjadi pada pria tetapi juga dapat muncul pada usia yang lebih muda sebagai AGA prematur. Hormon, genetika, defisiensi mikronutrien, mikroinflamasi, dan stres telah dikaitkan, sementara tekanan psikososial dan korelasi kutan dengan penyakit kardiovaskular telah menjadi sumber penelitian yang tiada henti.³⁴

2.1.2. Epidemiologi Alopecia androgenetik (AGA)

AGA merupakan penyebab paling umum kerontokan rambut progresif kronis pada pria muda dan setengah baya dan memiliki tingkat kejadian di seluruh dunia sekitar 20%.^{12,13} Prevalensi AGA diperkirakan mencapai 50% pada pria dan wanita berusia di atas 50 tahun.¹⁴ Prevalensi berbeda berdasarkan jenis kelamin dan ras, dengan >50% pria lanjut usia dan 15% wanita pascamenopause yang terkena dampak. Namun, penipisan rambut dapat dimulai sejak masa pubertas.^{15,16}

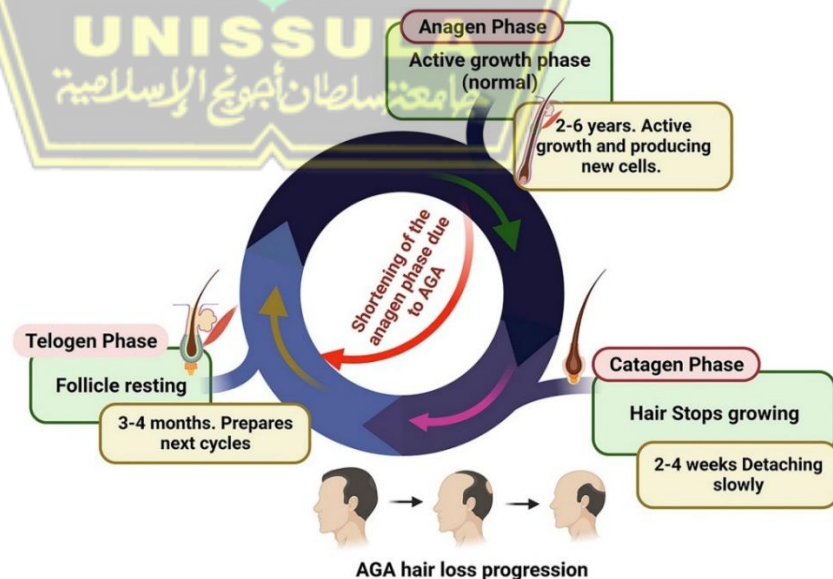
Kondisi AGA ditandai dengan miniaturisasi progresif folikel rambut di daerah androgen-sensitif, terutama regio frontal dan vertex, sehingga menimbulkan pola khas kebotakan. Dampak AGA tidak hanya bersifat kosmetik, tetapi juga berhubungan erat dengan aspek psikososial seperti menurunnya kepercayaan diri, kecemasan, bahkan depresi.³⁵

2.1.3. Patofisiologi Alopecia androgenetik (AGA)

Secara patofisiologi, AGA dipicu oleh interaksi kompleks antara faktor genetik, hormonal, dan lingkungan. Peran androgen, khususnya dihidrotestosteron (DHT), menjadi kunci dalam proses miniaturisasi folikel rambut. DHT terbentuk dari konversi testosteron melalui enzim 5α -reduktase tipe II, yang berikatan dengan reseptor androgen di dermal papilla, memicu perubahan transkripsi gen yang akhirnya memperpendek fase anagen (fase pertumbuhan rambut) dan memperpanjang fase telogen (fase istirahat).³⁶ Siklus pertumbuhan rambut yang menyebabkan AGA ditampilkan pada gambar 2.1.

Androgen adalah hormon steroid endogen. Androgen mengandung dehidroepiandrosteron (DHEA), androstenedion, testosteron, dan DHT. DHT adalah hormon androgen yang paling poten dan dianggap sebagai androgen murni karena tidak dapat diubah menjadi estrogen. DHT terutama terbentuk di jaringan perifer tubuh, tempat ia memberikan efeknya.³⁷

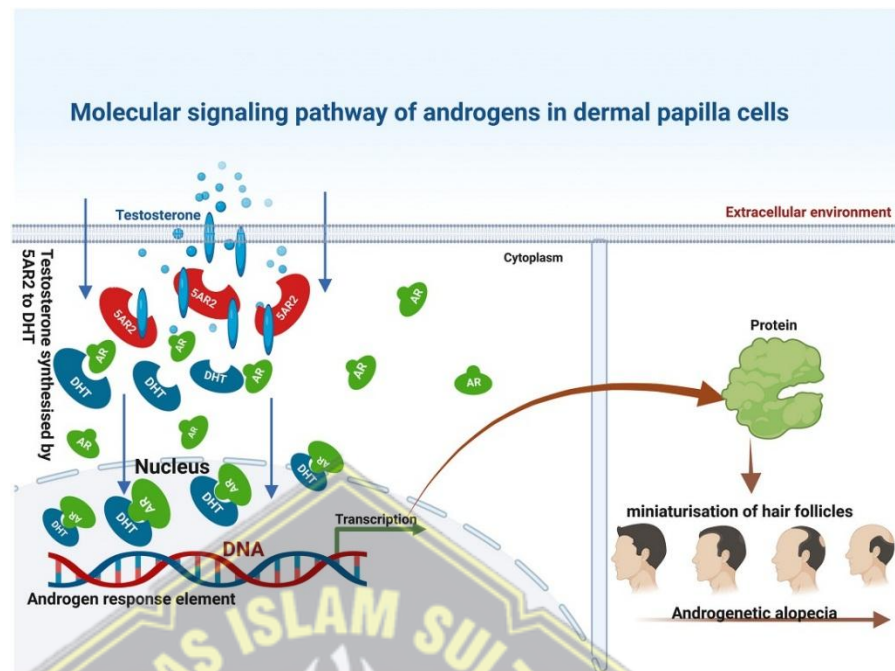
Gambar 2.1 menunjukkan siklus pertumbuhan rambut yang menyebabkan AGA. Androgen merupakan hormon penting bagi pertumbuhan dan perkembangan tubuh manusia. Androgen berfungsi melalui jalur pensinyalan intraseluler, dengan testosteron sebagai androgen utama dan paling aktif pada pria. Testosteron diubah oleh enzim tipe 2, *5-alfa reduktase* (SRD5A2) menjadi dihidrotestosteron yang menyebabkan AGA. DHT yang berlebihan menyusutkan folikel rambut, menggantikan rambut terminal dengan rambut vellus.³⁶ Gambar 2.1 menjelaskan bahwa efek yang dimediasi androgen pada siklus pertumbuhan rambut yang menyebabkan AGA. Aktivasi Reseptor Androgen (AR) yang berlebihan mengakibatkan miniaturisasi folikel, memperpendek fase anagen dalam siklus rambut. Batang rambut menjadi lebih tipis dan pendek, serta mungkin tidak menembus epidermis.³⁶



Gambar 2.1. Siklus Pertumbuhan Rambut yang Menyebabkan AGA³⁶

AGA pria merupakan bentuk kerontokan rambut yang umumnya terjadi di bagian atas dan depan kulit kepala yang berangsur-angsur surut. Peningkatan aktivitas DHT bertanggung jawab, di antara faktor-faktor lainnya, atas patofisiologi alopecia androgenetik. Pria dengan alopecia androgenetik secara genetik memiliki predisposisi terhadap kadar enzim 5-alfa-reduktase dan aktivitas reseptor androgen yang lebih tinggi di folikel rambut. Demikian pula, pasien dengan defisiensi enzim cenderung lebih kecil kemungkinannya mengalami alopecia androgenetik pria.³⁷

Ilustrasi skematis mekanisme seluler aksi androgen, DHT, dan AR dalam memediasi AGA ditampilkan pada gambar 2.2. Reseptor androgen di folikel rambut berikatan dengan DHT, mengubah bentuk protein, dan memulai kaskade pensinyalan Rambut oksipital kurang sensitif karena mutulasi AR, sehingga melindunginya dari miniaturisasi dan kerontokan. AR memiliki afinitas yang kuat terhadap DHT dibandingkan dengan testosteron, yang menjelaskan kekuatan ikatannya.³⁶



Gambar 2.2. Ilustrasi skematis mekanisme seluler aksi androgen, DHT, dan AR dalam memediasi AGA.³⁶

2.1.4. Klasifikasi Alopecia androgenetik (AGA)

AGA merupakan bentuk kebotakan progresif akibat pengaruh hormon androgen pada folikel rambut dengan predisposisi genetik. Klasifikasi AGA berbeda antara pria dan wanita.³⁸

1. Pada pria

Menggunakan *Hamilton–Norwood Scale* dengan 7 stadium:

- a. Stadium I–II: resesi ringan di pelipis.
- b. Stadium III–V: penipisan lebih luas di frontal dan vertex.
- c. Stadium VI–VII: kebotakan hampir total, menyisakan rambut di sisi kepala.

Ilustrasi klasifikasi AGA pada pria ditampilkan pada gambar 2.3 dan berikut penjelasan lebih lengkap:³⁹

- a. Tipe I: rambut masih tampak penuh.
- b. Tipe II: pengurangan rambut pada sepanjang garis fronto-temporal berbentuk segitiga dan simetris
- c. Tipe II a: garis batas rambut 2 cm anterior dari garis korona di antara kedua daun telinga.
- d. Tipe III: disebut *barder line* yaitu pengurangan rambut area fronto-temporal pada tipe II yang semakin jelas terlihat, simetris dan dibatasi oleh rambut di area frontal.
- e. Tipe III a: garis batas rambut tepat dipertemuan garis korona dan di antara kedua daun telinga
- f. Tipe III vertex: kebotakan dominan terjadi pada area vertex dengan pengurangan rambut yang minimal pada daerah fronto-temporal.
- g. Tipe IV: pengurangan rambut daerah frono-temporal lebih berat dibandingkan tipe III dan sangat sedikit rambut atau bahkan tidak ada lagi rambut di area vertex. Kedua area ini dipisahkan oleh jembatan rambut yang telah menipis dan kedua ujungnya menyatu dengan rambut dibagian temporal.
- h. Tipe IV a: garis batas rambut melewati garis korona di antara kedua daun telinga tetapi belum mencapai vertex.
- i. Tipe V: kebotakan pada area vertex masih terpisah dengan area fronto-temporal, namun jaraknya semakin sempit dikarenakan area kebotakan yang meluas dan jembatan

rambut di antara keduanya semakin menipis signifikan, rambut terlihat semakin tipis.

- j. Tipe V a: garis batas rambut sudah mencapai vertex.
- k. Tipe VI: kebotakan di area vertex dan frontotemporal telah menjadi satu dan area kebotakan semakin meluas.
- l. Tipe VII: tipe kebotakan paling berat, rambut yang tersisa di tepi sisi kanan dan kiri dan oksipital dengan pola menyerupai tapal kuda. Rambut di area tersebut tampak tipis dan densitasnya menurun.

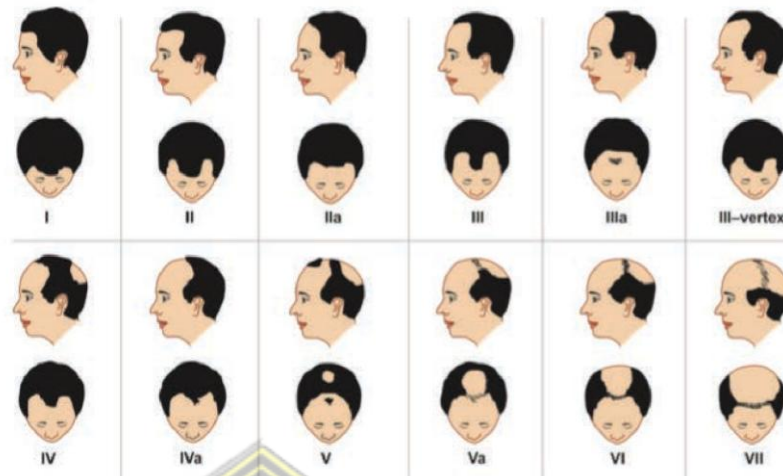
2. Pada wanita

Menggunakan *Ludwig Scale* atau *Savin Scale*:

- a. Tipe I: penipisan ringan di puncak kepala.
- b. Tipe II: penipisan sedang, kulit kepala mulai terlihat.
- c. Tipe III: penipisan berat hampir total di vertex.

3. Klasifikasi tambahan

Sistem lain seperti *Basic And Specific Patterned Classification* (BASP) menilai pola kerontokan berdasarkan bentuk garis rambut (M, C, U, V) dan area yang terkena. Dengan demikian, *Norwood* lebih banyak digunakan pada pria, sedangkan *Ludwig* dan *Savin* digunakan pada wanita, sementara BASP menawarkan klasifikasi yang lebih modern dan universal.



Gambar 2.3. Klasifikasi Norwood-Hamilton Untuk Alopecia Androgenetik Pada Pria³⁹

2.1.5. Pengobatan Alopecia Androgenetik (AGA)

Meskipun AGA tersebar luas, penanganan dan pengobatannya secara efektif masih menjadi tantangan, sehingga banyak orang mencari pertolongan medis. Berbagai pilihan, termasuk penyesuaian gaya hidup, praktik perawatan rambut, dan pengobatan tersedia, tetapi hanya 2 obat, finasterida oral (untuk pria) dan minoksidil topikal (untuk pria dan wanita), yang disetujui *Food and Drug Administration* (FDA) untuk pengobatan AGA. Penggunaan minoksidil topikal untuk AGA di luar label memang ada, tetapi efektivitas dan keamanannya memerlukan investigasi lebih lanjut untuk menilai potensi manfaat dan risikonya.⁸

2.2. Nuclear Factor-Kappa B (NF-κB)

2.2.1. Peran NF-κB Pada Alopecia

Nuclear Factor-Kappa B (NF-κB) berperan penting dalam respons seluler terhadap stimulus eksternal seperti sitokin, stres, sinar

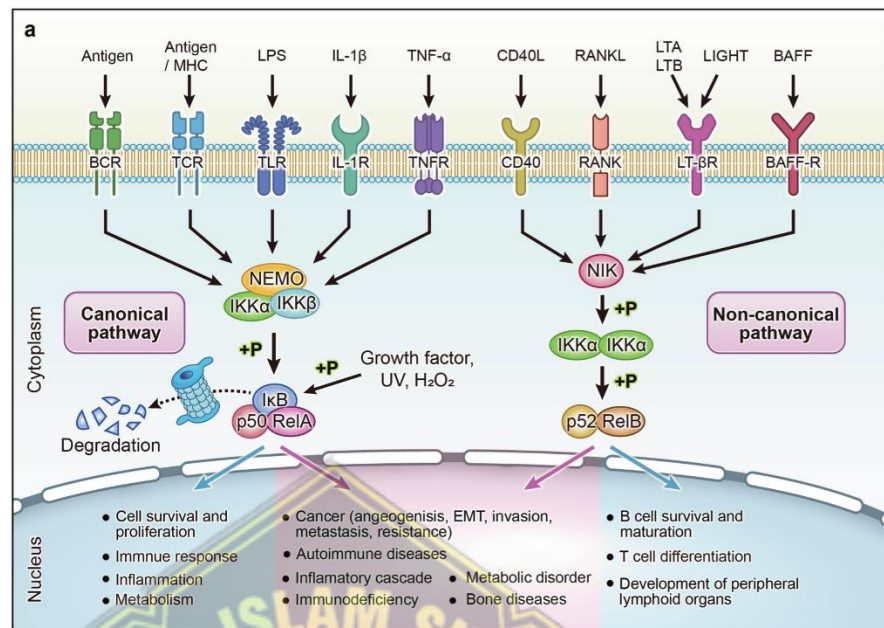
UV, antigen, dan logam berat. Studi yang ada telah menunjukkan bahwa pensinyalan NF- κ B terlibat dalam beragam proses fisiologis dan patologis, termasuk respons imun dan inflamasi, kelangsungan hidup dan proliferasi sel, metabolisme, serta plastisitas sinaptik dan aktivitas terkait memori.⁴⁰

NF- κ B adalah faktor transkripsi yang berperan penting dalam regulasi respons imun, inflamasi, dan kelangsungan hidup sel. NF- κ B merupakan faktor transkripsi krusial yang mengatur ekspresi gen proinflamasi, yang berkontribusi pada patogenesis AGA. *Sirtuin 1* (SIRT1), target *microRNA* nomor 485 (miR-485-3p), diketahui menghambat pensinyalan NF- κ B, menunjukkan bahwa miR-485-3p dapat memodulasi jalur ini untuk mengurangi inflamasi pada model AGA.⁴¹ Pada kondisi normal diketahui bahwa NF- κ B berperan menjaga homeostasis jaringan, termasuk folikel rambut. Namun, aktivasi NF- κ B yang berlebihan memicu ekspresi sitokin proinflamasi seperti *Tumor Necrosis Factor-alpha* (TNF- α), *Interleukin-1 Beta* (IL-1 β) dan *Interleukin-6* (IL-6) yang dapat mempercepat kerusakan folikel rambut.⁴²

2.2.2. Mekanisme kerja NF- κ B

Pensinyalan NF- κ B mendukung kelangsungan hidup sel dalam kondisi fisiologis, memodulasi peradangan dan respons imunologis terhadap rangsangan eksternal, serta membantu mengatur metabolisme dan homeostasis. Aktivasi berlebihan pensinyalan NF-

κ B meningkatkan keganasan tumor dalam kondisi patologis, termasuk angiogenesis, *Epithelial-Mesenchymal* (EMT), invasi, metastasis, dan resistensi pengobatan. Lebih lanjut, diregulasi pensinyalan NF- κ B dapat mengakibatkan badai inflamasi dan masalah metabolik. Anggota superfamily *B-cell Activating Factor* (BAFF) *Tumor Necrosis Factor* (TNF) 13b, anggota superfamili *Receptor B-cell Activating Factor* (BAFF-R) TNF 13C, *B-cell Reseptor* (BCR), *I-kappaB Kinase* (IKK), protein *Ikappa-B* (I κ B), anggota superfamili *Ligan Factor Necrosis Tumor* (LIGHT) 14, *lipopolysaccharide* (LPS), *Lymphotoxin-alpha* (LTA), *Lymphotoxin-beta* (LTB), *Receptor Lymphotoxin-beta* (LT- β R), *Major Histocompatibility* (MHC), penghambat NF- κ B *Essential Modulator* (NEMO) subunit gamma kinase faktor nuklir kappa-B, *Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase Kinase 14* nama lain dari mitogen NF- κ B *Inducing Kinase* (NIK), anggota superfamili reseptor TNF *Receptor Activator of Nuclear Factor-Kb* (RANK) 11a, anggota superfamili TNF RANKL 11, *Reseptor Sel-T* (TCR), *Reseptor Tol-Like* (TLR), TNF, *reseptor TNF* (TNFR).⁴⁰ Fungsi biologis sinyal NF- κ B dijelaskan dalam gambar 2.3.



Gambar 2.4. Fungsi biologis sinyal NF- κ B.⁴⁰

Berdasarkan konteks AGA, penelitian menunjukkan bahwa jalur NF- κ B mengalami aktivasi kronis pada folikel rambut yang rentan terhadap androgen.⁴³ Aktivasi ini menginduksi apoptosis keratinosit serta menghambat diferensiasi sel progenitor rambut. Selain itu, NF- κ B berkontribusi pada remodeling matriks ekstraseluler yang memperburuk miniaturisasi folikel. Temuan ini menjadikan NF- κ B sebagai target potensial dalam terapi alopecia berbasis antiinflamasi.

2.2.3. Faktor yang mempengaruhi kadar ekspresi NF- κ B

Ekspresi dan aktivitas NF- κ B dipengaruhi oleh sejumlah faktor molekuler dan lingkungan seluler yang kompleks. Pada tingkat sinyal awal, stimulasi oleh sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β , serta ligan reseptor seperti LPS (lipopolisakarida) atau aktivasi

reseptor toll-like, mampu menginisiasi fosforilasi dan degradasi inhibitor I κ B oleh kompleks IKK (I κ B kinase), sehingga NF- κ B dilepaskan dan berpindah ke nukleus untuk mengatur transkripsi gen target.⁴⁴ Selanjutnya, jalur non-kanonik NF- κ B yang dipicu oleh reseptor anggota keluarga TNF (misalnya CD40, BAFF-R) melalui stabilisasi *NF- κ B-inducing kinase* (NIK) dan aktivasi IKK α juga berperan dalam regulasi ekspresi NF- κ B subunit RelB/p52.⁴⁵

Faktor lain yaitu aktivasi jalur PI3K/Akt, Ras/MAPK, atau peningkatan aktivitas kinase-tyrosin seperti EGFR dan IGFR dapat memicu aktivasi NF- κ B, yang menunjukkan bahwa ekspresi dan aktivitas NF- κ B tidak hanya dipicu oleh sinyal inflamasi murni melainkan juga oleh sinyal proliferasi dan pertumbuhan sel. Selain faktor sinyal eksternal, mekanisme epigenetik dan regulasi pascatranslasi juga memengaruhi tingkat ekspresi NF- κ B. Sebagai contoh, asetilasi histon dan remodelling kromatin meningkatkan aksesibilitas DNA bagi kompleks NF- κ B-DNA, sehingga memperkuat ekspresi gen targetnya. Pengaturan oleh non-coding RNA (miRNA, lncRNA, circRNA) juga telah terbukti, baik menghambat maupun meningkatkan ekspresi komponen jalur NF- κ B sehingga berkontribusi pada tingkat basal atau terinduksi dari ekspresi NF- κ B.⁴⁶

Lingkungan seluler, seperti stres oksidatif, kerusakan DNA, dan micro-environment tumor, turut memengaruhi ekspresi NF- κ B.

Dalam konteks tumor, misalnya, kondisi inflamasi kronis dan mikro-lingkungan yang kaya sitokin pro-inflamasi mendorong ekspresi dan aktivitas NF- κ B, yang pada gilirannya meningkatkan proliferasi, migrasi, angiogenesis, dan resistensi terhadap kemoterapi. Terakhir, faktor negatif pengaturan ataupun inhibitor juga penting dalam mengendalikan ekspresi NF- κ B. Misalnya, ekspresi I κ B α sendiri dapat meningkat sebagai bentuk umpan balik untuk menekan aktivitas NF- κ B, atau degradasi I κ B yang terganggu dapat menyebabkan akumulasi NF- κ B dalam sitoplasma dan menurunkan transkripsi gen-target.⁴⁶ Dengan demikian, jumlah dan aktivitas NF- κ B pada sel tidak hanya dipengaruhi oleh sinyal aktivasi tetapi juga oleh mekanisme penghambatan, epigenetik, micro-environment, dan status seluler (misalnya stres, kerusakan DNA, proliferasi sel) yang semuanya saling berinteraksi.

2.3. *Insulin-Like Growth Factor-1* (IGF-1)

2.3.1. Definisi IGF-1

Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) adalah peptida rantai tunggal dengan 70 asam amino dan berat molekul 7,6 kDa. IGF-1 mengandung tiga jembatan disulfida, antara asam amino 6 dan 48, 18 dan 61, serta 47 dan 52, yang membentuk struktur tersier penting untuk pengikatan optimal dengan *Insulin-Like Growth Factor-1* Receptor (IGF-1R). Sesuai namanya, IGF-1 secara struktural mirip dengan insulin dan mampu mengikat *Reseptor Insulin* (I-R),

meskipun dengan afinitas yang lebih rendah dibandingkan dengan IGF-1R. IGF-1 adalah mediator utama *Growth Hormone* (GH), memainkan peran penting dalam mendorong pertumbuhan dan diferensiasi sel pada masa kanak-kanak dan terus memiliki efek anabolik pada orang dewasa. Ketika GH diproduksi oleh kelenjar pituitari anterior, pelepasannya ke dalam aliran darah merangsang produksi dan pelepasan IGF-1, yang kemudian mengikat IGF-1R yang terdapat pada permukaan hampir setiap sel dalam tubuh.

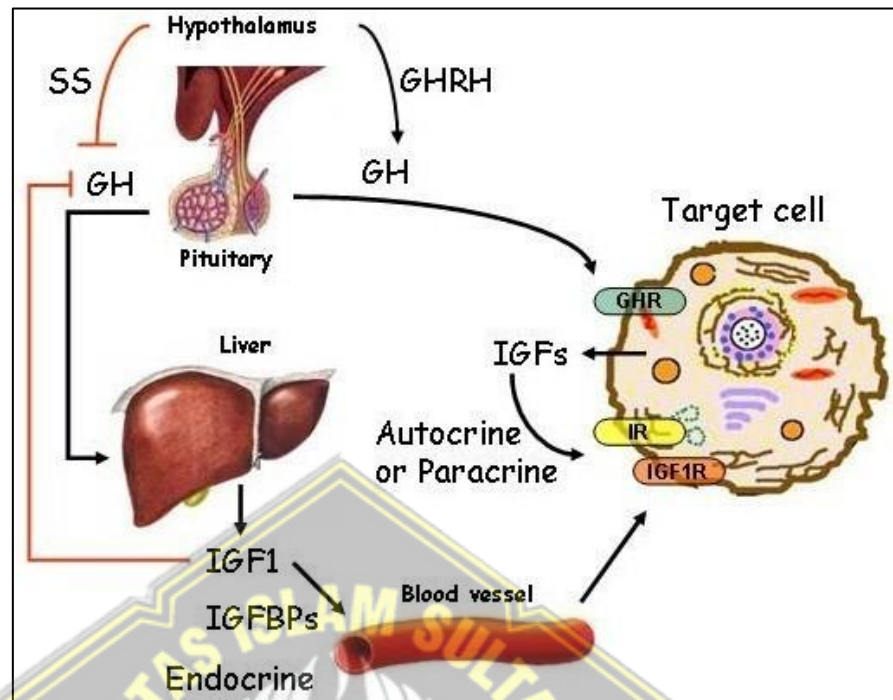
IGF-1R terdiri dari dua subunit alfa dan dua subunit beta yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Subunit beta transmembran masing-masing memiliki domain tirosin kinase intraseluler yang diaktifkan setelah IGF-1 berikatan dengan subunit alfa ekstraseluler. Aktivasi domain kinase ini menghasilkan aktivasi beberapa jalur pensinyalan, termasuk jalur *Phosphoinositide 3-Kinase* (PI3K) / *Akt* / *transforming* (Akt) dan kaskade *Rapidly Accelerated Fibrosarcoma* (Raf) / *Mitogen Activated Protein Kinase* (MEK) / *Extracellular signal-Regulated Kinase* (ERK), yang pada akhirnya mencegah apoptosis dan mendorong pertumbuhan serta kelangsungan hidup sel.^{47,48}

2.3.2. Struktur IGF-1

IGF-1 merupakan sebuah polipeptida rantai tunggal yang terdiri dari 70 asam amino, memiliki berat molekul 7,6 kDa, dan menunjukkan struktur yang memiliki kesamaan dengan molekul

insulin. Hati merupakan sumber utama IGF-1 sirkulasi dan GH yang menstimulasi sintesis IGF-1 pada berbagai jaringan. Konsentrasi serum IGF-1 merupakan indikator status GH. Insulin dan status nutrisi merupakan regulator penting pada sintesis IGF-1. Sebelumnya diyakini bahwa GH memberikan efeknya pada jaringan secara tidak langsung dengan menstimulasi produksi IGF-1. Saat ini diketahui bahwa sirkulasi IGF-1, pada kenyataannya, merupakan penanda aksi GH pada hati dan bahwa aksi anabolik dari GH digabungkan dengan aksi IGF-1 melalui mekanisme endokrin, parakrin dan autokrin.⁴⁹

Garis besar sistem GH – IGF - *Somatostatin* (SST) endokrin, autokrin dan parakrin pada kehidupan manusia dewasa ditampilkan struktur IGF-1 ditampilkan pada gambar 2.5. Pada level organisme, IGF-1 yang beredar dalam sirkulasi terutama dihasilkan oleh hati, dan produksinya dipengaruhi oleh GH. Selanjutnya, sekresi GH sendiri dikendalikan oleh SST dan *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH). IGF1 biasanya dikirim melalui sirkulasi tetapi juga dapat diproduksi secara autokrin atau parakrin.⁵⁰



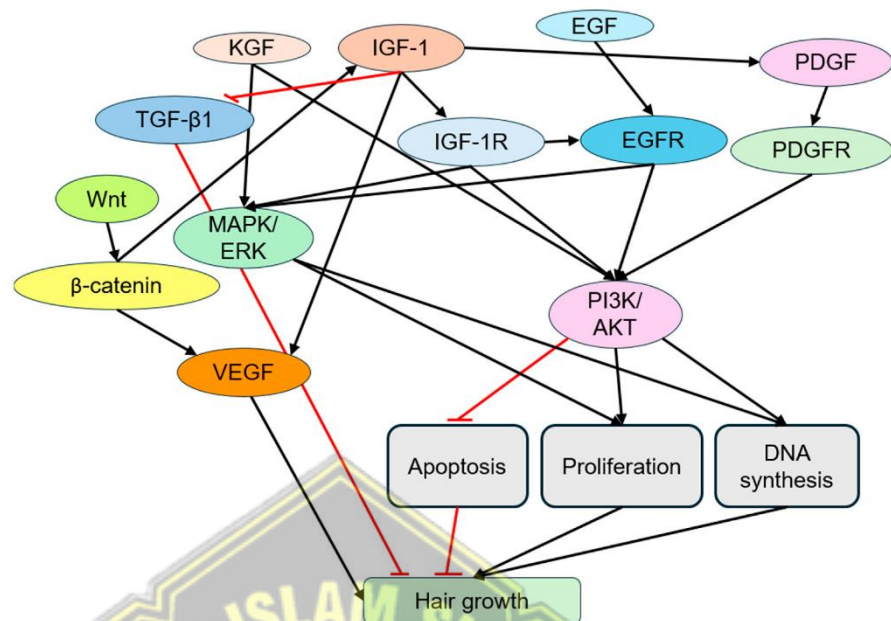
Gambar 2.5. Sistem GH-IGF-SST.⁵⁰

2.3.3. Peranan IGF-1 pada alopecia

IGF-1 memainkan peran penting dalam mengatur siklus rambut, termasuk mengendalikan diferensiasi batang rambut dan remodeling jaringan, dan berfungsi sebagai pengatur utama proses mitogenik dan morfogenetik selama perkembangan folikel rambut. Dengan demikian, IGF-1 telah muncul sebagai target terapi yang menjanjikan untuk kondisi kerontokan rambut, termasuk AGA dan Alopecia Areata. Jalur hilir IGF-1 telah dipelajari secara ekstensif dalam berbagai jenis sel, termasuk karsinoma paru-paru, otot rangka, dan sel mioblas. Secara khusus, jalur PI3K/AKT telah diidentifikasi sebagai sumbu pensinyalan penting yang bertanggung jawab untuk memediasi efek IGF-1 dalam konteks ini. Demikian pula, jalur *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) diatur hulu oleh IGF-1 dalam

berbagai jenis sel, termasuk sel mioblas, hepatosit, dan sel punca pulpa gigi.⁵¹

IGF-1 berinteraksi dengan sejumlah faktor pertumbuhan lainnya, seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.6. IGF-1 berikatan dengan reseptornya (IGF-1R), berintegrasi dengan pensinyalan dari faktor pertumbuhan epidermal (EGF) melalui reseptor EGF (EGFR), PDGF melalui reseptor PDGF (PDGFR), faktor pertumbuhan keratinosit (KGF), faktor pertumbuhan transformasi- β 1 (TGF- β 1), jalur Wnt (melalui β -catenin), dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF). Interaksi ini mengaktifkan jalur-jalur utama, termasuk PI3K/AKT dan MAPK/ERK, yang secara kolektif menghambat apoptosis, mendorong proliferasi sel, dan meningkatkan sintesis DNA, yang mendorong pertumbuhan rambut. Panah menunjukkan aliran pensinyalan, dengan kepala panah menunjukkan stimulasi dan kepala datar menunjukkan inhibisi. Panah merah menunjukkan jalur-jalur utama dalam pertumbuhan rambut. IGF-1 juga meningkatkan ekspresi VEGF dengan mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan, seperti PI3K/Akt dan MAPK/ERK, sehingga merangsang angiogenesis yang penting untuk pertumbuhan folikel.⁵²



Gambar 2.6. Interaksi IGF-1 dan faktor pertumbuhan lainnya dalam regulasi pertumbuhan rambut.⁵²

IGF-1 merupakan faktor pertumbuhan yang berperan penting dalam mempertahankan fase anagen. IGF-1 disekresikan oleh sel dermal papilla dan bekerja dengan cara menstimulasi proliferasi keratinosit folikel rambut serta menghambat apoptosis.⁵³ Penurunan ekspresi IGF-1 terbukti memperpendek durasi fase anagen dan mempercepat masuknya folikel ke fase katagen, sehingga memicu kerontokan rambut.

Beberapa penelitian eksperimental menunjukkan bahwa peningkatan ekspresi IGF-1 dapat memperbaiki siklus pertumbuhan rambut. Misalnya, terapi berbasis *Platelet-Rich Plasma* (PRP) dilaporkan mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 pada kulit kepala pasien AGA, yang berkorelasi dengan peningkatan densitas rambut.⁵⁴

Oleh karena itu, modulasi IGF-1 menjadi salah satu strategi penting dalam terapi regeneratif rambut.

2.3.4. Faktor yang mempengaruhi kadar ekspresi IGF-1

Kadar ekspresi IGF-1 dipengaruhi oleh sejumlah mekanisme multi-level, mulai dari regulasi hormonal, nutrisi, aktivitas fisik, hingga faktor genetik/epigenetik. Secara utama, sumbu hormon *Growth Hormone* (GH) terhadap IGF-1 di hati memainkan peran kunci, dimana GH mengikat reseptor GH di hepatosit kemudian mengaktifkan transkripsi IGF-1 (melalui STAT5b) dan produksi IGF-1 sistemik.⁵⁵ Disamping itu, status nutrisi sangat menentukan: malnutrisi atau pembatasan kalori menyebabkan penurunan produksi IGF-1, sedangkan diet dengan protein tinggi atau keadaan hiperinsulinemia dapat menaikkan IGF-1.⁵⁶

Aktivitas fisik juga terbukti memengaruhi kadar IGF-1, misalnya meta-analisis menunjukkan bahwa latihan aerobik atau resistensi pada wanita pasca menopause secara signifikan meningkatkan kadar IGF-1.⁵⁷ Lebih jauh lagi, faktor-genetik dan epigenetik turut mempengaruhi ekspresi IGF-1 maupun isoformnya; misalnya splicing alternatif pada gen IGF-1 yang menghasilkan isoform berbeda (Ea, Eb, Ec) menunjukkan bahwa usia dan kerusakan jaringan turut mengubah pola ekspresi IGF-1.⁵⁸

Faktor lain seperti obesitas, resistensi insulin, dan mikro-lingkungan seluler (misalnya stres oksidatif atau cedera jaringan)

turut memodulasi ekspresi IGF-1: salah satu studi sistematis terbaru menemukan bahwa IGF-1 merupakan molekul penghubung antara obesitas dari masa janin hingga dewasa, menunjukkan interaksi antara status metabolik dan regulasi IGF-1.⁵⁹ Dengan demikian, kadar IGF-1 bukan hanya hasil produksi hormon saja, tetapi integrasi dari hormesis, status nutrisi, aktivitas fisik, genetik/isoform, dan kondisi metabolik seluler. Faktor-internal seperti GH, gen/isoform IGF-1, splicing alternatif dan faktor aktivitas seluler, serta faktor-eksternal seperti nutrisi (protein, kalori), aktivitas fisik, dan kondisi metabolik (obesitas, resistensi insulin) semuanya bekerja bersama dalam mengatur ekspresi IGF-1.

2.4. Tanaman Daun Mangkogan (*Nothopanax scutellarium*)

2.4.1. Karakteristik Daun Mangkogan

Daun mangkogan merupakan tanaman obat tradisional Indonesia yang telah lama digunakan sebagai penyubur rambut. Secara botani, tanaman ini termasuk dalam famili *Araliaceae*, dengan morfologi daun berbentuk bundar menyerupai mangkok.

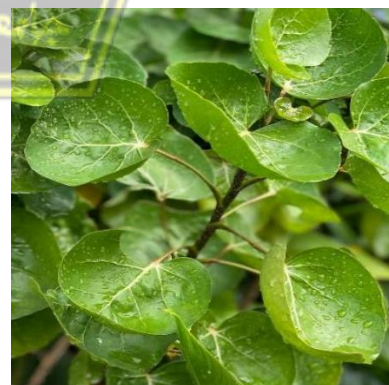
Daun mangkogan berasal dari daerah Kepulauan Pasifik Barat Daya dan tersebar pada daerah tropis. Tanaman ini memiliki nama lokal yaitu Mamanukan (Sunda), Lanido, Ndalido, Ndari (Roti), Daun Papeda (Ambon), Daun Mangkok (Sumatera), Sawoko (Halmahera), Rau Paroro (Ternate). Tanaman mangkogan berasal dari famili *Araliaceae*, genus *Nothopanax*, spesies: *Nothopanax scutellarium*.

Nama sinonim *N. cochleatum* (Lam.), *Polyscias scutellaria*, *Panax cochleatum*.

Tumbuhan ini sering ditanam sebagai tanaman pagar. Mangkokan menyukai tempat terbuka yang terkena sinar matahari dan dapat tumbuh pada ketinggian 1–200 mdpl. Tanaman ini berkhasiat sebagai tanaman obat. Akar dan daun dapat digunakan sebagai peluruh kencing (diuretik), anti-radang (anti-inflamasi), radang payudara, pembengkakan dan melancarkan pengeluaran ASI, selain itu dapat menanggulangi masalah rambut rontok, bau badan, dan luka.⁶⁰ Berbagai bagian tanaman, terutama daunnya, telah lama digunakan masyarakat untuk perawatan rambut, penyembuhan luka, serta sebagai obat tradisional dengan khasiat antiinflamasi dan imunomodulator. Untuk memberikan gambaran yang lebih jelas mengenai morfologi, berikut ditampilkan ilustrasi pohon dan daun mangkokan (Gambar 2.7).



Gambar 2.7a Pohon



Gambar 2.7b Daun

Gambar 2.7. Pohon dan Daun Mangkokan.⁶⁰

2.4.2. Klasifikasi Tanaman Mangkokan

Tanaman mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr.) merupakan salah satu anggota famili *Araliaceae* yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias sekaligus tanaman obat tradisional. Untuk memberikan gambaran yang lebih sistematis mengenai kedudukannya dalam hierarki tumbuhan, berikut disajikan klasifikasi taksonomi tanaman mangkokan berdasarkan tingkatan taksonomi mulai dari kingdom hingga spesies.⁶¹

Tabel 2.1. Klasifikasi Taksonomi Tanaman Mangkokan

No.	Tingkat Taksonomi	Klasifikasi
1.	Kingdom	Plantae
2.	Subkingdom	Tracheobionta
3.	Super Divisi	Spermatophyta
4.	Divisi	Magnoliophyta
5.	Kelas	Magnoliopsida
6.	Subkelas	Rosidae
7.	Ordo	Apiales
8.	Famili	Araliaceae
9.	Genus	Nothopanax
10.	Spesies	Nothopanax scutellarium Merr

2.4.3. Morfologi Tanaman Mangkokan

Tanaman mangkokan merupakan perdu tahunan, tumbuh tegak, tinggi 1-3 m. Batang berkayu (*ligneous*), bercabang, bentuknya bulat/silindris (*teres*), arah tumbuh tegak ke atas, memiliki percabangan monopodial, panjang dan lurus, permukaannya memiliki bekas-bekas daun, berwarna ungu jika masih muda dan berwarna coklat keputihan jika sudah tua, kulit batang tipis dan lunak. Daun tunggal, bertangkai, agak tebal, bentuknya bulat berlekuk seperti mangkok, pangkal berbentuk jantung (*emarginatus*), tepi bergerigi

(*servatis*), diameter 6-12 cm, pertulangan menyirip dengan ibu tulang daun menonjol jelas pada bagian bawah, warnanya hijau tua mengkilat. Tangkai daun panjang sekitar 2-8 cm, terdapat buku (nodus), bagian atas berwarna hijau ada bintik-bintik coklat kemerahan, bawah coklat kehitaman (Gambar 2.7).^{61,62}

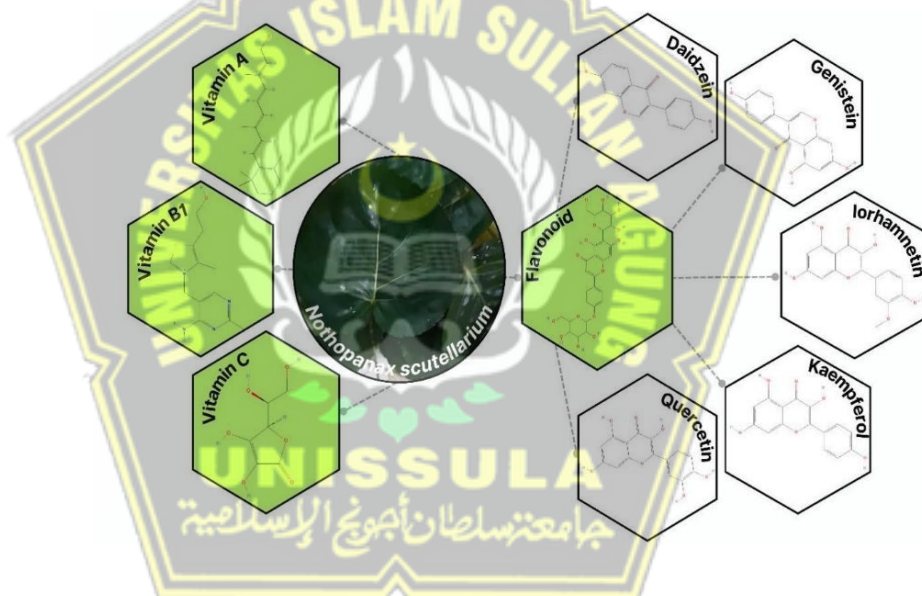
Bunga mangkoka merupakan bunga majemuk, bentuk payung, warnanya hijau, kelopak bergigi pendek (romping), lima daun mahkota, lima benang sari duduk berseling dengan mahkota, tingginya sekitar 1,5 mm. Buahnya buah buni, pipih dan berwarna hijau. Bijinya berukuran kecil, tekstur keras dan berwarna coklat. Akar Tanaman Mangkoka termasuk akar tunggang, memiliki rambut akar dengan jumlah yang banyak berukuran kecil dan berwarna putih coklat.^{61,62}

2.4.4. Ekstrak Daun Mangkoka

Pembuatan ekstrak daun mangkoka menggunakan daun mangkoka yang diperoleh di sekitar lingkungan. Sampel daun mangkok yang masih segar dikumpulkan dan dicuci bersih dibawah air mengalir dari debu dan kotoran. Kemudian daun mangkoka ditiriskan dan dikeringkan di lemari pengering dengan suhu 40-50°C hingga kering. Selanjutnya, diserbuk menggunakan blender. Serbuk daun mangkoka yang diperoleh kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah dan ditambahkan etanol 96%. Kemudian diaduk untuk mencapai kondisi homogen dalam *shaker waterbath*.

Selanjutnya larutan tersebut dimaserasi pada suhu kamar, kemudian larutan difiltrasi dengan penyaring. Kemudian residu penyaringan dilakukan maserasi ulang sebanyak 3 kali. Hasil penyaringan dicampur dan dipekatkan dalam *rotary vacuum evaporator* sampai didapati ekstrak kental dengan konsentrasi 100%.⁶³

Beberapa penelitian fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun mangkoka mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, dan steroid.⁶⁴



Gambar 2.8. Senyawa aktif dalam *Nothopanax scutellarium*.⁶⁵

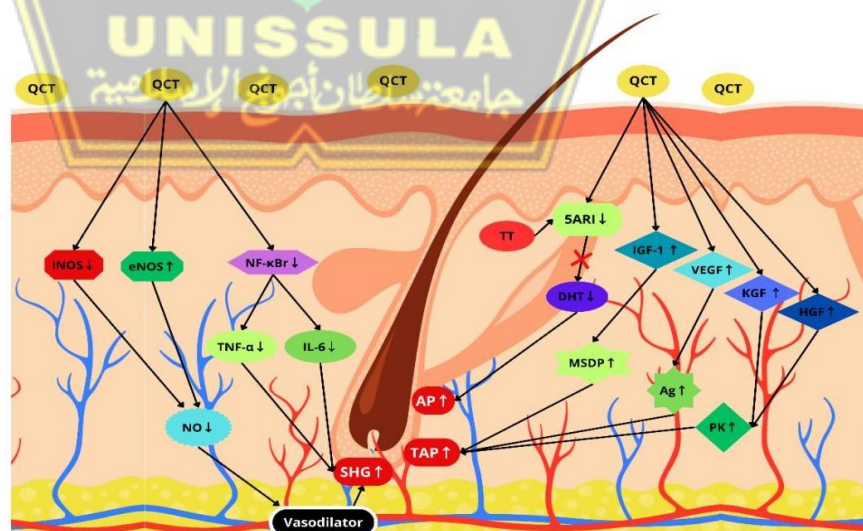
Senyawa flavonoid (*quercetin*) dalam daun mangkoka diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Mekanisme antioksidan ini penting karena stres oksidatif berperan dalam kerusakan folikel rambut melalui pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menginduksi apoptosis sel folikel.²³ Selain itu, saponin dan tanin memiliki aktivitas antiinflamasi yang dapat

menekan jalur NF- κ B, sehingga berpotensi menghambat proses inflamasi pada AGA.

Pertumbuhan rambut merupakan hasil dari proses biologis yang kompleks, melibatkan interaksi berbagai molekul dan jalur molekuler yang mengatur aktivitas seluler pada folikel rambut.⁶⁶ Salah satu jalur utama adalah aktivasi *Endothelial Nitric Oxide Synthase* (eNOS) yang berperan dalam sintesis *Nitric Oxide* (NO). NO memiliki fungsi penting sebagai vasodilator, yaitu memperlebar pembuluh darah sehingga meningkatkan perfusi ke folikel rambut. Peningkatan aliran darah ini memungkinkan distribusi oksigen dan nutrisi yang lebih optimal, sehingga mendukung aktivitas metabolik sel-sel matriks folikel dan pada akhirnya menstimulasi pertumbuhan rambut.⁶⁷ Sebaliknya, aktivitas berlebihan dari *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dapat meningkatkan produksi NO secara patologis. Kondisi ini sering dikaitkan dengan respons inflamasi dan stres oksidatif yang merugikan lingkungan folikel, sehingga berpotensi menghambat pertumbuhan rambut. Dalam konteks ini, senyawa bioaktif seperti flavonoid, misalnya *quercetin* diketahui mampu menekan ekspresi iNOS. Dengan demikian, flavonoid berperan dalam mengurangi produksi NO berlebih dan menjaga homeostasis molekuler, sehingga keseimbangan ekspresi NO tetap terpelihara: cukup untuk mendukung vasodilatasi dan metabolisme sel folikel melalui eNOS, tetapi tidak berlebihan hingga menimbulkan kerusakan akibat inflamasi.

Keseimbangan inilah yang menjadi kunci lingkungan fisiologis yang kondusif bagi pertumbuhan rambut.

Jalur molekuler secara keseluruhan ini menunjukkan bahwa pertumbuhan rambut melibatkan interaksi kompleks antara molekul sinyal, enzim, faktor pertumbuhan, dan mediator inflamasi. Flavonoid, melalui sifat antiinflamasi, androgenetik, dan modulasi faktor pertumbuhannya, minoksidil, melalui mekanisme vasodilatasi dan stimulasi prostaglandinnya, dapat saling melengkapi dalam mendukung regenerasi dan pertumbuhan rambut. Kombinasi pendekatan molekuler ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk pengembangan terapi berbasis bahan alami yang baru, dalam mendorong pertumbuhan rambut secara efektif.⁶⁵ Mekanisme kerja daun mangkoka dalam pertumbuhan rambut ditampilkan pada gambar 2.9 berikut.



Gambar 2.9. Mekanisme Kerja Daun Mangkoka dalam Pertumbuhan Rambut.⁶⁵

2.4.5. Fraksi Daun Mangkokan

Daun mangkokan mengandung berbagai senyawa bioaktif yang berperan penting dalam aktivitas farmakologisnya. Untuk membedakan dan mengidentifikasi senyawa-senyawa tersebut, biasanya dilakukan proses fraksinasi, yaitu pemisahan ekstrak kasar menjadi beberapa fraksi berdasarkan tingkat polaritas pelarut yang digunakan. Secara umum, fraksinasi bertujuan untuk memperkaya kandungan senyawa tertentu sehingga lebih mudah diteliti aktivitas biologinya.⁶⁸

Fraksi dalam daun mangkokan yang dihasilkan dari proses ekstraksi dengan pelarut etil asetat yang banyak mengandung *quarcetin*.²³ Fraksi ini memiliki profil fitokimia dan aktivitas farmakologis yang berbeda, misalnya sebagai antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, hingga stimulan proliferasi sel.⁶⁰ Dengan demikian, fraksinasi daun mangkokan tidak hanya penting dalam penelitian farmakognosi, tetapi juga membuka peluang untuk mengembangkan kandidat obat berbasis bahan alam yang lebih terstandar dan efektif.

Bukti dari literatur menunjukkan bahwa fraksi etil asetat tanaman menunjukkan aktivitas biologis pada konsentrasi rendah saat diaplikasikan topikal, sehingga penggunaan satu tetes sebagai *starting dose* adalah rasional, asalkan dilakukan kalibrasi dropper dan uji iritasi/keselamatan sebelum perlakuan lengkap.⁶⁹

Uji iritasi kulit dilakukan untuk mengevaluasi tingkat keamanan sediaan terhadap kemungkinan terjadinya reaksi inflamasi lokal. Penilaian difokuskan pada munculnya eritema dan edema pada area aplikasi. Seluruh hewan uji diamati pada jam ke-1, 24, 48, dan 72 setelah pelepasan tempelan, khususnya untuk sediaan yang tidak dikategorikan sebagai korosif. Pada tahap uji pendahuluan yang menggunakan satu hewan coba, pengamatan dilakukan segera setelah tempelan dilepas. Perhitungan indeks iritasi dilakukan berdasarkan metode yang tercantum pada gambar berikut :

$$\text{Indeks iritasi primer} = \frac{A - B}{C}$$

Keterangan : A : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan sampel pada jam ke 24, 48 dan 72 dibagi jumlah pengamatan
 B : Jumlah skor eritema dan edema seluruh titik pengamatan kontrol pada jam ke 24, 48 dan 72 dibagi jumlah pengamatan
 C : Jumlah hewan

Gambar 2.10. Perhitungan indeks iritasi

Klasifikasi iritasi kulit dapat dilihat pada kriteria penggolongan sediaan uji yang bersifat iritan pada gambar dibawah ini

Nilai Rata-rata	Kategori respon
0,0 - 0,4	Sangat ringan (<i>negligible</i>)
0,5 - 1,9	Iritan ringan (<i>slight</i>)
2,0 - 4,9	Iritan sedang (<i>moderate</i>)
5,0 - 8,0	Iritan kuat (<i>severe</i>)

Gambar 2.11. Kriteria penggolongan sediaan uji yang bersifat iritan

Reaksi kulit dinilai berdasarkan gambar dibawah ini dengan nilai maksimum adalah 4.

Pembentukan Eritema	
Tidak ada eritema	Skor 0
Eritema yang sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan).....	1
Eritema terlihat jelas.....	2
Eritema sedang sampai parah.....	3
Eritema parah (merah daging) sampai pembentukan <i>eschar</i> yang menghambat penilaian eritema.....	4
Pembentukan Udema	
Tidak ada udema	0
Udema sangat kecil (hampir tidak dapat dibedakan).....	1
Udema kecil (batas area terlihat jelas).....	2
Udema tingkat menengah (luasnya bertambah sekitar 1 mm)....	3
Udema parah (luas bertambah lebih dari 1 mm dan melebar melebihi area paparan oleh sediaan uji).....	4

Gambar 2.12. Penilaian reaksi iritasi pada kulit

Gambar tersebut menunjukkan kriteria penilaian reaksi iritasi kulit berdasarkan parameter eritema dan udema dengan rentang skor 0–4. Skor 0 menunjukkan tidak adanya reaksi, sedangkan skor 4 menunjukkan reaksi paling berat. Sistem skoring ini digunakan untuk menilai derajat iritasi kulit secara objektif pada setiap kelompok perlakuan.

2.5. Model Tikus Alopecia Terinduksi Testosteron

Model hewan merupakan salah satu metode penting untuk memahami patogenesis AGA serta menguji efektivitas terapi baru. Tikus yang diinduksi testosteron atau DHT secara topikal banyak digunakan karena mampu meniru kondisi AGA pada manusia. Pemberian testosteron propionat terbukti dapat memicu miniaturisasi folikel rambut, penurunan kepadatan rambut, serta peningkatan inflamasi folikel yang sesuai dengan ciri AGA.³³

Selain validitas biologisnya, model tikus memiliki keunggulan berupa siklus rambut yang relatif cepat, sehingga memungkinkan pengamatan efek

intervensi dalam waktu singkat. Studi *in vivo* dengan model ini juga memungkinkan analisis biomarker molekuler seperti NF- κ B dan IGF-1, yang sulit dilakukan pada pasien manusia karena keterbatasan etik dan teknis.³³

Tikus wistar adalah salah satu strain tikus yang paling umum digunakan dalam penelitian biomedis, termasuk untuk studi tentang alopecia dan pengaruh pengobatan terhadap berbagai kondisi. Tikus wistar terkenal karena kestabilan genetik dan respons fisiologis yang dapat diprediksi, sehingga sangat berguna dalam eksperimen yang melibatkan manipulasi genetik atau pengobatan. Sebagai *strain inbred*, wistar memiliki latar belakang genetik yang homogen, sehingga setiap individu dalam koloni menunjukkan fenotipe dan respons biologis yang relatif seragam terhadap perlakuan hormonal, stres oksidatif, maupun perubahan siklus rambut. Homogenitas ini penting untuk menilai secara akurat efek agen alopecia atau terapi regeneratif tanpa bias genetik antarindividu. Selain itu, tikus wistar memiliki profil imunologis dan endokrin yang telah terkarakterisasi dengan baik, termasuk ekspresi reseptor androgen (AR) dan sensitivitas terhadap dihidrotestosteron (DHT), yang menjadikannya model ideal untuk mempelajari mekanisme androgenetik alopecia maupun gangguan pertumbuhan rambut akibat disfungsi imun atau hormonal. Studi menunjukkan bahwa model alopecia pada wistar mampu merepresentasikan pola miniaturisasi folikel rambut dan perubahan morfologi kulit yang menyerupai alopecia manusia, sekaligus memberikan respons konsisten terhadap intervensi farmakologis. Dengan demikian, stabilitas genetik dan konsistensi fisiologis pada strain wistar mendukung

penggunaannya sebagai model standar untuk eksplorasi patogenesis dan terapi alopecia.^{70–72}

Penggunaan model tikus alopecia juga memberikan peluang untuk menguji efektivitas bahan alami seperti fraksi daun mangkogan dalam kondisi patologis yang menyerupai manusia. Dengan demikian, hasil dari penelitian *in vivo* ini dapat menjadi dasar untuk melanjutkan ke uji klinis pada manusia.

2.6. Pengaruh Pemberian Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkogan terhadap Ekspresi NF- κ B dan IGF-1 pada Tikus Alopecia yang Diinduksi Testosteron Propionat

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mangkogan dapat mempercepat pertumbuhan rambut pada model hewan dengan kerontokan akibat kimia maupun hormonal.¹⁹ Namun, sebagian besar penelitian masih terbatas pada aspek pertumbuhan rambut secara makroskopis, belum mengungkap mekanisme molekuler melalui biomarker seperti NF- κ B dan IGF-1. Gap ini menjadi peluang riset lebih lanjut untuk mengonfirmasi manfaat daun mangkogan secara mekanistik.

Sifat antiinflamasi *quercetin*, berperan dalam mengobati gangguan rambut seperti alopecia.⁷³ *Quercetin* dapat meregulasi NF- κ B, yang merupakan mediator utama inflamasi.^{74,75} Penekanan NF- κ B mengurangi ekspresi aktivitas sitokin proinflamasi seperti TNF- γ dan *Interleukin-1* (IL-1), sehingga menciptakan lingkungan yang lebih mendukung untuk merangsang pertumbuhan rambut.^{19,40,76} Topi dapat membantu melindungi folikel rambut dari kerusakan yang disebabkan oleh peradangan kronis atau

stres seluler, yang sering kali menjadi faktor utama dalam gangguan rambut seperti alopecia areata. Studi sebelumnya menunjukkan *The Ethanol Extract of Polyscias Scutellaria* (EEPS) menekan aktivasi NF- κ B dengan mencegah fosforilasi p65 dan *Inhibitor Kappa B-Alpha* (I κ B- α).²⁶ Fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas anti-inflamasi yang signifikan: menekan produksi NO, dan mengurangi ekspresi sitokin inflamasi TNF- α , IL-6, IL-1 β , dan *Interleukin-12* (IL-12) dalam sel RAW 264.7, sambil tetap menjaga viabilitas sel.⁷⁷

Faktor pertumbuhan seperti IGF-1, berperan penting dalam merangsang proliferasi dan diferensiasi sel folikel rambut.^{11,78} IGF-1 meningkatkan aktivitas metabolik pada *Dermal Papilla Cells* (DPC), sementara *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) mendukung *Angiogenesis* (Ag), yaitu pembentukan pembuluh darah baru yang penting untuk suplai darah ke folikel rambut. *Quarcetin* dapat memodulasi jalur ini dengan meningkatkan ekspresi faktor pertumbuhan ini, sehingga folikel rambut dari fase telogen dipercepat ke fase anagen ke fase transisi.⁷⁸ Fraksi daun mangkoka memiliki potensi besar sebagai agen fitofarmaka untuk terapi alopecia. Kombinasi efek antioksidan, antiinflamasi, dan regeneratif dari senyawa bioaktifnya memungkinkan daun mangkoka menjadi alternatif terapi alami yang lebih aman dibandingkan obat sintesis.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

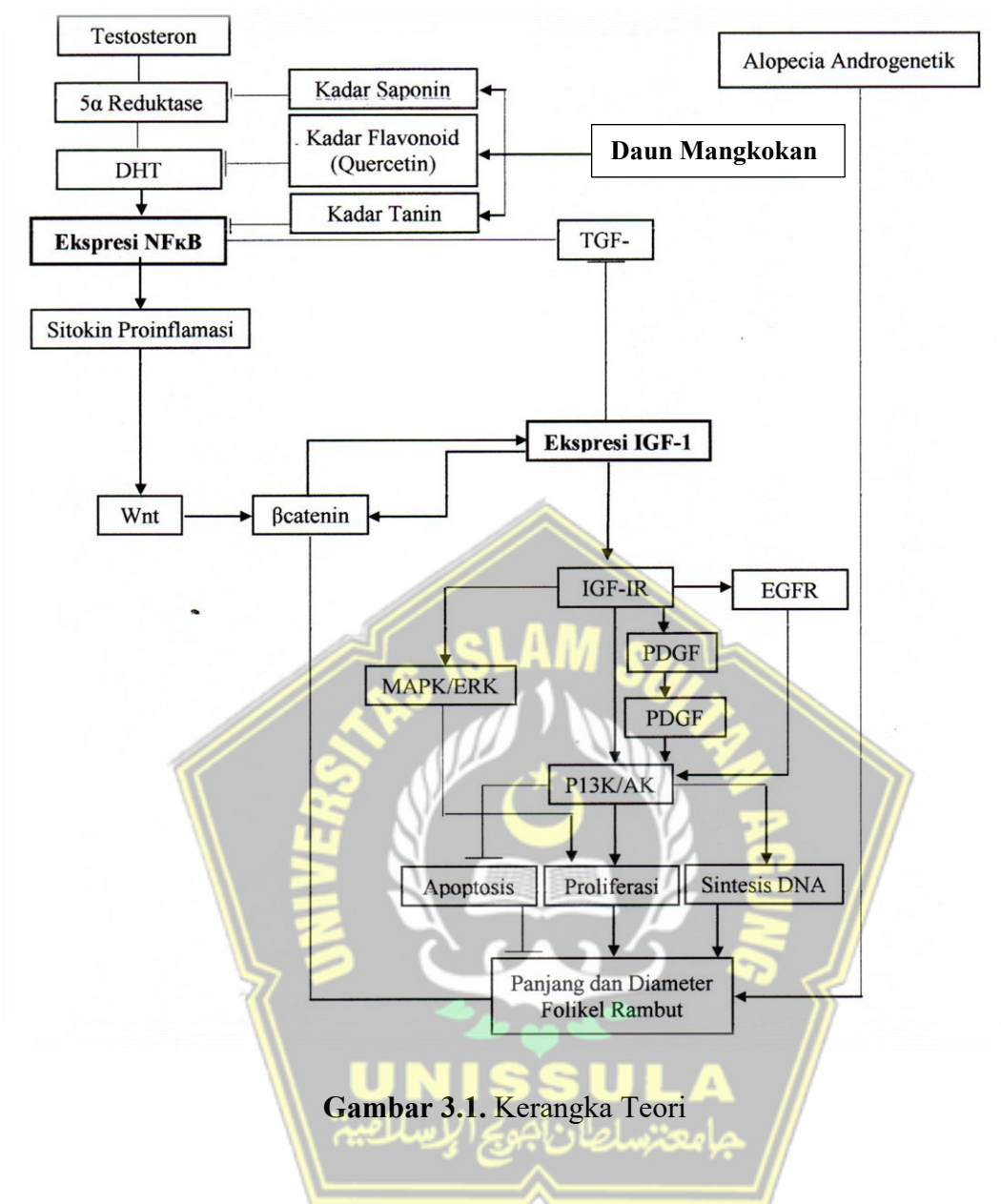
3.1. Kerangka Teori

Secara teoritis, Alopecia Androgenetik (AGA) dipengaruhi oleh interaksi androgen, inflamasi, dan faktor pertumbuhan. Hingga saat ini, terapi utama AGA adalah minoksidil dan finasterid. Minoksidil bekerja sebagai vasodilator, meningkatkan aliran darah ke folikel, dan memperpanjang fase anagen melalui mekanisme peningkatan faktor pertumbuhan lokal. Sedangkan finasterid adalah inhibitor *5 α -reduktase* yang bekerja dengan menurunkan ekspresi *dihydrotestosterone* (DHT), sehingga mencegah miniaturisasi rambut.

Testosteron dan DHT memicu aktivasi reseptor androgen pada sel dermal papilla, yang kemudian menginduksi jalur inflamasi *Nuclear Factor-Kappa B* (NF- κ B). Aktivasi NF- κ B meningkatkan ekspresi sitokin proinflamasi yang merusak mikro lingkungan folikel rambut, mempercepat apoptosis, dan memperburuk miniaturisasi folikel. Di sisi lain, penurunan ekspresi *Insulin-Like Growth Factor-1* (IGF-1) menyebabkan terganggunya fase anagen. IGF-1 normalnya berperan melindungi sel folikel dari apoptosis dan mendukung regenerasi rambut. IGF-1 juga meningkatkan ekspresi VEGF dengan mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan, seperti PI3K/Akt dan MAPK/ERK, sehingga merangsang angiogenesis yang penting untuk pertumbuhan folikel.

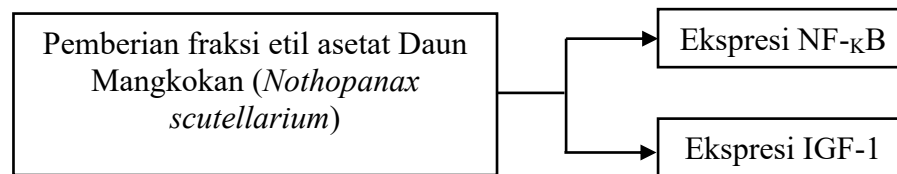
Daun mangkokan (*Nothopanax scutellaria*) diketahui mengandung senyawa utama yaitu flavonoid. Flavonoid seperti *quercetin* berfungsi sebagai antioksidan kuat yang menetralkan radikal bebas, serta anti-inflamasi dengan menghambat aktivasi NF- κ B. Fraksi etil asetat daun mangkokan diperkirakan bekerja melalui kandungan flavonoid yang bersifat antiinflamasi dan antioksidan. *Quercetin* mampu menekan aktivasi NF- κ B. Selain itu, senyawa bioaktif dalam daun mangkokan juga diduga mampu meningkatkan IGF-1, sehingga mendukung fase anagen yang lebih panjang. Pertumbuhan rambut terdiri dari fase anagen, katagen, telogen, eksogen. Kerangka teori penelitian ini adalah:





Gambar 3.1. Kerangka Teori

3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini yaitu terdapat pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkokan terhadap ekspresi NF-κB dan IGF-1 pada tikus wistar alopecia yang diinduksi testosteron propionat.



BAB IV

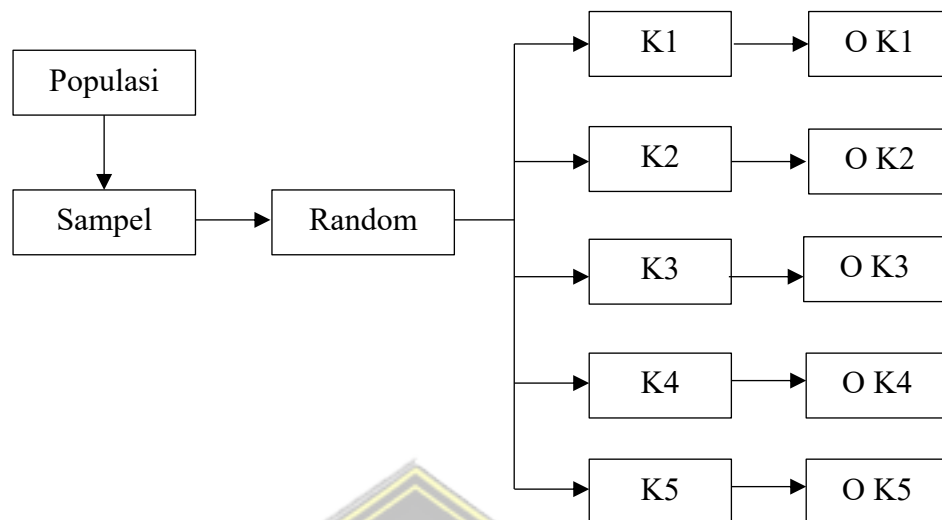
METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* dengan rancangan *Post-Test Only Control Group Design*. Merupakan rancangan penelitian eksperimen yang memilih subjek secara random dan dikelompokkan menjadi kelompok kontrol dan perlakuan, dimana hasil penelitian diamati setelah perlakuan selesai.⁷⁹

Gambar 4.1 menunjukkan pembagian kelompok tikus sesuai dengan kelompok perlakuan yang terdiri dari:

1. K1 (Tikus wistar sehat tidak diinduksi testosteron propionat)
2. K2 (Kontrol negatif, tikus wistar diinduksi testosteron propionat)
3. K3 (Kontrol positif, tikus wistar diinduksi testosteron propionate dengan pemberian minoksidil 2% secara topikal)
4. K4 (Perlakuan 1, tikus wistar diinduksi testosteron propionat dengan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka dengan dosis 2% secara topikal)
5. K5 (Perlakuan 2, tikus wistar diinduksi testosteron propionat dengan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka dengan 5% secara topikal)



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

4.2. Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1. Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel yang digunakan tikus wistar yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS).

4.2.2. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Teknik pengambilan sampel penelitian ini menggunakan cara metode *simple random sampling*. Tikus wistar sebanyak 30 ekor (1 cadangan setiap kelompok) yang masuk kriteria inklusi dibagi menjadi 5 kelompok secara acak sederhana, dengan dua kelompok kontrol dan tiga sebagai kelompok perlakuan.

4.2.3. Kriteria inklusi

- a. Hewan coba dengan umur 8-10 minggu
- b. Berat badan hewan coba berkisar antara 150-220 g

- c. Hewan coba sehat, bergerak aktif, makan dan minum cukup

4.2.4. Kriteria Eksklusi

- a. Hewan coba mengalami sakit selama masa adaptasi, yaitu 7 hari.
- b. Terdapat kelainan morfologi secara makroskopis

4.2.5. Kriteria *Drop out*

- a. Tikus mati saat penelitian berlangsung
- b. Tikus menjadi sakit selama perlakuan
- c. Tikus yang gagal induksi/ tidak menunjukkan kondisi atau perubahan biologis sesuai model alopecia

4.2.6. Besar Sampel

Besar sampel menurut *World Health Organization* (WHO) kelompok minimal 5 ekor dengan cadangan 10% (1 ekor). Besar sampel sebanyak 5 ekor ditambah persentase perkiraan *drop out* dari ukuran sampel awal sebesar 10% yaitu 1 ekor sehingga jumlah sampel menjadi 6 ekor untuk setiap kelompok. Sampel kemudian diambil secara acak menggunakan cara *simple random sampling*, dibagi dalam menjadi 5 kelompok yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan. Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor .⁸⁰

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis serum fraksi etil asetat daun mangkokan (*Nothopanax scutellarium*).

4.3.2. Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah ekspresi *Nuclear Factor-Kappa B* (NF- κ B) dan ekspresi *Insulin Like Growth Factor-1* (IGF-1).

4.3.3. Definisi Operasional

1. Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkokan

Daun mangkokan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian difraksi etil asetat yang dibuat sediaan serum dengan dosis 2% dan 5%. Serum fraksi etil asetat daun mangkokan (0,05 ml atau 1 tetes) dioleskan pada punggung tikus yang diinduksi testosteron propionate setiap hari selama 28 hari. Pada 3 hari, 7 hari, 14 hari, 21 hari dan 28 hari setelah perlakuan dilakukan pengamatan panjang rambut.

Unit : mg

Skala : nominal

2. Ekspresi NF- κ B

Ekspresi NF- κ B diperiksa dari sampel jaringan kulit punggung pada 28 hari setelah perlakuan dan dianalisis

menggunakan metode *Real time Polymerase Chain Reaction* (RTPCR).

Unit : delta cq

Skala : rasio

Rumus RTPCR:

a. Nilai Cq/Ct (*Quantification Cycle*)

Cq (atau Ct) adalah siklus saat fluoresensi melewati ambang (*threshold*) yang diperoleh langsung dari mesin qPCR.

b. Perhitungan ΔCt (*Delta Ct*)

Digunakan untuk normalisasi terhadap gen housekeeping.

Rumusnya:

$$\Delta Ct = Ct_{gen\ target} - Ct_{gen\ referensi}$$

c. Perhitungan $\Delta\Delta Ct$ (*Delta Delta Ct*)

Digunakan untuk membandingkan kelompok perlakuan dengan kontrol. Rumusnya:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{perlakuan} - \Delta Ct_{kontrol}$$

d. Rumus *Fold Change* (*Relative Quantification*)

Metode yang paling umum digunakan adalah metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak Method). Rumusnya:

$$fold\ change = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

e. Interpretasi Fold Change

Nilai > 1 artinya upregulasi (ekspresi meningkat)

Nilai $= 1$ artinya tidak ada perubahan

Nilai < 1 artinya downregulasi (ekspresi menurun)

3. Ekspresi IGF-1

Ekspresi IGF-1 diperiksa dari sampel jaringan kulit punggung pada 28 hari setelah perlakuan dan dianalisis menggunakan metode *Real time Polymerase Chain Reaction* (RTPCR).

Unit : delta cq

Skala : rasio

Rumus RTPCR:

a. Nilai Cq/Ct (*Quantification Cycle*)

Cq (atau Ct) adalah siklus saat fluoresensi melewati ambang (*threshold*) yang diperoleh langsung dari mesin qPCR.

b. Perhitungan ΔCt (*Delta Ct*)

Digunakan untuk normalisasi terhadap gen housekeeping.

Rumusnya:

$$\Delta Ct = Ct_{gen\ target} - Ct_{gen\ referensi}$$

c. Perhitungan $\Delta\Delta Ct$ (*Delta Delta Ct*)

Digunakan untuk membandingkan kelompok perlakuan dengan kontrol. Rumusnya:

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{perlakuan} - \Delta Ct_{kontrol}$$

d. Rumus *Fold Change* (*Relative Quantification*)

Metode yang paling umum digunakan adalah metode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak Method). Rumusnya:

$$fold\ change = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

e. Interpretasi Fold Change

Nilai > 1 artinya upregulasi (ekspresi meningkat)

Nilai = 1 artinya tidak ada perubahan

Nilai < 1 artinya downregulasi (ekspresi menurun)

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

Alat yang untuk pemeliharaan dan hewan coba meliputi kandang ventilasi standar untuk tikus, rak kandang tahan korosi dengan sistem ventilasi, alas dan tempat penimbunan limbah, tempat makan dan minum, pemberi pakan komersial, sistem air bersih atau dispenser air RO yang terfilter, pengontrol lingkungan (*heater/cooling*) untuk menjaga suhu dan kelembapan, dan lampu dengan siklus 12:12 jam terang/gelap.

Alat untuk pembiakan data dengan metode RTPCR meliputi homogenizer jaringan (*motorized tissue homogenizer / bead-beater*) atau mortar-pestle dengan nitrogen cair, centrifuge bertemperatur (*microcentrifuge*), *real-time PCR machine* (RTPCR) dengan deteksi *probe*, *Vortex*, *microcentrifuge*, pipet mikropipet dan tips *RNAse-free* (filter tips) dan rak es / *ice box* untuk bekerja dengan RNA.

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian daun mangkokan, fraksi daun mangkokan, testosterone, aquades, ketamine, xylazine, etanol 96% dan etil asetat. Daun mangkokan yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tanaman yang tumbuh di wilayah Surakarta, yang telah dipastikan identitas botanisnya melalui proses determinasi di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS). Pengambilan sampel dilakukan pada daun yang masih segar, berwarna hijau tua, tidak terserang hama, dan tidak mengalami kerusakan fisik. Setelah dipanen, daun dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dikeringkan dan diproses lebih lanjut sesuai prosedur pembuatan ekstrak/fraksi yang digunakan dalam penelitian.

Bahan fraksi daun mangkokan yaitu dari daun tanaman mangkokan segar dikeringkan dan dihaluskan. Proses fraksinasi: Ekstrak etanol daun mangkokan difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat. Fraksi etil asetat sering digunakan karena mengandung senyawa flavonoid, terutama *quercetin* yang berperan dalam aktivitas antiinflamasi dan regenerasi rambut. Disimpan dalam wadah gelap suhu ruang.

Testosteron yang digunakan yaitu dari merek Sustanon 250. Spesifikasi umum nama kimia adalah testosterone propionate, kelarutannya yaitu larut dalam pelarut organik seperti etanol, propilen

glikol, atau minyak jagung, kemurnian yaitu $\geq 98-99\%$ untuk bahan baku aktif, sedangkan kegunaannya sebagai agen penginduksi alopecia androgenetik pada model tikus jantan. Dosis umum (model tikus): 0,1–0,3 mg/kgBB per hari melalui injeksi intramuskular selama 28 hari.

Bahan dan agen yang digunakan dalam penelitian dengan metode RTPCR meliputi reagen ekstraksi RNA yaitu kit ekstraksi RNA total (*column-based*), DNase I (RNase-free) untuk menghilangkan DNA genomic, *nuclease-free water* (air bebas RNase), reagen / kit untuk reverse transcription (RT), cDNA synthesis kit, RTPCR master mix menggunakan *probe*, primer spesifik (forward & reverse) untuk gen target: NF- κ B, IGF, dan gen housekeeping dna *low-adsorption microtubes RNase-free*.

4.5. Cara Penelitian

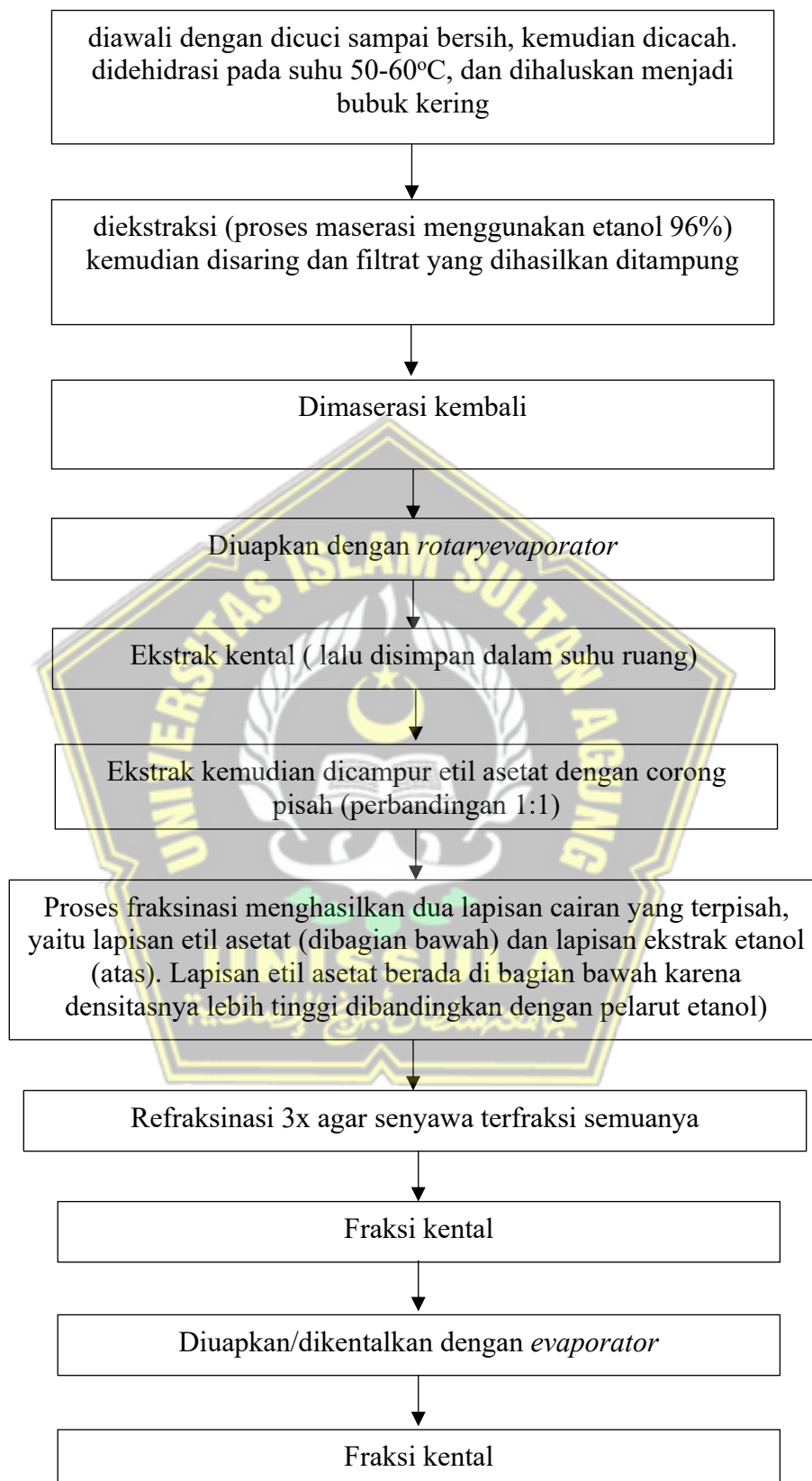
4.5.1. Cara Pembuatan Ekstrak dan Fraksi Daun Mangkoka

Gambar 4.2 menjelaskan alur pembuatan ekstrak daun mangkoka diawali dengan dicuci sampai bersih. Daun mangkoka kemudian segar dicacah, didehidrasi pada suhu 50-60°C dan dihaluskan menjadi bubuk kering. Bubuk kering diekstraksi melalui proses maserasi menggunakan etanol 96% kemudian disaring dan filtrat yang dihasilkan ditampung, residu kemudian dimaserasi kembali dengan metode yang sama. Kandungan etanol dihilangkan dengan cara diuapkan menggunakan rotaryevaporator hingga

membentuk ekstrak kental. Ekstrak kental yang terbentuk kemudian disimpan pada suhu ruang.

Ekstrak daun mangkokaan dicampur dengan etil asetat dengan menggunakan corong pisah (perbandingan 1:1). Kemudian diambil cairan yang terpisah yang berada dibawah (cairan etil asetat). Cairan yang ada diatas (cairan etanol) direfraksinasi 3 kali dan di rotaryevaporator atau diuapkan sampai menjadi fraksi kental.

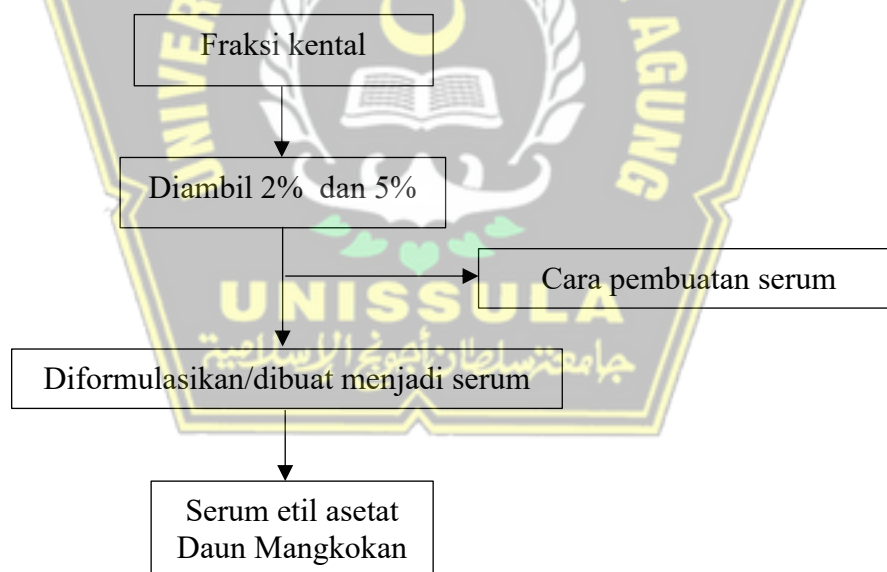
Proses ekstraksi dan fraksinasi daun mangkokaan dilakukan menggunakan 2 kg sampel daun mangkokaan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter pada tahap ekstraksi awal. Selanjutnya, proses fraksinasi dilakukan menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 2 liter untuk memperoleh fraksi semi-polar yang diharapkan mengandung senyawa aktif. Dari proses tersebut diperoleh hasil fraksi etil asetat sebanyak 49,9 gram, yang menunjukkan bahwa daun mangkokaan memiliki kandungan senyawa yang cukup terfraksinasi dalam pelarut etil asetat. Hasil fraksi ini kemudian digunakan sebagai bahan aktif dalam formulasi sediaan serum.



Gambar 4.2. Alur Pembuatan Ekstrak Daun Mangkoka

4.5.2. Pembuatan Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkokan

Gambar 4.3 menunjukkan alur pembuatan serum fraksi etil asetat daun mangkokan. Penelitian ini menggunakan fraksi etil asetat 2% dan 5%. Tinjauan potensi fraksi etil asetat daun mangkokan pada model hewan bahwa fraksi etil asetat menunjukkan efek biologis sehingga dosis rendah sering dipakai dalam studi pra-klinis.²⁴ Studi sebelumnya menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun *N. scutellarium* sebanyak 0,2 gram memiliki efek iritasi ringan, sedangkan formulasi yang mengandung fraksi 0,5% dan 1% meningkatkan pertumbuhan rambut dan diameter rambut.¹¹



Gambar 4.3. Alur Pembuatan Serum Fraksi Etil Asetat Daun Mangkokan

1. Formulasi pembuatan serum

Tabel 4.1. Formulasi Pembuatan Serum

No	Bahan	Fungsi	Konsentrasi	Keterangan
1	Tween 80 (Elmugator)	Pengemulsi (menyatukan minyak & air)	55 (v/v)	Membantu stabilitas emulsi
2	Minyak	Fase minyak	30 (v/v)	Berupa minyak nabati atau minyak esensial sesuai formulasi
3	Fraksi (zat aktif)	Bahan aktif	2 dan 5 (b/v)	Disesuaikan dengan tujuan serum
4	Asam sitrat	Pengawet dan humektan	0,1 (b/v)	Menjaga stabilitas dan kelembapan
5	Air	Pelarut (fase air)	ad 100 (v/v)	Pelarut utama, ditambahkan hingga volume total 100%

Keterangan: v/v (volume per volume), b/v (berat per volume)

2. Langkah pembuatan serum

Pembuatan sediaan serum diawali dengan mencampurkan Tween dan air menggunakan alat ultraturax pada suhu 50°C dengan kecepatan 1000 rpm selama 5 menit hingga terbentuk campuran yang homogen. Selanjutnya, minyak ditambahkan secara perlahan ke dalam campuran tersebut sambil tetap dilakukan proses homogenisasi. Setelah minyak tercampur, kecepatan ultraturax ditingkatkan menjadi 2000 rpm untuk memastikan terbentuknya emulsi yang lebih stabil dan merata. Tahap berikutnya adalah penambahan fraksi bahan aktif serta pengawet ke dalam campuran, kemudian dihomogenkan kembali.

Campuran tersebut didiamkan selama 10 menit untuk memastikan kestabilan dan kesempurnaan pencampuran, sehingga diperoleh sediaan serum yang homogen dan siap digunakan.

3. Data Formulasi pembuatan serum

Formulasi sediaan serum fraksi etil asetat daun mangkoka dibuat dalam dua konsentrasi, yaitu 2% dan 5%, dengan komposisi minyak, emulgator, dan air hingga volume akhir ad 100 mL, serta penambahan asam sitrat 0,1% sebagai penstabil pH. Hasil pengujian menunjukkan bahwa formulasi 2% memiliki nilai transmittan sebesar 94,5%, sedangkan formulasi 5% menunjukkan nilai transmittan 72,2%, yang menandakan bahwa peningkatan konsentrasi fraksi menyebabkan penurunan kejernihan sediaan. Nilai pH sediaan berada pada kisaran 5,35 untuk formulasi 2% dan 5,18 untuk formulasi 5%, yang masih sesuai dengan rentang pH kulit, sehingga sediaan dinilai aman dan stabil untuk penggunaan topical.

Berdasarkan pengamatan organoleptik pada suhu $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ menunjukkan bahwa sediaan serum fraksi etil asetat daun mangkoka baik pada konsentrasi 2% maupun 5% memiliki karakteristik yang relatif serupa. Kedua sediaan berwarna kuning, memiliki bau khas minyak kemiri, dengan tekstur berminyak, tampilan jernih, serta menunjukkan homogenitas yang baik. Tidak ditemukan perbedaan organoleptik yang signifikan antara kedua

konsentrasi, yang mengindikasikan bahwa peningkatan kadar fraksi etil asetat tidak memengaruhi stabilitas fisik dan karakteristik visual sediaan secara bermakna.

4.5.3. Penetapan Dosis Fraksi Daun Mangkoka

Dalam penelitian ini satu tetes serum fraksi etil asetat Daun Mangkoka atau 0,05 ml (dalam 1 ml = 20 tetes, 1 tetes = 0,05 ml) digunakan sebagai dosis topikal. Angka 0,05 mL dipakai karena secara praktik farmasi 1 tetes kurang lebih 0,05 mL (20 tetes/mL), sehingga memudahkan standarisasi aplikasi kecil pada area terbatas.

Kalibrasi dropper dilakukan untuk memastikan ketepatan dan konsistensi volume larutan yang diberikan selama perlakuan. Proses ini dilakukan dengan meneteskan larutan menggunakan dropper pada alat ukur seperti pipet ukur atau timbangan analitik, kemudian menghitung rata-rata volume per tetes sehingga diperoleh ukuran yang seragam, misalnya 0,05 ml per tetes.

4.5.4. Adaptasi Hewan Uji Coba

Tikus ditempatkan dalam kandang standar dengan suhu 25 ± 2 °C, kelembapan 50-60%, siklus terang/gelap 12 jam, serta diberi pakan standar dan air *ad libitum* selama 7 hari.

4.5.5. Cara induksi testotestosterone

Induksi dilakukan dengan penyuntikan intramuskular testotestosterone propionat dosis 5 mg/kgBB selama 7 hari untuk memicu

terjadinya alopecia. Pemberian testosteron dalam jangka waktu tersebut akan menyebabkan penipisan rambut, pemendekan fase anagen, dan percepatan masuknya folikel rambut ke fase telogen, sehingga menciptakan model tikus alopecia yang dapat digunakan untuk uji efektivitas terapi rambut farmakologis.⁸¹

Testosteron propionat 5 mg/kg dapat disuntikkan secara intramuskular ke punggung tikus sekali sehari.⁸² Dosis testosteron propionat 5 mg/kgBB merupakan protokol yang ter-validated dan reproduktif untuk menimbulkan keadaan hiperandrogen/*androgen-induced hair loss*/AGA pada model hewan, memberikan paparan androgen sistemik yang cukup untuk mengaktivasi Rute DHT/AR di folikel rambut tanpa toksisitas akut yang berat.⁸³

Kadar testosteron pada tikus dapat dikategorikan berdasarkan tingkat fisiologis normal maupun kondisi eksperimental (misalnya setelah induksi hormon). Secara umum, kadar testosteron diukur dalam serum/plasma dan dinyatakan dalam ng/mL atau ng/dL. Berikut gambaran kategorinya:

1. Kadar fisiologis (normal):

Tikus jantan dewasa biasanya memiliki kadar testosteron serum sekitar 2–10 ng/mL (200–1000 ng/dL), tergantung usia dan strain.

2. Kadar tinggi (hiperandrogenetik/induksi):

Kadar testosterone 10 ng/mL biasanya dicapai melalui pemberian testosterone eksogen. Kondisi ini dapat dipakai pada model alopecia androgenetik.

Penilaian iritasi kulit dilakukan berdasarkan skor eritema dan edema yang diamati pada waktu pengamatan yang telah ditentukan. Nilai rata-rata skor digunakan untuk mengklasifikasikan tingkat iritasi, yaitu sangat ringan (0,0–0,4), ringan (0,5–1,9), sedang (2,0–4,9), dan kuat (5,0–8,0). Klasifikasi ini menjadi dasar dalam menilai keamanan sediaan uji terhadap kulit hewan percobaan.

4.5.6. Pembagian Kelompok

Kelompok perlakuan dibagi menjadi 5 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 5 tikus dan 1 cadangan.

1. Kelompok K1 : Tikus sehat (tidak diinduksi testosterone propionat)
2. Kelompok K2 : Kelompok kontrol (Kontrol negatif, tikus diinduksi testosterone propionat)
3. Kelompok K3 : Kelompok kontrol (Kontrol positif, tikus diinduksi testosterone propionat dengan pemberian minoksidil 2% secara topikal)
4. Kelompok K4 : Kelompok perlakuan 1, tikus diinduksi testosterone propionat dengan perlakuan serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% secara topikal

5. Kelompok K5 : Kelompok perlakuan 2, tikus diinduksi testosteron propionat dengan perlakuan serum fraksi etil asetat daun mangkokan 5% secara topikal.

4.5.7. Pengukuran Panjang rambut

Panjang rambut tikus adalah pertambahan ukuran rambut yang tumbuh pada area punggung tikus setelah pemberian perlakuan, yang diukur secara berkala pada hari ke-3, 7, 14, 21, dan 28. Pengukuran dilakukan pada area yang sama menggunakan alat ukur seperti jangka sorong atau penggaris digital dengan ketelitian milimeter, dimulai dari permukaan kulit hingga ujung rambut terpanjang pada titik pengamatan yang telah ditandai. Nilai yang dicatat merupakan rerata dari beberapa helai rambut pada setiap titik pengamatan untuk meningkatkan akurasi data.

Unit : milimeter (mm)

Skala : rasio

4.5.8. Pengukuran Kadar testosteron

Kadar testosteron tikus adalah konsentrasi hormon testosteron yang diukur dari sampel darah tikus pada hari ke-7 dan hari ke-28 setelah pemberian perlakuan. Sampel darah diambil melalui vena, kemudian disentrifugasi untuk memperoleh serum. Kadar testosteron selanjutnya dianalisis menggunakan metode Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) sesuai dengan protokol kit yang

digunakan. Hasil pemeriksaan dinyatakan sebagai konsentrasi hormon testosteron dalam serum pada masing-masing waktu pengamatan.

Unit : ng/mL

Skala : rasio

4.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta (UMS). Penelitian dilakukan pada bulan Desember 2025 sampai Januari 2026.

4.7. Metode Analisis Data

Data ekspresi NF- κ B dan IGF-1 dinalisis menggunakan statistik deskriptif untuk mengetahui rerata dan standart deviasi. Normalitas distribusi data diuji menggunakan *shapiro wilk* dengan alasan jumlah subjek penelitian <50. Jika nilai $p > 0,05$ dinyatakan berdistribusi normal dan apabila nilai $p < 0,05$ distribusi data dinyatakan tidak normal.

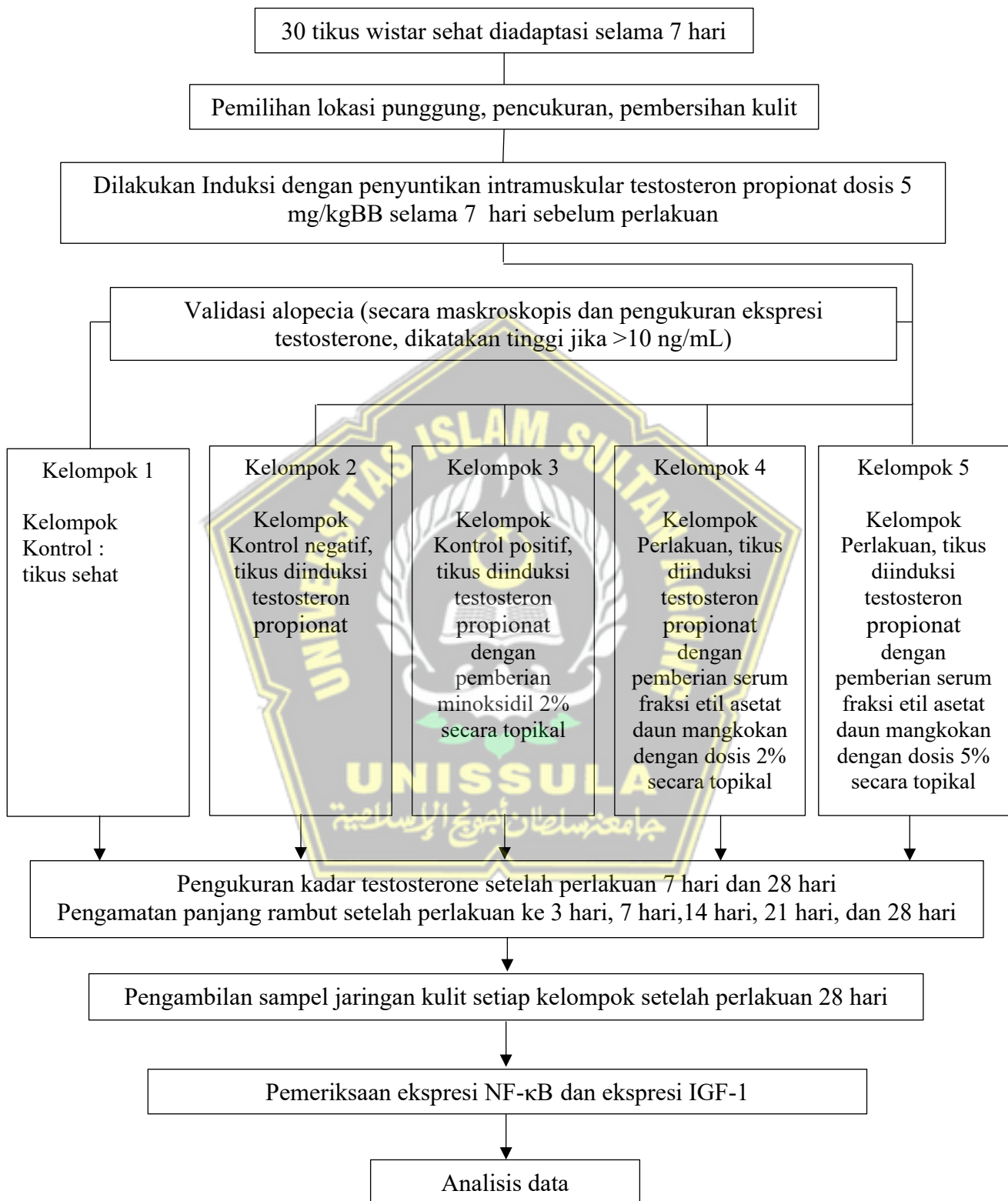
Analisis homogenitas varian data menggunakan *levane test*. Apabila $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa data memiliki varians yang homogen, sehingga analisis parametrik selanjutnya dapat dilanjutkan. Sebaliknya, jika nilai signifikansi $\leq 0,05$ maka varians data tidak homogen, sehingga analisis non-parametrik lebih disarankan.

Uji *One-Way ANOVA (Analysis of Variance)* digunakan untuk membandingkan rata-rata dari tiga kelompok atau lebih untuk melihat apakah

ada perbedaan yang signifikan di antara kelompok dengan syarat data berdistribusi normal. Data ekspresi NF- κ B dan IGF-1 diketahui berdistribusi normal dan homogeny sehingga analisis menggunakan *One-Way ANOVA*. Hasil uji perbandingan apabila p-value $<0,05$ dinyatakan signifikan artinya ada perbedaan antar kelompok sedangkan jika p-value $>0,05$ dinyatakan tidak signifikan artinya tidak ada perbedaan antar kelompok. Uji *post-hoc LSD* digunakan setelah uji *One-Way ANOVA* untuk menentukan kelompok mana yang berbeda secara signifikan satu sama lain karena hasil ANOVA menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara kelompok.



4.8. Alur Penelitian



Gambar 4.4. Alur Penelitian

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan tikus wistar sebagai subjek penelitian yang diinduksi testosteron propionate dengan dilakukan dengan penyuntikan intramuskular testosteron propionat dosis 5 mg/kgBB selama 7 hari sebelum perlakuan dan 28 hari setelah perlakuan pertama. Jumlah tikus yang digunakan adalah 30 ekor tikus sesuai dengan kriteria. Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok dengan yaitu 3 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan pertama (K4) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkokan 2% dan kelompok kedua (K5) terdiri atas 6 hewan uji dengan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkokan 5%. Kelompok kontrol negatif adalah 6 hewan uji yang diinduksi testosterone propionat sedangkan kelompok kontrol positif adalah 6 hewan uji yang diinduksi testosteron dengan pemberian minoksidil 2% secara topikal. Kelompok sehat adalah kelompok tikus sehat tanpa perlakuan. Pada penelitian ini tikus diadaptasi selama 7 hari dan diinduksi testosterone propionat, selanjutnya diberikan perlakuan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkokan 2% dan 5% pada K1 dan K2 selama 28 hari. Terdapat 1 tikus yang mati pada kontrol negatif, akan tetapi karena ada cadangan disetiap kelompok maka tidak diulangi dari awal. Setelah perlakuan 28 hari dilakukan pengambilan sampel dan selanjutnya dilakukan analisis data. Pada 7 hari setelah setelah induksi, tikus dilakukan validasi alopecia. Gambar 5.1 menunjukkan kulit tikus sehat dan tikus mengalami alopecia.



(A)Tikus Sehat



(B)Tikus Alopecia

Gambar 5.1. Validasi alopecia pada tikus (A) tikus sehat dan (B) Tikus yang mendapatkan induksi testosteron propionate

Setelah keberhasilan induksi dan validasi model tikus alopecia dikonfirmasi berdasarkan parameter yang telah ditetapkan, perlu dilanjutkan dengan pengujian keamanan sediaan melalui uji iritasi dermal. Gambar 5.2 memperlihatkan hasil pengamatan reaksi kulit hewan percobaan setelah pemberian sediaan uji pada uji iritasi dermal menggunakan metode *Draize test*. Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bahwa sediaan yang digunakan tidak menimbulkan reaksi iritatif pada kulit hewan percobaan, sehingga layak untuk dilanjutkan ke tahap evaluasi efektivitas.



Gambar 5.2. Uji Iritasi Dermal Pada Tikus

Hasil uji iritasi dermal dilakukan pada empat kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol positif (minoksidil 2%), perlakuan serum 2%, dan perlakuan serum 5%. Pengamatan dilakukan pada jam ke-24, 48, dan 72 setelah aplikasi dengan menilai derajat eritema dan edema. Hasil observasi menunjukkan bahwa seluruh hewan uji pada semua kelompok tidak mengalami eritema maupun edema (skor 0) pada seluruh waktu pengamatan. Pada kelompok kontrol positif ditemukan adanya pembentukan krusta pada beberapa hewan, namun tidak disertai tanda eritema atau edema. Temuan ini menunjukkan bahwa sediaan yang diuji tidak menimbulkan reaksi iritasi dermal berdasarkan parameter yang diamati.

5.1. Hasil Penelitian

5.1.1. Panjang Rambut

Hasil analisis panjang rambut dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan Gambar 5.3.

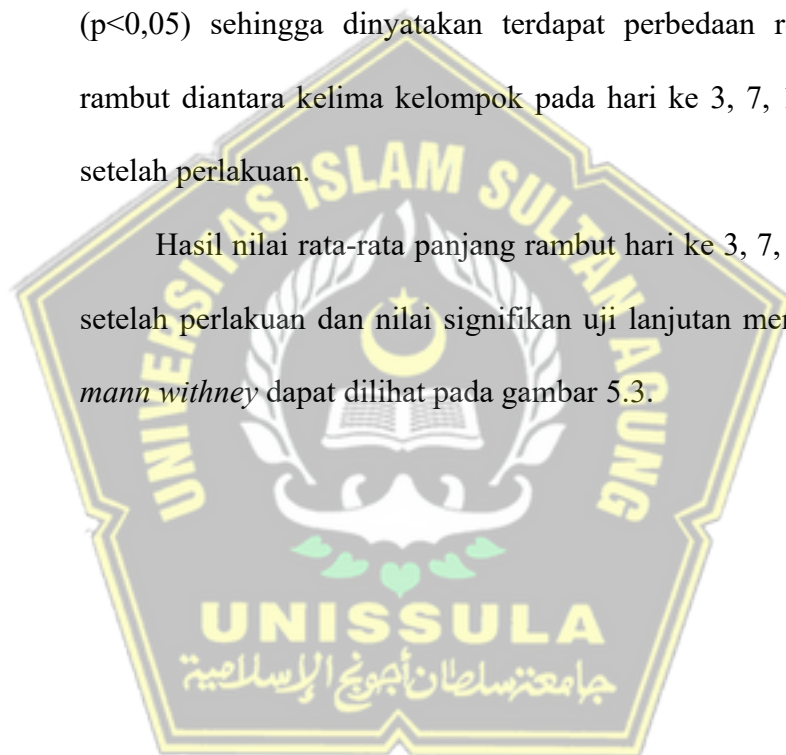
Tabel 5.1. Hasil Pengukuran Panjang Rambut

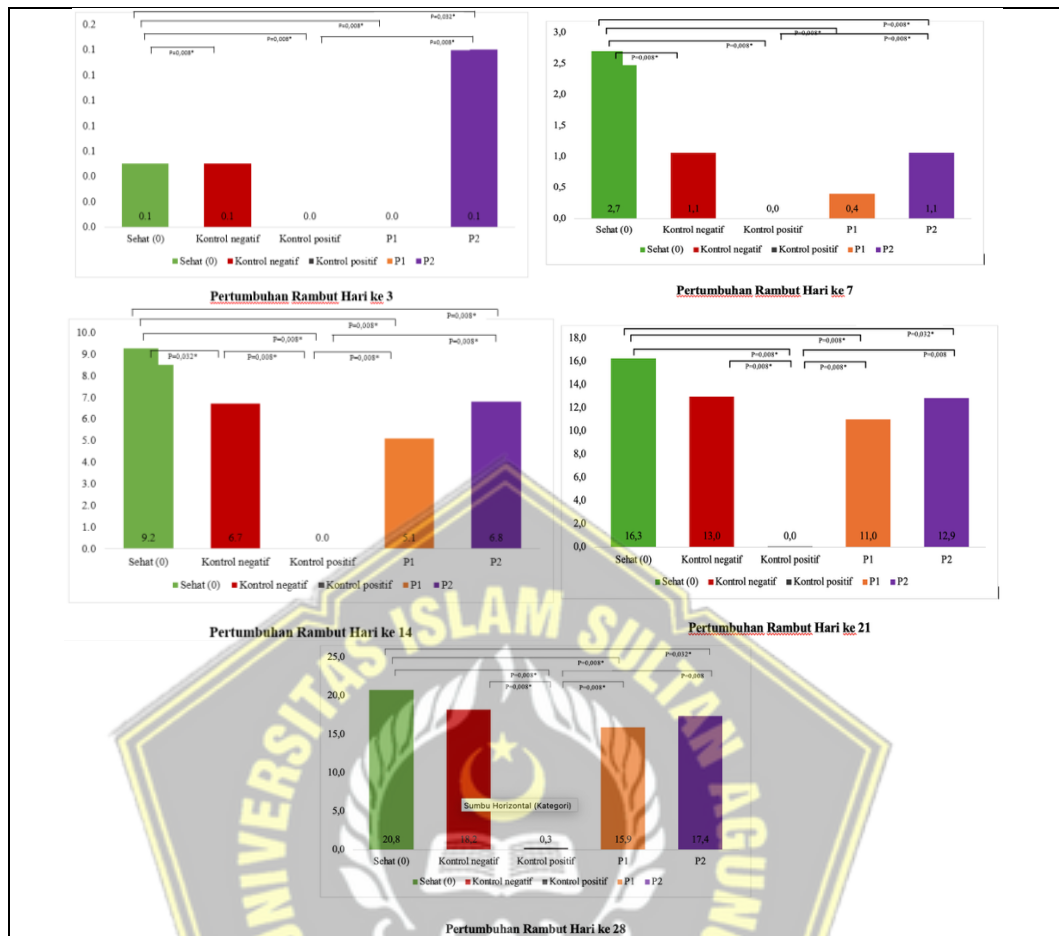
Variable panjang rambut	Kelompok					<i>p</i>
	K1	K3	K2	K4	K5	
	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	
H3	0,05 ± 0,21	0,04 ± 0,09	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,14 ± 0,22	
<i>Shapiro Wilk</i>						0,000
Levene's Test						0,003
Kruskal wallis						0,002
H7	2,70 ± 0,63	1,06 ± 0,46	0,00 ± 0,00	0,40 ± 0,41	1,06 ± 0,56	
<i>Shapiro Wilk</i>						0,012
Levene's Test						0,027
Kruskal wallis						0,001
H14	9,24 ± 1,05	6,70 ± 1,56	0,00 ± 0,00	5,08 ± 1,43	6,80 ± 3,30	
<i>Shapiro Wilk</i>						0,013
Levene's Test						0,024
Kruskal wallis						0,001
H21	16,28 ± 1,82	12,98 ± 2,52	0,04 ± 0,09	11,02 ± 1,89	12,86 ± 1,31	
<i>Shapiro Wilk</i>						0,001
Levene's Test						0,017
Kruskal wallis						0,001
H28	20,76 ± 1,64	18,20 ± 2,87	0,26 ± 0,21	15,92 ± 1,75	17,38 ± 1,18	
<i>Shapiro Wilk</i>						0,000
Levene's Test						0,017
Kruskal wallis						0,001

Berdasarkan hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.1 rerata panjang rambut pada hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28 setelah perlakuan di kelompok K1 yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata panjang rambut kelompok K3. Selanjutnya rerata panjang rambut kelompok K5 dan rerata panjang rambut kelompok K4 kemudian rerata panjang rambut kelompok K2. Data panjang rambut

kelima kelompok pada hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28 setelah perlakuan semuanya berdistribusi tidak normal, ditunjukkan dengan hasil *Shapiro Wilk* diperoleh nilai $p < 0,05$ dan memiliki varian data yang tidak homogen ditunjukkan dengan hasil *Levene's Test* sebesar $p < 0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji *kruskal wallis*. Analisis statistik non parametrik dengan uji *kruskal wallis* menghasilkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata panjang rambut diantara kelima kelompok pada hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28 setelah perlakuan.

Hasil nilai rata-rata panjang rambut hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28 setelah perlakuan dan nilai signifikan uji lanjutan menggunakan uji *mann withney* dapat dilihat pada gambar 5.3.





Gambar 5.3. Panjang Rambut Hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28

Uji *post hoc* hari ke 3, 7, 14, 21 dan 28 setelah perlakuan diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk perbandingan rerata panjang rambut antara K1 dengan K2, K3, K4, dan K5 (0,008). Rerata K2 dengan K3 (0,001) ada perbedaan yang bermakna, kelompok K2 dengan K4 (0,000) dan K5 ada perbedaan yang bermakna. Sedangkan rerata K3 dan K4 (0,008) ada perbedaan yang bermakna serta K3 dan K5 (0,010) ada perbedaan yang bermakna hanya pada hari ke 28.

5.1.2. Kadar Testosteron

Hasil analisis kadar testosteron dapat dilihat pada Tabel 5.2 dan Gambar 5.4.

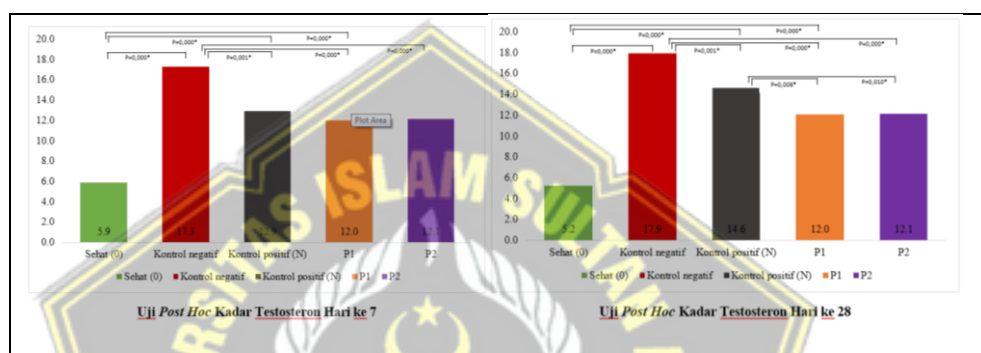
Tabel 5.2. Hasil Penelitian Kadar Testosteron

Variable Kadar testosteron	Kelompok					<i>p</i>
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	
H7	5,89 $\pm$ 1,64	17,30 $\pm$ 1,54	12,93 $\pm$ 1,63	12,02 $\pm$ 1,04	12,10 $\pm$ 1,11	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,717	0,986	0,727	0,864	0,902	
<i>Levene's Test</i>						0,827
<i>One way anova</i>						0,000
H28	5,2 $\pm$ 1,55	17,93 $\pm$ 1,52	14,61 $\pm$ 1,55	12,03 $\pm$ 0,98	12,13 $\pm$ 1,26	
<i>Shapiro Wilk</i>	0,485	0,183	0,484	0,876	0,493	
<i>Levene's Test</i>						0,455
<i>One way anova</i>						0,000

Berdasarkan hasil penelitian rerata kadar testosteron pada hari ke 7 dan 28 setelah perlakuan di kelompok K2 yang tertinggi, kemudian diikuti oleh rerata kadar testosteron K3. Selanjutnya rerata kadar testosteron kelompok K5 dan rerata kadar testostosterone kelompok K4 kemudian rerata kadar testosteron kelompok K1. Data kadar testosteron kelima kelompok pada hari ke 7 dan 28 setelah perlakuan semuanya berdistribusi normal, ditunjukkan dengan hasil *shapiro wilk* diperoleh nilai $p > 0,05$ dan memiliki varian data yang homogen ditunjukkan dengan hasil *levене's test* sebesar $p > 0,05$ sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*. Analisis statistik parametrik dengan uji *one way anova* menghasilkan nilai $p = 0,000$ ($p < 0,05$) sehingga dinyatakan terdapat perbedaan rerata kadar testosteron diantara kelima kelompok pada hari ke 7, dan 28 setelah

perlakuan. Hasil uji *one way anova* dilanjutkan dengan uji *post hoc LSD* untuk melihat dosis serum fraksi etil asetat daun mangkoka yang paling berpengaruh.

Hasil nilai rata-rata kadar testosteron hari ke 7 dan 28 dan nilai signifikan uji lanjutan menggunakan uji *post hoc LSD* dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4. Kadar Testosteron Hari ke 7 dan 28

Uji *post hoc* hari ke 7 dan 28 setelah perlakuan diperoleh nilai $p < 0,05$ untuk perbandingan rerata kadar testosteron antara K1 dengan K2, K3, K4, dan K5 (0,000). Rerata K2 dengan K3 (0,001) ada perbedaan yang bermakna, kelompok K2 dengan K4 (0,000) dan K5 ada perbedaan yang bermakna. Sedangkan rerata K3 dan K4 (0,008) ada perbedaan yang bermakna serta K3 dan K5 (0,010) ada perbedaan yang bermakna hanya pada hari ke 28.

5.1.3. Ekspresi NF- κ B

Hasil analisis data NF- κ B dengan menggunakan metode *Real time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) dapat dilihat pada Tabel 5.3 dan Gambar 5.5.

Tabel 5.3. Hasil Penelitian Ekspresi NF- κ B

Variable	Kelompok					P
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	Mean $\pm$ SD n = 5	
Nilai NFκB	0,00 $\pm$ 0,00	7.12 $\pm$ 0.34	7.312 $\pm$ 0.33	7.952 $\pm$ 0.34	8.456 $\pm$ 0.35	
<i>Shapiro Wilk</i>	-	0.762	0.789	0.746	0.747	
<i>Levene's Test</i>						0.027
<i>One way anova</i>						0.00
Nilai IGF 1	7.452 $\pm$ 0.47	0,00 $\pm$ 0,00	7.296 $\pm$ 0.47	8.774 $\pm$ 0.46	7.824 $\pm$ 0.49	
<i>Shapiro Wilk</i>	0.80	-	0.757	0.667	0.669	
<i>Levene's Test</i>						0.222
<i>One way anova</i>						0.000

Keterangan:

Shapiro wilk* ($P > 0,05$ = normal)Levene test* ($P > 0,05$ = homogen)

Berdasarkan hasil analisis ekspresi gen NF- κ B menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) yang disajikan pada Tabel 5.1 dengan jumlah sampel tiap kelompok $n = 5$, diperoleh nilai ΔC_q rata-rata (mean $\pm$ SD) yang berbeda pada masing-masing kelompok, yaitu K1 sebesar 0,00 $\pm$ 0,00; K2 7,12 $\pm$ 0,34; K3 7,312 $\pm$ 0,33; K4 7,952 $\pm$ 0,34; dan K5 8,456 $\pm$ 0,35. Nilai ΔC_q yang lebih tinggi menunjukkan ekspresi gen target yang lebih rendah setelah normalisasi, sehingga kelompok K5 memiliki tingkat penurunan ekspresi NF- κ B paling besar, diikuti K4, K3, dan K2.

Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data pada seluruh kelompok berdistribusi normal dengan nilai p masing-masing K2=0,762; K3=0,789; K4=0,746; dan K5=0,747

($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's test* menghasilkan nilai $p = 0,027$ yang menunjukkan bahwa varians data tidak homogen. Meskipun demikian, hasil analisis *One-Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok dengan nilai $p = 0,000$. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh signifikan terhadap penurunan ekspresi gen NF- κ B.

Tabel 5.4. Uji *Post Hoc* Ekspresi NF- κ B antar kelompok penelitian

Variable	Kelompok	Kelompok perbandingan	Signifikansi
NF-KB	K1	K2	0,000*
		K3	0,000*
		K4	0,000*
		K5	0,000*
		K3	0,937
K2	K3	K4	0,025*
		K5	0,000*
		K4	0,118
K3	K4	K5	0,002*
		K5	0,296

Analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc* dilakukan setelah uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok pada ekspresi gen NF- κ B dan IGF-1. Uji ini bertujuan mengidentifikasi pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan sehingga interpretasi biologis mengenai efek inflamasi dan regeneratif dari perlakuan dapat dipahami secara lebih spesifik. Dengan demikian, hasil uji ini menjadi bagian penting dalam menguatkan interpretasi terhadap temuan ekspresi gen yang telah dibahas sebelumnya.

Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa K1 berbeda signifikan dengan seluruh kelompok lainnya, yaitu dengan K2, K3, K4, dan K5, dengan nilai signifikansi masing-masing sebesar $p=0,000$. Perbandingan antara kelompok K2 dengan kelompok lain menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan K3 ($p=0,937$), tetapi terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan K4 ($p=0,025$) dan K5 ($p=0,000$). Pada perbandingan antara K3 dengan kelompok perlakuan, tidak ditemukan perbedaan signifikan antara K3 dan K4 ($p=0,118$), namun terdapat perbedaan signifikan antara K3 dan K5 ($p=0,002$). Selain itu, perbandingan antara K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p=0,296$). Secara keseluruhan, pola hasil *Post Hoc* pada NF- κ B memperkuat interpretasi bahwa kondisi inflamasi meningkatkan ekspresi gen tersebut, sementara pemberian perlakuan mampu menekan aktivasi jalur inflamasi secara bermakna.

5.1.4. Ekspresi IGF-1

Hasil analisis data IGF-1 dengan menggunakan metode *Real time Polymerase Chain Reaction* (RTPCR) dapat dilihat pada Tabel 5.5.

Tabel 5.5. Hasil Penelitian Ekspresi NF-κB dan IGF-1

Variable	Kelompok					p
	K1	K2	K3	K4	K5	
	Mean±SD n = 5	Mean±SD n = 5	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	Mean ± SD n = 5	
ΔCq IGF 1	7.452±0.47	0,00 ± 0,00	7.296±0.47	8.774±0.46	7.824±0.49	
<i>Shapiro Wilk</i>	0.80	-	0.757	0.667	0.669	
<i>Levene's Test</i>						0.222
<i>One way anova</i>						0.000

Keterangan:

Shapiro wilk* ($P > 0,05$ = normal)Levene test* ($P > 0,05$ = homogen)

Pada pemeriksaan ekspresi gen IGF-1 menggunakan metode RT-PCR dengan $n = 5$ tiap kelompok, diperoleh nilai ΔCq rata-rata (mean±SD) yaitu K1 sebesar 7,452±0,47; K2 0,00±0,00; K3 7,296±0,47; K4 8,774±0,46; dan K5 7,824±0,49. Nilai ΔCq tertinggi terdapat pada kelompok K4 (8,774±0,46) yang menunjukkan ekspresi IGF-1 paling rendah setelah normalisasi, sedangkan kelompok K5 (7,824±0,49) menunjukkan ekspresi yang lebih tinggi dibandingkan K4. Nilai ΔCq K3 (7,296±0,47) yang mendekati K1 (7,452±0,47) menunjukkan tingkat ekspresi yang relatif serupa dengan kontrol fisiologis.

Uji normalitas *Shapiro–Wilk* menunjukkan bahwa data berdistribusi normal pada seluruh kelompok dengan nilai p K1=0,80; K3=0,757; K4=0,667; dan K5=0,669 ($p > 0,05$). Uji homogenitas varians menggunakan *Levene's test* menghasilkan nilai $p=0,222$ yang menunjukkan varians data homogen. Analisis *One-Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok

dengan nilai $p=0,000$. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh signifikan terhadap ekspresi gen IGF-1.

Tabel 5.6. Uji *Post Hoc* Ekspresi IGF-1 antar kelompok penelitian

Variable	Kelompok	Kelompok perbandingan	Signifikansi
GF-1	K1	K2	0,000*
		K3	0,994
		K4	0,020*
		K5	0,867
		K3	0,000*
	K2	K4	0,000*
		K5	0,000*
	K3	K4	0,008*
		K5	0,652
	K4	K5	0,138

Analisis lanjutan menggunakan uji *Post Hoc* dilakukan setelah uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok pada ekspresi IGF-1. Uji ini bertujuan mengidentifikasi pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan sehingga interpretasi biologis mengenai efek inflamasi dan regeneratif dari perlakuan dapat dipahami secara lebih spesifik. Dengan demikian, hasil uji ini menjadi bagian penting dalam menguatkan interpretasi terhadap temuan ekspresi gen yang telah dibahas sebelumnya.

Analisis *Post Hoc* pada ekspresi IGF-1 menunjukkan pola yang berbeda dibandingkan NF- κ B, mencerminkan keterlibatan jalur biologis yang berkaitan dengan pertumbuhan, proliferasi, dan regenerasi jaringan. Kelompok K1 menunjukkan perbedaan signifikan dengan K2 ($p=0,000$) dan K4 ($p=0,020$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K3 ($p=0,994$) maupun perlakuan K5 ($p=0,867$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekspresi IGF-1 pada kelompok K3 dan

K5 mendekati kondisi fisiologis normal, yang mengindikasikan adanya pemulihan jalur pertumbuhan pada kedua kelompok tersebut.

Perbandingan antara K2 dengan kelompok lain menunjukkan perbedaan signifikan terhadap K3, K4, dan K5 (seluruhnya $p=0,000$). Pada kelompok kontrol positif (K3), ditemukan perbedaan signifikan dengan K4 ($p=0,008$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K5 ($p=0,652$). Sementara itu, perbandingan antara K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p=0,138$).

5.2. Pembahasan

Keberhasilan induksi testosteron terhadap alopecia kelompok sehat dengan kelompok negatif, terlihat dari adanya perbedaan kadar testosteron antar kedua kelompok tersebut. Peningkatan kadar testosteron pada kelompok negatif menunjukkan bahwa induksi testosteron berhasil meningkatkan konsentrasi androgen sistemik maupun lokal pada jaringan kulit. Testosteron yang meningkat akan dikonversi oleh enzim 5α -reduktase menjadi dihidrotestosteron (DHT), yaitu bentuk androgen yang lebih poten dalam memicu miniaturisasi folikel rambut. DHT kemudian berikatan dengan reseptor androgen pada sel papila dermal, mengubah siklus pertumbuhan rambut dari fase anagen (pertumbuhan) menjadi fase katagen dan telogen lebih cepat, sehingga terjadi penipisan dan kerontokan rambut. Sebaliknya, pada kelompok sehat yang tidak mendapat induksi, kadar testosteron berada pada rentang fisiologis sehingga tidak terjadi stimulasi berlebihan pada reseptor androgen dan struktur folikel rambut tetap normal. Dengan

demikian, perbedaan kadar testosteron antara kedua kelompok tersebut menegaskan bahwa proses induksi berjalan efektif dan model alopesia androgenetik berhasil terbentuk secara biologis.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka berpengaruh signifikan terhadap penurunan ekspresi gen NF- κ B. Temuan ini menunjukkan adanya efek modulasi terhadap jalur inflamasi dan jalur pertumbuhan yang relevan dengan mekanisme biologis yang diteliti. Secara biologis, nilai Δ Cq yang lebih rendah pada kelompok K2 ($7,12 \pm 0,34$) menunjukkan tingkat ekspresi inflamasi yang lebih tinggi, sedangkan peningkatan nilai Δ Cq pada kelompok perlakuan, terutama K5 ($8,456 \pm 0,35$), menunjukkan kemampuan perlakuan dalam menekan aktivasi jalur inflamasi yang dimediasi NF- κ B.

Hasil uji *Post Hoc* menunjukkan bahwa K1 berbeda signifikan dengan seluruh kelompok lainnya, yaitu dengan K2, K3, K4, dan K5, dengan nilai signifikansi masing-masing sebesar $p=0,000$. Perbedaan ini menunjukkan bahwa kondisi fisiologis normal memiliki profil ekspresi NF- κ B yang secara statistik berbeda dibandingkan kondisi inflamasi maupun kondisi yang telah mendapatkan intervensi. Hal ini menguatkan bahwa induksi model penelitian berhasil memicu perubahan jalur inflamasi yang dapat dideteksi pada tingkat molekuler.

Perbandingan antara kelompok K2 dengan kelompok lain menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan dengan K3 ($p = 0,937$), tetapi terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok perlakuan K4 ($p = 0,025$) dan K5

($p=0,000$). Hasil ini mengindikasikan bahwa intervensi yang diberikan mampu menekan ekspresi NF- κ B secara nyata dibandingkan kondisi inflamasi tanpa terapi. Secara biologis, penurunan ekspresi ini menunjukkan potensi penghambatan aktivasi jalur transkripsi gen proinflamasi yang dikendalikan oleh NF- κ B, sehingga mendukung temuan sebelumnya bahwa perlakuan memiliki aktivitas antiinflamasi.

Pada perbandingan antara K3 dengan kelompok perlakuan, tidak ditemukan perbedaan signifikan antara K3 dan K4 ($p=0,118$), namun terdapat perbedaan signifikan antara K3 dan K5 ($p=0,002$). Hal ini menunjukkan bahwa efektivitas perlakuan pada kelompok K5 dalam menekan ekspresi NF- κ B mencapai tingkat yang berbeda secara statistik dibandingkan terapi standar, sedangkan perlakuan K4 menunjukkan efek yang relatif setara dengan kontrol positif. Selain itu, perbandingan antara K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p=0,296$), yang menandakan bahwa kedua perlakuan memiliki arah efek yang sama dalam menurunkan ekspresi gen inflamasi meskipun terdapat perbedaan numerik dalam respons biologisnya. Secara keseluruhan, pola hasil *Post Hoc* pada NF- κ B memperkuat interpretasi bahwa kondisi inflamasi meningkatkan ekspresi gen tersebut, sementara pemberian perlakuan mampu menekan aktivasi jalur inflamasi secara bermakna.

Secara biologis, NF- κ B merupakan faktor transkripsi utama yang berperan dalam regulasi respons inflamasi melalui aktivasi berbagai gen proinflamasi, termasuk tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-

1 β), interleukin-6 (IL-6), serta enzim proinflamasi seperti cyclooxygenase-2 (COX-2) dan inducible nitric oxide synthase (iNOS). Aktivasi jalur NF- κ B yang berlebihan pada jaringan kulit kepala diketahui berkontribusi terhadap terjadinya inflamasi mikro di sekitar folikel rambut, yang merupakan salah satu mekanisme patofisiologis penting pada alopecia androgenetik. Inflamasi kronis tersebut dapat mengganggu siklus pertumbuhan rambut dengan memperpendek fase anagen dan mempercepat transisi menuju fase katagen dan telogen, sehingga berujung pada penipisan dan kerontokan rambut.

Penurunan ekspresi NF- κ B yang teramati pada kelompok perlakuan serum fraksi etil asetat daun mangkoka, sebagaimana ditunjukkan oleh peningkatan nilai Nilai Cq yang lebih tinggi mengindikasikan penurunan tingkat ekspresi NF- κ B, sehingga hasil ini menunjukkan bahwa pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka mampu menurunkan ekspresi NF- κ B pada model tikus Wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat. Penurunan ekspresi NF- κ B terlihat seiring dengan peningkatan konsentrasi sediaan, dimana perlakuan 5% memberikan efek yang lebih besar dibandingkan perlakuan 2%, meskipun efek tersebut masih berada di bawah kontrol positif minoksidil 2%.

Cq hasil RT-PCR serta nilai *fold change* <1, mengindikasikan adanya efek antiinflamasi pada tingkat molekuler. Secara kuantitatif, rerata *fold change* pada kelompok perlakuan berada di bawah kontrol normal dan kontrol inflamasi, yang mencerminkan penurunan ekspresi relatif gen NF- κ B dibandingkan kondisi induksi. Nilai *fold change* tersebut juga menunjukkan

kecenderungan perbedaan antara konsentrasi perlakuan, dimana perubahan relatif ekspresi gen mencerminkan modulasi respons inflamasi yang sejalan dengan variasi perlakuan yang diberikan. Interpretasi *fold change* ini memperkuat temuan $\Delta\Delta C_t$ bahwa intervensi mampu menurunkan aktivasi jalur inflamasi secara relatif terhadap kelompok pembanding. Efek ini berpotensi menekan produksi mediator proinflamasi di sekitar folikel rambut, sehingga menciptakan lingkungan mikro yang lebih kondusif bagi pemeliharaan fase anagen dan proses regenerasi folikel. Peningkatan efek penghambatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi sediaan (5% dibandingkan 2%) menunjukkan adanya kecenderungan hubungan dosis dan respon terhadap modulasi jalur inflamasi yang dimediasi NF- κ B, sebagaimana juga didukung oleh hasil perbandingan antar kelompok pada analisis statistik lanjutan.

Temuan ini sejalan dengan konsep bahwa pengendalian inflamasi folikel rambut melalui inhibisi jalur NF- κ B dapat menjadi pendekatan terapeutik yang relevan dalam penatalaksanaan alopecia androgenetik. Berdasarkan hasil penelitian, efek modulasi NF- κ B oleh serum fraksi etil asetat daun mangkokan menunjukkan kemampuan menekan ekspresi gen inflamasi secara bermakna dibandingkan kondisi inflamasi tanpa terapi, serta menunjukkan respons yang sebanding atau berbeda secara statistik terhadap kontrol positif pada beberapa parameter. Hal ini mengindikasikan bahwa sediaan bahan alam tersebut memiliki potensi sebagai agen pendukung atau terapi adjuvan dalam pengelolaan inflamasi folikel rambut.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% terhadap ekspresi NF- κ B pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron dibandingkan kelompok kontrol negatif. Pemberian serum 2% diduga mengandung senyawa aktif flavonoid dan saponin yang bersifat antiinflamasi dan antioksidan, sehingga mampu menghambat aktivasi kompleks *Inhibitor of kappa B Kinase* (IKK) dan mencegah translokasi NF- κ B ke inti sel. Dengan demikian, serum 2% menunjukkan efek protektif parsial terhadap inflamasi folikel rambut, meskipun efeknya belum sekuat konsentrasi yang lebih tinggi. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 2% sudah memberikan respons biologis dalam menurunkan ekspresi NF- κ B dibandingkan kelompok yang hanya diinduksi testosteron tanpa perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka mampu menurunkan ekspresi NF- κ B pada model tikus Wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat 5% dibandingkan kelompok negatif. Senyawa *quercetin* yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun mangkoka berperan dalam memodulasi jalur NF- κ B melalui mekanisme penghambatan translokasi NF- κ B ke dalam inti sel, sehingga menurunkan ekspresi gen-gen proinflamasi. Penurunan aktivitas NF- κ B ini berkontribusi terhadap berkurangnya proses inflamasi, yang selanjutnya berpotensi memengaruhi perbaikan lingkungan seluler dan peningkatan kadar testosteron. Efek yang lebih optimal pada dosis 5% menunjukkan adanya hubungan dosis dan respon terhadap ekspresi NF- κ B, dimana peningkatan

konsentrasi serum fraksi etil asetat daun mangkoka memberikan aktivitas antiinflamasi yang lebih kuat.

Hasil penelitian ini sejalan sesuai teori, bahwa NF- κ B dikenal sebagai salah satu regulator utama respon inflamasi dan faktor stres seluler. Aktivasi NF- κ B dapat dipicu oleh sinyal pro-inflamasi, stres oksidatif, dan mediator sitokin seperti TNF- α serta IL-1 β . Dalam konteks AGA, inflamasi mikro pada unit folikel rambut telah diamati termasuk peningkatan beberapa biomarker inflamasi seperti NF- κ B dan TNF- α pada serum pasien AGA dibandingkan kontrol sehat.⁸⁴

Meskipun NF- κ B dikenal luas sebagai regulator utama respon inflamasi, bukti ilmiah menunjukkan bahwa aktivitas *basal* NF- κ B diperlukan untuk mempertahankan viabilitas dan proliferasi sel pada berbagai jaringan, termasuk pada komponen folikel rambut. Aktivitas NF- κ B yang berlebihan secara kronis memang dapat memicu ekspresi sitokin proinflamasi, namun penghambatan total terhadap NF- κ B justru berisiko mengganggu fungsi fisiologis pentingnya, seperti proliferasi sel dan homeostasis jaringan. Studi sebelumnya Ezzat *et al.*, menunjukkan bahwa modulasi seimbang terhadap jalur TGF- β /VEGF/NF- κ B oleh polifenol dari *Echinacea purpurea* tidak hanya mengurangi respon inflamasi, tetapi juga mendukung proses regeneratif dan penyembuhan jaringan pada model hewan, yang mencerminkan peran dual NF- κ B dalam keseimbangan inflamasi dan proliferasi sel. Dengan analogi biologis yang relevan, *quarceetin* dalam fraksi etil asetat daun mangkoka diduga berperan sebagai modulator NF- κ B tidak

sebagai inhibitor absolut sehingga dapat menekan kondisi inflamasi patologis tanpa menghilangkan fungsi fisiologis NF- κ B yang diperlukan untuk mendukung homeostasis dan siklus folikel rambut.⁸⁵

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan ekspresi NF- κ B yang signifikan antar kelompok perlakuan. Dalam studi sebelumnya paparan androgen berlebih melalui TP dapat meningkatkan aktivitas pro-inflamasi melalui aktivasi jalur NF- κ B, yang selanjutnya memicu ekspresi sitokin dan mediator inflamasi lain yang berkontribusi pada gangguan siklus folikel rambut dan miniaturisasi folikel, fenomena yang menjadi ciri khas alopecia androgenetik pada model hewan.⁸⁶ Menurut hasil penelitian *in vitro* dan klinis, NF- κ B juga berperan dalam memelihara fase anagen folikel rambut melalui regulasi proliferasi dan diferensiasi pada komponen folikel rambut. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa aktivitas NF- κ B diperlukan untuk mempertahankan fase pertumbuhan anagen folikel rambut manusia.⁸⁷

Hasil menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada variable IGF-1 antar kelompok. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka berpengaruh signifikan terhadap ekspresi gen IGF-1. Secara biologis, IGF-1 berperan dalam proliferasi sel dan regenerasi jaringan, sehingga peningkatan ekspresi relatif pada kelompok K5 dibandingkan K4 menunjukkan adanya kecenderungan stimulasi jalur pertumbuhan akibat perlakuan.

Analisis *Post Hoc* pada ekspresi IGF-1 menunjukkan pola yang berbeda dibandingkan NF- κ B, mencerminkan keterlibatan jalur biologis yang

berkaitan dengan pertumbuhan, proliferasi, dan regenerasi jaringan. Kelompok K1 menunjukkan perbedaan signifikan dengan K2 ($p=0,000$) dan K4 ($p=0,020$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K3 ($p=0,994$) maupun perlakuan K5 ($p=0,867$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekspresi IGF-1 pada kelompok K3 dan K5 mendekati kondisi fisiologis normal, yang mengindikasikan adanya pemulihan jalur pertumbuhan pada kedua kelompok tersebut.

Perbandingan antara K2 dengan kelompok lain menunjukkan perbedaan signifikan terhadap K3, K4, dan K5 (seluruhnya $p=0,000$). Hal ini menegaskan bahwa kondisi inflamasi tanpa intervensi menurunkan atau mengganggu regulasi ekspresi IGF-1, sementara pemberian terapi maupun perlakuan mampu meningkatkan ekspresi gen tersebut secara bermakna. Temuan ini konsisten dengan peran IGF-1 sebagai mediator pertumbuhan yang sensitif terhadap kondisi stres biologis dan inflamasi.

Pada kelompok kontrol positif (K3), ditemukan perbedaan signifikan dengan K4 ($p=0,008$), tetapi tidak berbeda signifikan dengan K5 ($p=0,652$). Hal ini menunjukkan bahwa respons ekspresi IGF-1 pada kelompok K5 secara statistik sebanding dengan terapi standar, sedangkan K4 masih menunjukkan perbedaan tingkat efektivitas. Sementara itu, perbandingan antara K4 dan K5 tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p=0,138$), yang menandakan bahwa kedua perlakuan memberikan efek peningkatan ekspresi IGF-1 dengan arah yang sama, meskipun intensitas responsnya berbeda secara numerik.

Secara biologis, peningkatan ekspresi IGF-1 mencerminkan aktivasi mekanisme proliferasi seluler, diferensiasi, dan perbaikan jaringan. IGF-1 berperan dalam mengaktivasi jalur PI3K/Akt dan MAPK yang mendukung pertumbuhan sel serta mempertahankan kelangsungan hidup jaringan, sehingga peningkatan ekspresi gen ini pada kelompok perlakuan dapat diinterpretasikan sebagai indikator dukungan terhadap proses regeneratif.

Jika diintegrasikan dengan hasil ekspresi gen sebelumnya, analisis *Post Hoc* menunjukkan pola yang saling melengkapi antara penurunan ekspresi NF- κ B dan peningkatan ekspresi IGF-1 pada kelompok perlakuan. Penekanan jalur inflamasi melalui modulasi NF- κ B berpotensi mengurangi produksi sitokin proinflamasi dan stres jaringan, sementara peningkatan aktivitas IGF-1 mendukung pemulihan fungsi biologis melalui stimulasi pertumbuhan dan regenerasi sel. Kombinasi kedua mekanisme ini mencerminkan respons molekuler yang bersifat protektif dan reparatif.

Secara keseluruhan, hasil uji *Post Hoc* menegaskan bahwa intervensi yang diberikan mampu menghasilkan perubahan ekspresi gen yang bermakna dibandingkan kondisi inflamasi tanpa terapi. Pada beberapa parameter, respons kelompok perlakuan menunjukkan kesetaraan dengan terapi standar, terutama pada modulasi ekspresi IGF-1 dan sebagian parameter NF- κ B. Temuan ini memperkuat hipotesis bahwa perlakuan memiliki potensi sebagai agen modulasi molekuler yang bekerja melalui dua jalur biologis utama, yaitu penghambatan inflamasi dan stimulasi regenerasi jaringan, yang relevan dengan mekanisme patofisiologi model penelitian yang digunakan.

Nilai Quantification Cycle (Cq) pada pemeriksaan ekspresi IGF-1 menggunakan metode *Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)* menunjukkan hubungan berbanding terbalik dengan tingkat ekspresi gen, dimana nilai Cq yang lebih rendah mencerminkan tingkat ekspresi gen yang lebih tinggi. Berdasarkan hasil penelitian, kelompok kontrol positif (minoksidil 2%) menunjukkan nilai Cq yang relatif rendah secara rerata, sehingga dapat diinterpretasikan memiliki kecenderungan ekspresi IGF-1 yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lain, serta berfungsi sebagai pembanding respons stimulasi pertumbuhan folikel rambut. Temuan ini sejalan dengan hasil analisis *fold change*, dimana kelompok kontrol positif menunjukkan nilai *fold change* di atas kelompok kontrol normal, menandakan peningkatan ekspresi relatif gen IGF-1. Nilai *fold change* yang lebih tinggi tersebut menguatkan interpretasi bahwa terapi standar mampu mengaktivasi jalur proliferasi yang mendukung pertumbuhan folikel rambut.

Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka pada kelompok perlakuan menunjukkan adanya ekspresi IGF-1 dibandingkan kontrol negatif, yang ditandai dengan terdeteksinya amplifikasi gen. Pada kelompok perlakuan, konsentrasi 5% menunjukkan nilai Cq yang lebih rendah dibandingkan konsentrasi 2%, yang mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi serum fraksi etil asetat daun mangkoka cenderung meningkatkan ekspresi IGF-1. Pola ini juga tercermin pada analisis *fold change*, dimana kelompok perlakuan 5% memiliki nilai *fold change* lebih tinggi dibandingkan perlakuan 2%, meskipun masih berada di bawah nilai

kontrol positif. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan ekspresi relatif IGF-1 seiring peningkatan konsentrasi sediaan, yang mengindikasikan kecenderungan hubungan dosis dan respon terhadap stimulasi faktor pertumbuhan. Secara komparatif, ekspresi IGF-1 pada kelompok perlakuan masih menunjukkan kecenderungan berada di bawah kontrol positif secara rerata, meskipun analisis statistik menunjukkan bahwa perbedaannya tidak selalu bermakna, yang menandakan adanya potensi aktivitas biologis yang mendekati efek terapi standar.

Hasil tersebut diperkuat oleh hasil ΔCq yang memperlihatkan perbedaan hasil ekspresi gen IGF-1 antar kelompok. Kelompok kontrol positif menunjukkan hasil yang muncul lebih awal, menandakan tingkat ekspresi IGF-1 yang relatif tinggi. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5% memperlihatkan hasil yang muncul lebih awal dibandingkan konsentrasi 2%, sedangkan kelompok kontrol normal menunjukkan hasil yang relatif lebih lambat. Sementara itu, kelompok kontrol negatif tidak menunjukkan hasil yang bermakna, yang menandakan tidak terjadinya ekspresi gen IGF-1 pada kelompok tersebut. Secara keseluruhan, kesesuaian antara interpretasi nilai ΔCq , pola kurva amplifikasi, serta nilai *fold change* menunjukkan konsistensi hasil kuantifikasi ekspresi gen IGF-1, sehingga memperkuat validitas kesimpulan mengenai adanya efek modulasi faktor pertumbuhan oleh perlakuan yang diberikan.

Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkokan 2% terhadap ekspresi IGF-1 pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron dibandingkan kelompok kontrol negatif. Peningkatan ekspresi IGF-1 pada kelompok K4 menunjukkan bahwa serum 2% memiliki efek stimulatif terhadap jalur pertumbuhan folikel rambut, kemungkinan melalui kandungan senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan dan mampu memperbaiki mikroinflamasi jaringan. Dengan meningkatnya IGF-1, proses proliferasi dan diferensiasi sel folikel rambut dapat berlangsung lebih optimal meskipun terdapat induksi androgen. Hal ini mengindikasikan bahwa konsentrasi 2% sudah memberikan efek biologis yang signifikan dalam memperbaiki penurunan IGF-1 akibat induksi testosteron dibandingkan kelompok kontrol negatif.

Hasil penelitian ini menunjukkan serum fraksi etil asetat daun mangkokan mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 pada model tikus Wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat, dengan efek yang lebih baik pada konsentrasi 5%. Meskipun demikian, peningkatan ekspresi IGF-1 yang dihasilkan masih lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif minoksidil 2%. Peningkatan ekspresi IGF-1 pada kelompok perlakuan yang lebih tinggi dibandingkan kelompok minoksidil menunjukkan bahwa mekanisme kerja serum fraksi etil asetat daun mangkokan tidak hanya melalui efek vasodilatasi sebagaimana minoksidil, tetapi juga melalui modulasi molekuler pada jalur pertumbuhan folikel rambut.

Temuan ini sejalan dengan teori bahwa formulasi herbal berbasis fitokimia memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi serta mampu meningkatkan proliferasi sel dermal papilla dan mengaktivasi jalur pertumbuhan rambut yang melibatkan faktor angiogenik seperti *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) serta faktor pertumbuhan terkait, sehingga menghasilkan stimulasi pertumbuhan rambut yang lebih stabil dan berkelanjutan.⁸⁸ IGF-1 merupakan faktor pertumbuhan penting yang diproduksi oleh sel dermal papilla dan berperan pada proliferasi, diferensiasi, serta fase anagen folikel rambut. IGF-1 memfasilitasi transisi ke fase anagen, menekan apoptosis folikel, dan mendukung vaskularisasi serta pasokan nutrisi mikrofolikel melalui aktivasi jalur PI3K/Akt dan MAPK/ERK.⁵²

Bukti dari studi lain yang mendukung penelitian ini bahwa sel dermal papilla dari kulit kepala yang mengalami kebotakan menghasilkan lebih sedikit IGF-1 dibandingkan dengan kulit kepala non-balding, menguatkan peran IGF-1 sebagai mediator dalam patogenesis AGA.⁸⁹ Inflamasi kronis pada unit pilosebacea diketahui menurunkan ekspresi IGF-1 dan meningkatkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β . Dengan berkurangnya inflamasi mikro, ekspresi IGF-1 dapat pulih dan mendukung perpanjangan fase anagen.⁵²

Penelitian lanjutan disarankan untuk mengevaluasi ekspresi kolagen tipe I, TGF- β , serta MMP-1 dan MMP-9 guna memperjelas mekanisme ini. Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa serum fraksi etil asetat daun mangkoka memiliki potensi sebagai kandidat terapi herbal AGA

yang bekerja secara multifaktorial melalui efek antioksidan, antiinflamasi, modulasi NF- κ B, dan peningkatan IGF-1.

Alopecia androgenetik (AGA) merupakan gangguan pertumbuhan rambut yang ditandai dengan miniaturisasi folikel rambut akibat peningkatan sensitivitas folikel terhadap androgen, khususnya dihidrotestosteron (DHT). DHT terbentuk dari testosteron melalui aktivitas enzim 5 α -reductase dan memiliki afinitas tinggi terhadap androgen receptor (AR) pada sel dermal papilla. Aktivasi kompleks DHT-AR memicu perubahan regulasi gen yang menghambat proliferasi sel, mempercepat transisi dari fase anagen ke telogen, serta menurunkan ukuran folikel rambut. Studi terbaru menunjukkan bahwa aktivasi AR juga meningkatkan ekspresi miR-221 yang menekan ekspresi *insulin-like growth factor-1* (IGF-1), sehingga menghambat sinyal pertumbuhan folikel rambut.⁹⁰

Menurut teori AGA dikaitkan dengan peningkatan sensitivitas folikel rambut terhadap androgen, terutama DHT yang merupakan metabolit aktif dari testosteron melalui enzim 5 α -reductase. DHT berikatan dengan reseptor androgen di sel dermal papilla, lalu mengubah regulasi lokal terhadap pertumbuhan folikel rambut sehingga mempercepat pemendekan fase anagen dan memperpanjang fase telogen, yang menciptakan miniaturisasi folikel rambut khas pada AGA.⁹¹ Selain itu, penjelasan mekanisme molekuler, aktivasi AR oleh DHT secara langsung meningkatkan transkripsi miR-221, yang kemudian menekan ekspresi IGF-1 dalam *dermal papilla cells* (DPCs), sehingga menurunkan sinyal proliferasi dan mempertahankan fase anagen.⁵¹

Dalam penelitian ini, dua formulasi serum fraksi etil asetat daun mangkoka pada konsentrasi 2% dan 5% menunjukkan perbedaan nilai transmitan, dimana peningkatan konsentrasi bahan aktif menyebabkan penurunan kejernihan sediaan (nilai transmitan 94,5% pada 2% dan 72,2% pada 5%). Hal ini konsisten dengan temuan penelitian formulasi serum sebelumnya yang melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak atau bahan aktif cenderung mengubah karakteristik fisik sediaan, seperti warna atau kejernihan, karena peningkatan partikel terdispersi dalam fase sediaan sehingga mengurangi transmitansi cahaya yang terukur secara optik.⁹²

Nilai pH yang diamati pada kedua formula (pH 5,35 untuk 2% dan pH 5,18 untuk 5%) berada dalam rentang yang ideal dan kompatibel dengan pH kulit manusia ($\pm 4,5-5,5$), yang telah dipahami sebagai penting untuk menjaga homeostasis kulit dan mencegah iritasi saat sediaan diaplikasikan secara topikal.⁹³ Selain itu, studi formulasi serum berbasis ekstrak tumbuhan lain menunjukkan tren serupa dalam aspek pH dan stabilitas fisik, yaitu bahwa serum dengan pH dalam kisaran kulit cenderung menunjukkan stabilitas fisik yang lebih baik tanpa tanda-tanda fase pemisahan atau perubahan signifikan selama evaluasi stabilitas.⁹⁴ Hasil penelitian sebelumnya tersebut mendukung bahwa formulasi serum dalam penelitian aman dan stabil untuk aplikasi topikal, menunjukkan potensi besar serum fraksi etil asetat daun mangkoka sebagai sediaan berbasis bahan alam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan rambut pada

tikus Wistar yang mengalami alopecia akibat induksi testosteron propionat pada hari ke 3, 7, 14, 21, dan 28. Temuan ini menunjukkan bahwa serum fraksi etil asetat daun mangkoka berpotensi meningkatkan aktivitas folikel rambut dan memperbaiki gangguan pertumbuhan rambut yang dipicu oleh androgen. Serum meningkatkan pertumbuhan rambut artinya juga dapat meningkatkan aktivitas pertumbuhan folikel rambut sehingga meningkatkan sinyal pertumbuhan.

Data panjang rambut menunjukkan bahwa pertumbuhan rambut kontrol normal paling panjang, kontrol positif mendekati normal disusul perlakuan 5%, kemudian 2% dan kontrol negatif memiliki pertumbuhan paling pendek. Alopecia akibat induksi testosteron propionat berkaitan dengan peningkatan pembentukan DHT yang menyebabkan miniaturisasi folikel rambut dan pemendekan fase anagen. Kandungan senyawa *quarceetin* dalam fraksi etil asetat daun mangkoka diduga memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang dapat memodulasi jalur NF- κ B, menurunkan mediator inflamasi, serta melindungi sel folikel rambut dari kerusakan oksidatif. Kondisi tersebut mendukung terciptanya lingkungan yang lebih kondusif bagi pertumbuhan rambut.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar testosteron pada kelompok yang diberikan serum fraksi etil asetat daun mangkoka dengan dosis 2% dan 5% mengalami perubahan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok kontrol, dan perbedaan tersebut menunjukkan hasil yang signifikan secara statistik pada hari ke 7, 14, 21 dan 28. Ketika testosteron turun pada kelompok

emulsi, aktivasi NF- κ B diperkirakan ikut menurun. Senyawa *quarcetin* yang terkandung dalam fraksi etil asetat daun mangkokan diduga berperan dalam memodulasi jalur NF- κ B.

Menurut teori daun mangkokan diketahui mengandung flavonoid, terutama *quarcetin* yang memiliki aktivitas antioksidan kuat. *Quarcetin* bekerja dengan menurunkan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Menurut tinjauan ilmiah, stres oksidatif merupakan salah satu faktor penting yang mengganggu homeostasis folikel rambut dan memicu gangguan siklus pertumbuhan rambut melalui akumulasi ROS dan aktivasi jalur sinyal seperti NF- κ B, MAPK, serta jalur redoks lainnya, yang pada akhirnya berkontribusi pada kerusakan sel folikel dan kerontokan rambut. Stres oksidatif ini dapat menyebabkan peroksidasi lipid, kerusakan DNA, dan inaktivasi protein yang penting bagi kelangsungan hidup sel folikel. Oleh karena itu, aktivitas antioksidan serum fraksi etil asetat daun mangkokan berperan penting dalam meredam akumulasi ROS dan memperkuat sistem pertahanan antioksidan pada folikel rambut, sehingga memperlambat progresivitas alopecia androgenetik dan mendukung regenerasi rambut melalui perlindungan terhadap kerusakan oksidatif.⁹⁰

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan. Variasi konsentrasi serum fraksi etil asetat daun mangkokan yang digunakan masih terbatas, sehingga belum sepenuhnya menggambarkan rentang dosis optimal dalam menurunkan ekspresi NF- κ B maupun meningkatkan ekspresi IGF-1. Selain itu, parameter yang dianalisis dalam penelitian ini masih terbatas pada

ekspresi gen tertentu tanpa disertai pemeriksaan biomarker biologis lain maupun analisis histopatologi folikel rambut, sehingga mekanisme hubungan antara penurunan inflamasi dan peningkatan faktor pertumbuhan rambut belum dapat dijelaskan secara komprehensif. Durasi perlakuan yang relatif terbatas juga membatasi evaluasi efek jangka panjang terhadap siklus pertumbuhan rambut.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

1. Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka konsentrasi 2% dan 5% mampu menurunkan ekspresi NF- κ B pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionate.
2. Pemberian serum fraksi etil asetat daun mangkoka konsentrasi 2% dan 5% mampu meningkatkan ekspresi IGF-1 pada tikus wistar alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionate.
3. Terdapat pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% dan 5% terhadap ekspresi NF- κ B pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat dibandingkan kelompok kontrol ($P=0,000$). Ekspresi NF- κ B dengan dosis dan respon konsentrasi 5% memberikan modulasi inflamasi dan stimulasi faktor pertumbuhan yang lebih optimal dibandingkan 2% meskipun masih di bawah kontrol positif minoksidil.
4. Terdapat pengaruh serum fraksi etil asetat daun mangkoka 2% dan 5% terhadap ekspresi IGF-1 pada tikus alopecia androgenetik yang diinduksi testosteron propionat dibandingkan kelompok kontrol ($P=0,000$). Ekspresi IGF-1 dengan dosis dan respon konsentrasi 5% memberikan modulasi inflamasi dan stimulasi faktor pertumbuhan yang lebih optimal dibandingkan 2% meskipun masih di bawah kontrol positif minoksidil.

6.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya disarankan menggunakan variasi konsentrasi serum yang lebih luas untuk menentukan rentang dosis optimal dalam menurunkan ekspresi NF- κ B dan meningkatkan ekspresi IGF-1.
2. Disarankan menambahkan parameter biomarker lain seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6, VEGF, atau β -catenin untuk memperjelas mekanisme antiinflamasi dan stimulasi pertumbuhan rambut secara molekuler.
3. Penelitian selanjutnya perlu dilengkapi dengan pemeriksaan histopatologi untuk mengevaluasi perubahan struktur folikel rambut, diameter folikel, serta proporsi fase anagen-katagen-telogen.
4. Penelitian selanjutnya melakukan durasi lebih panjang (>4-6 minggu) untuk mengevaluasi dinamika biomarker, sehingga lebih informatif pada paparan jangka menengah hingga jangka panjang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Asfour, L., Cranwell, W. & Sinclair, R. Male Androgenetic Alopecia. in *Endotext* (eds Feingold, K. R. et al.) (MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA), 2023).
2. Gupta, A. K., Talukder, M., Venkataraman, M. & Bamimore, M. A. Minoxidil: a Comprehensive Review. *J Dermatolog Treat* **33**, 1896–1906 (2022).
3. Gupta, A. K., Venkataraman, M., Talukder, M. & Bamimore, M. A. Finasteride for Hair Loss: a Review. *J Dermatolog Treat* **33**, 1938–1946 (2022).
4. Mysore, V., Kumaresan, M., Dashore, S. & Venkatram, A. Combination and Rotational Therapy in Androgenetic Alopecia. *J Cutan Aesthet Surg* **16**, 71–80 (2023).
5. Traish, A. M. Post-finasteride syndrome: a surmountable challenge for clinicians. *Fertility and Sterility* **113**, 21–50 (2020).
6. Patel, P., Nessel, T. A. & Kumar D, D. Minoxidil. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2025).
7. Rossi, A. *et al.* Minoxidil Use in Dermatology, Side Effects and Recent Patents. *IAD* **6**, 130–136 (2022).
8. Nestor, M. S., Ablon, G., Gade, A., Han, H. & Fischer, D. L. Treatment Options for Androgenetic Alopecia: Efficacy, Side Effects, Compliance, Financial Considerations, and Ethics. *J Cosmet Dermatol* **20**, 3759–3781 (2021).
9. Shadi, Z. Compliance to Topical Minoxidil and Reasons for Discontinuation among Patients with Androgenetic Alopecia. *Dermatol Ther (Heidelb)* **13**, 1157–1169 (2023).
10. Senthilnathan, A. *et al.* Topical Minoxidil Adherence in Patients With Alopecia. *J Drugs Dermatol* **22**, 252–255 (2023).
11. Rifkia, V., Jufri, M. & Mun'im, A. Hair Growth Promoting Activity of *Nothopanax scutellarium* Merr. Leaves. *JYP* **9**, 436–440 (2017).
12. Nanes, B. A. Androgenetic Alopecia in COVID-19: Compared to What? *J Am Acad Dermatol* **83**, e451 (2020).
13. Zheng, Y. *et al.* Therapeutic Effect of *Impatiens alsamina*, *Lawsonia inermis* L. and Henna on androgenetic alopecia in mice. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* **39**, 1376–1380 (2019).
14. Ho, C. H., Sood, T. & Zito, P. M. Androgenetic Alopecia. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2025).

15. Ntshingila, S., Oputu, O., Arowolo, A. T. & Khumalo, N. P. Androgenetic Alopecia: An Update. *JAAD International* **13**, 150–158 (2023).
16. Rinaldi, F., Marzani, B., Pinto, D. & Sorbellini, E. Randomized Controlled Trial on a PRP-Like Cosmetic, Biomimetic Peptides Based, for the Treatment of Alopecia Areata. *Journal of Dermatological Treatment* **30**, 588–593 (2019).
17. Gupta, A. K., Wang, T. & Economopoulos, V. Epidemiological Landscape of Androgenetic Alopecia in the US: An All of Us Cross-Sectional Study. *PLOS ONE* **20**, e0319040 (2025).
18. Ramos, P. M., Melo, D. F., Radwanski, H., de Almeida, R. F. C. & Miot, H. A. Female-Pattern Hair Loss: Therapeutic Update. *An Bras Dermatol* **98**, 506–519 (2023).
19. Rahmi, I. A., Mun'Im, A. & Jufri, M. Formulation and Evaluation of Phytosome Lotion from Nothopanax Scutellarium Leaf Extract for Hair Growth. *Int J App Pharm* 178–185 (2021) doi:10.22159/ijap.2021v13i6.42169.
20. Yasir, A. S. Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Kelinci Jantan Dari Sediaan Hair Tonic Yang Mengandung Ekstrak Etanol Daun Mangkokan (Nothopanax scutellarium L.). *JFM (Jurnal Farmasi Malahayati)* **2**, (2019).
21. Cheyasak, N., Hu, T., Jaruchanapongtorn, S., Triwatcharikorn, J. & Palawisuth, S. A Study on the Effectiveness and Safety of Herbal Extract Combination Compared to 3% Minoxidil Solution for the Treatment of Androgenetic Alopecia: A Randomized, Double-blind, Controlled Trial. <https://doi.org/10.2174/0118743722294678240502110214> doi:10.2174/0118743722294678240502110214.
22. Nasution, A. F. *Metode Penelitian Kualitatif*. (Harfa Creative, 2023).
23. Listyani, T. A. & Yunita, B. Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Daun Mangkokan (Nothopanax Scutellarium Merr) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Warta Bhakti Husada Mulia* **9**, (2022).
24. Nasution, S. L. R., Ginting, C. N. & Lister, I. N. E. Potential Ethyl Acetate Fraction of Mangkokan Leaf Extract (Nothopanax Scutellarium) in Hyperglycemic Rats: A Systematic Review. *Jurnal Aisyah : Jurnal Ilmu Kesehatan* **7**, 259–268 (2022).
25. Kasmara, D. P., Rashid, N. A. & Angin, S. A. B. P.-. The Active Compounds in Polyscias Scutellaria Identified Based on the Solvent. *Indonesian Journal of Global Health Research* **6**, 693–700 (2024).
26. Nguyen, N. T. A. *et al.* The Ethanol Extract of Polyscias scutellaria (EEPS) Shows Anti-Inflammatory Signaling Pathway Against LPS-Induced Inflammation in RAW 264.7 Macrophages. *Natural Product Communications* **20**, 1934578X251324006 (2025).

27. Liang, A. *et al.* Signaling pathways in hair aging. *Front Cell Dev Biol* **11**, 1278278 (2023).
28. Mehta, A. *et al.* Revolutionary Approaches to Hair Regrowth: Follicle Neogenesis, Wnt/ β -Catenin Signaling, and Emerging Therapies. *Cells* **14**, 779 (2025).
29. Park, S. & Lee, J. Modulation of hair growth promoting effect by natural products. *Pharmaceutics* **13**, 1–24 (2021).
30. Tsai, C.-F. *et al.* Regulatory Effects of Quercetin on M1/M2 Macrophage Polarization and Oxidative/Antioxidative Balance. *Nutrients* **14**, 67 (2022).
31. Budi, A. T. Uji Aktivitas Pertumbuhan Rambut Kelinci Jantan Sediaan Water Based Pomade Ekstrak Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr). *Warta Bhakti Husada Mulia: Jurnal Kesehatan* **9**, (2022).
32. Sriyanti, C. *et al.* Antibacterial and Anti-Inflammatory Activities of *Nothopanax Scutellarium*, *Moringa Oleifera* and *Piper Betle* Extracts on *Staphylococcal* Mastitis Animal Model. *Narra J* **3**, e176 (2023).
33. Wang, Z. *et al.* Fucoidan Treatment Reverses Hair Loss and Inhibits Inflammatory Responses in A Mouse Model Of Androgenetic Alopecia. *International Journal of Biological Macromolecules* **322**, 146382 (2025).
34. Oiwoh, S. O., Enitan, A. O., Adegbosin, O. T., Akinboro, A. O. & Onayemi, E. O. Androgenetic Alopecia: A Review. *Nigerian Postgraduate Medical Journal* **31**, 85 (2024).
35. Aukerman, E. L. & Jafferany, M. The Psychological Consequences of Androgenetic Alopecia: A Systematic Review. *J Cosmet Dermatol* **22**, 89–95 (2023).
36. Trüeb, R. M. Further Clinical Evidence for the Effect of IGF-1 on Hair Growth and Alopecia. *Skin Appendage Disord* **4**, 90–95 (2018).
37. Kinter, K. J., Amraei, R. & Anekar, A. A. Biochemistry, Dihydrotestosterone. in *StatPearls* (StatPearls Publishing, Treasure Island (FL), 2025).
38. Shashikiran, A. R., Horatti, L., Kumar, D. N. R. & Rayapati, A. A systematic review on the treatment of androgenetic alopecia. *IP Indian Journal of Clinical and Experimental Dermatology* **8**, 141–146 (2022).
39. Stephanie, A. Tatalaksana Alopesia Androgenetik. *Cermin Dunia Kedokteran* **45**, 582–587 (2018).
40. Guo, Q. *et al.* NF- κ B in Biology and Targeted Therapy: New Insights and Translational Implications. *Sig Transduct Target Ther* **9**, 53 (2024).

41. Begum, S. *et al.* Modulating Immune Responses in Alopecia: Therapeutic Insights and Potential Targets of Antisense Oligonucleotides. *BMC Immunology* **26**, 26 (2025).
42. Sun, H. *et al.* The relationship between SIRT1 and inflammation: a systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Immunology* **15**, 1–14 (2024).
43. Begum, S. *et al.* Modulating immune responses in alopecia: therapeutic insights and potential targets of antisense oligonucleotides. *BMC Immunology* **26**, (2025).
44. Oeckinghaus, A. & Ghosh, S. The NF-kappaB family of transcription factors and its regulation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **1**, a000034 (2009).
45. Mao, H., Zhao, X. & Sun, S.-C. NF-κB in inflammation and cancer. *Cell Mol Immunol* **22**, 811–839 (2025).
46. Ma, Q. *et al.* Versatile function of NF-κB in inflammation and cancer. *Experimental Hematology & Oncology* **13**, 68 (2024).
47. Bailes, J. & Soloviev, M. Insulin-Like Growth Factor-1 (IGF-1) and Its Monitoring in Medical Diagnostic and in Sports. *Biomolecules* **11**, 217 (2021).
48. Gusscott, S. *et al.* IGF1R Derived PI3K/AKT Signaling Maintains Growth in a Subset of Human T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemias. *PLOS ONE* **11**, e0161158 (2016).
49. Guha, N., Cowan, D. A., Sönksen, P. H. & Holt, R. I. G. Insulin-Like Growth Factor-I (IGF-I) Misuse in Athletes and Potential Methods for Detection. *Anal Bioanal Chem* **405**, 9669–9683 (2013).
50. Pivonello, C. *et al.* The GH-IGF-SST System in Hepatocellular Carcinoma: Biological and Molecular Pathogenetic Mechanisms and Therapeutic Targets. *Infect Agents Cancer* **9**, 27 (2014).
51. Li, K. *et al.* The AR/miR-221/IGF-1 Pathway Mediates the Pathogenesis of Androgenetic Alopecia. *International Journal of Biological Sciences* **19**, 3307–3323 (2023).
52. Hsieh, W.-J., Qiu, W.-Y., Percec, I. & Chang, T.-M. Insulin-like Growth Factor 1 (IGF-1) in Hair Regeneration: Mechanistic Pathways and Therapeutic Potential. *Current Issues in Molecular Biology* **47**, 773 (2025).
53. Zhou, Y. *et al.* Autologous activated platelet-rich plasma in hair growth: A pilot study in male androgenetic alopecia with in vitro bioactivity investigation. *Journal of Cosmetic Dermatology* **20**, 1221–1230 (2021).
54. Li, M., Qu, K., Lei, Q., Chen, M. & Bian, D. Effectiveness of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Androgenic Alopecia: A Meta-Analysis. *Aesthetic Plastic Surgery* **48**, 977–984 (2024).

55. Afradiasbagharani, P., Hosseini, E., Allahveisi, A. & Bazrafkan, M. The insulin-like growth factor and its players: their functions, significance, and consequences in all aspects of ovarian physiology. *Middle East Fertility Society Journal* **27**, 27 (2022).
56. Kasprzak, A. Insulin-Like Growth Factor 1 (IGF-1) Signaling in Glucose Metabolism in Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* **22**, 6434 (2021).
57. Nasir, Y., Hoseinipouya, M. R., Eshaghi, H. & Rahimi, M. H. The impact of exercise on growth factors in postmenopausal women: a systematic review and meta-analysis. *BMC Womens Health* **24**, 396 (2024).
58. Oberbauer, A. M. The Regulation of IGF-1 Gene Transcription and Splicing during Development and Aging. *Front Endocrinol (Lausanne)* **4**, 39 (2013).
59. Szydłowska-Gładysz, J., Gorecka, A. E., Stepień, J., Rysz, I. & Ben-Skowronek, I. IGF-1 and IGF-2 as Molecules Linked to Causes and Consequences of Obesity from Fetal Life to Adulthood: A Systematic Review. *International Journal of Molecular Sciences* **25**, 3966 (2024).
60. Nasution, S. L. R. Buku Ajar Tanaman Herbal Daun Mangkok Manfaat bagi Kesehatan Masyarakat. *Unpri Press Universitas Prima Indonesia* (2024).
61. Jubaidah, S., Indriani, R., Sa'adah, H. & Wijaya, H. Formulasi dan Uji Pertumbuhan Rambut Kelinci dari Sediaan Hair Tonic Kombinasi Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* Linn) dan Daun Mangkokan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f.) Fosberg). *Jurnal: Ilmiah Manuntung* **4**, (2018).
62. Al-Snafi, A. E., Majid, W. J. & Talab, T. A. Medicinal Plants with Antidiabetic Effects – An Overview (Part 1). *OSR Journal Of Pharmacy* **9**, (2019).
63. Nasution, S. L. R., Nasution, A. N. & Fatmah, A. U. Buku Ajar Tanaman Herbal Daun Mangkok Manfaat bagi Kesehatan Masyarakat. *Publis Penerbit Unpri Press* **1**, (2024).
64. Listiana, L., Wahlanto, P., Ramadhani, S. S. & Ismail, R. Penetapan Kadar Tanin Dalam Daun Mangkokan (*Nothopanax scutellarium* Merr) Perasan Dan Rebusan Dengan Spektrofotometer UV-Vis. *Pharmacy Genius* **1**, 62–73 (2022).
65. Wijianto, D. W., Wahyuni, A. S., Sukmawati, A. & Bakar, F. I. A. *Nothopanax scutellarium*: Natural Hair Growth Plant. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia* 92–102 (2025) doi:10.23917/pharmacon.v22i1.11693.
66. Wang, Y. *et al.* Targeting IGF1-Induced Cellular Senescence to Rejuvenate Hair Follicle Aging. *Aging Cell* **24**, 1–16 (2025).

67. Xing, H. *et al.* Nitric oxide synergizes minoxidil delivered by transdermal hyaluronic acid liposomes for multimodal androgenetic-alopecia therapy. *Bioactive Materials* **32**, 190–205 (2024).
68. Rahmi, I. A., Jufri, M. & Mun'im, A. Extraction of quercetin from nothopanax scutellarium leaves via ionic liquid-based microwave-assisted extraction. *Pharmacognosy Journal* **12**, 1512–1517 (2020).
69. Moore, D. B., Beck, J. & Kryscio, R. J. An objective assessment of the variability in number of drops per bottle of glaucoma medication. *BMC Ophthalmology* **17**, 78 (2017).
70. Fu, D. *et al.* Dihydrotestosterone-Induced Hair Regrowth Inhibition by Activating Androgen Receptor in C57BL/6 Mice Simulates Androgenetic Alopecia. *Biomed Pharmacother* **137**, 111247 (2021).
71. Hassan, Y. F. & Shabaan, D. A. Effect of N-acetylcysteine on hair follicle changes in mouse model of cyclophosphamide-induced alopecia: histological and biochemical study. *Histochem Cell Biol* **161**, 477–491 (2024).
72. Song, H. K. & Hwang, D. Y. Use of C57BL/6N mice on the variety of immunological researches. *Lab Anim Res* **33**, 119–123 (2017).
73. Her, Y. *et al.* *Pinus thunbergii* bark extract rich in flavonoids promotes hair growth in dorsal skin by regulating inflammatory cytokines and increasing growth factors in mice. *Mol Med Rep* **25**, 100 (2022).
74. Chen, N. *et al.* Quercetin Inhibits Hsp70 Blocking of Bovine Viral Diarrhea Virus Infection and Replication in the Early Stage of Virus Infection. *Viruses* **14**, 2365 (2022).
75. Liao, H., Ye, J., Gao, L. & Liu, Y. The main bioactive compounds of *Scutellaria baicalensis* Georgi. for alleviation of inflammatory cytokines: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **133**, 110917 (2021).
76. Arlıer, S., Kayışlı, Ü. A. & Arıcı, A. Tumor necrosis factor alfa and interleukin 1 alfa induced phosphorylation and degradation of inhibitory kappa B alpha are regulated by estradiol in endometrial cells. *tjod* **15**, 50–59 (2018).
77. Muhar, A. M. *et al.* *Polyscias scutellaria*: An emerging source of natural antioxidants and anti-inflammatory compounds for health. *Pharmacia* **70**, 1463–1470 (2023).
78. Lee, C. *et al.* Hair growth is promoted by BeauTop via expression of EGF and FGF - 7. *Mol Med Report* <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8917> (2018) doi:10.3892/mmr.2018.8917.
79. Handayani, Serihati, A. Y. T. & Yuniarti, C. A. *Metode Penelitian Bagi Mahasiswa Dan Tenaga Kesehatan*. (Penerbit Adab, 2025).

80. Adaninggar, R. Pengaruh Pemberian Gel Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria Ternatea* L.) Terhadap Kadar Interleukin-6 (Il-6) Dan Kadar Vascular Endothelial Growth Factor (Vegf) (Studi eksperimental in vivo pada tikus wistar jantan yang dipapar sinar UV-B). (Universitas Islam Sultan Agung Semarang, 2024).
81. Oh, H. G. *et al.* Improvement of androgenic alopecia by extracellular vesicles secreted from hyaluronic acid-stimulated induced mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther* **15**, 287 (2024).
82. Bao, L. *et al.* LncRNA RP11-818O24.3 promotes hair-follicle recovery via FGF2-PI3K/Akt signal pathway. *Cytotechnology* **76**, 425–439 (2024).
83. Fu, Y. *et al.* Mesenchymal stem cell exosomes enhance the development of hair follicle to ameliorate androgenetic alopecia. *World J Stem Cells* **17**, 102088 (2025).
84. Balık, A. R. *et al.* Examination of androgenetic alopecia with serum biomarkers. *J Cosmet Dermatol* **20**, 1855–1859 (2021).
85. Ezzat, M. I., Abdelhafez, M. M., Al-Mokaddem, A. K. & Ezzat, S. M. Targeting TGF- β /VEGF/NF- κ B inflammatory pathway using the Polyphenols of *Echinacea purpurea* (L.) Moench to enhance wound healing in a rat model. *Inflammopharmacology* **33**, 2151–2164 (2025).
86. Yu, P., Min, X., Li, L., Wang, Y. & Zhao, D. Combined Physicochemical and Transcriptomic Analyses Reveal the Effect of Black Wolfberry Ferment on Alopecia. *Journal of Food and Nutrition Research* **13**, 195–205 (2025).
87. Kloepper, J. E. *et al.* NF- κ B activity is required for anagen maintenance in human hair follicles in vitro. *J Invest Dermatol* **134**, 2036–2038 (2014).
88. Muangsanguan, A. *et al.* Synergistic Phytochemical and Pharmacological Actions of Hair Rise™ Microemulsion: A Novel Herbal Formulation for Androgenetic Alopecia and Hair Growth Stimulation. *Plants (Basel)* **13**, 2802 (2024).
89. Panchaprateep, R. & Asawanonda, P. Insulin-like growth factor-1: roles in androgenetic alopecia. *Exp Dermatol* **23**, 216–218 (2014).
90. Du, F. *et al.* Oxidative stress in hair follicle development and hair growth: Signalling pathways, intervening mechanisms and potential of natural antioxidants. *J Cell Mol Med* **28**, e18486 (2024).
91. Roh, E. Advancements in Bioactive Compounds and Therapeutic Agents for Alopecia: Trends and Future Perspectives. *Cosmetics* **12**, 287 (2025).
92. Anggreani, P. A. & Halim, G. Formulasi dan stabilitas fisika kimia sediaan kosmetik antioksidan facial serum dari ekstrak air biji kopi hijau (*Coffea*

- canephora var. Robusta). *Seroja Husada: Jurnal Kesehatan Masyarakat* **1**, 615–630 (2024).
93. Lukić, M., Pantelić, I. & Savić, S. D. Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. *Cosmetics* **8**, (2021).
94. Ediningsih, E. Formulasi, Karakterisasi, dan Pengembangan Model Bisnis Serum Minyak Sacha Inchi sebagai Pelembap Kulit. (IPB University, 2023).

