

**PENGARUH SERUM KOMBINASI MINYAK ARGAN DAN
MINYAK ROSEMARY TOPIKAL TERHADAP KADAR IL-15
DAN IFN- γ
(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model *Alopecia-Like* yang diinduksi
fluconazole)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Magister (S2)



Magister Ilmu Biomedis

Fitriandaru Adhi Astuti

MBK 2423010445

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

TESIS

**PENGARUH SERUM KOMBINASI MINYAK ARGAN DAN
MINYAK ROSEMARY TOPIKAL TERHADAP KADAR IL-15
DAN IFN- γ**

*(Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Alopecia-Like yang
diinduksi fluconazole)*

disusun oleh
Fitriandaru Adhi Astuti
MBK 24.23.010445

Yang dipertahankan di depan tim penguji pada 26 Agustus 2025 dan dinyatakan telah
memenuhi syarat untuk di terima

Menyetujui

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. dr. Chodidjah, M. Kes
NIK. 210 186 023

Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si. Apt
NIK. 210 198 047

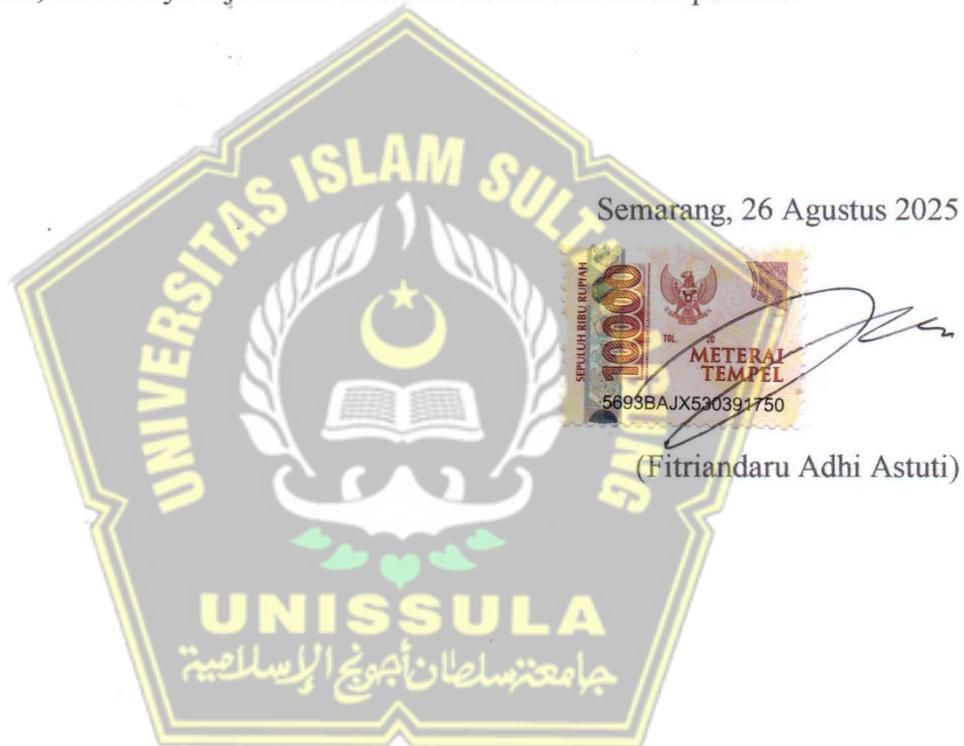
Mengetahui,
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



Dr. dr. Eko Setiawan, Sp. B, FINACS
NIK. 210 113 160

PERNYATAAN

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



RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

Nama : Fitriandaru Adhi Astuti
Tempat / Tanggal lahir : Semarang, 12 April 1990
Agama : Islam
Jenis Kelamin : Perempuan

B. Riwayat Pendidikan

1. TK Siwi Peni 1 Wonogiri : Lulus 1996
2. SD Negeri 1 Wonogiri : Lulus 2002
3. SMP Negeri 1 Wonogiri : Lulus 2005
4. SMA Muhammadiyah 1 Surakarta : Lulus 2008
5. S1 Pendidikan Dokter Universitas Muhammadiyah Surakarta : Lulus 2015
6. Magister Ilmu Biomedik FK Unissula : 2024 – Sekarang

C. Riwayat Keluarga

1. Nama Suami : Adhi Susilo, ST., MT
2. Nama Anak : Razka Aditya Alfarizi

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan yang Maha Esa, atas segala karunia dan ridho-NYA, sehingga Tesis dengan judul “*Pengaruh Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal terhadap Kadar IL-15 dan IFN- γ (Studi Eksperimental pada Tikus Wistar Model Alopecia-like yang diinduksi Fluconazole)*” ini dapat diselesaikan

Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Magister Biomedik di program studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang. Penulis menyadari bahwa tesis dapat diselesaikan berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis berterima kasih kepada semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung memberikan kontribusi dalam menyelesaikan Tesis ini, dengan rasa hormat dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. A. Gunarto, SH.,M.Hum selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung Semarang
2. Dr. dr. H. Setyo Trisnadi, SH.,Sp.KF selaku Dekan Fakultas Kedokteran Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang
3. Dr. dr. Eko Setiawan, Sp.B, FINACS selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Universitas Islam Sultan Agung Semarang serta selaku dosen penguji I.

4. Dr. dr. Chodidjah, M.Kes selaku Pembimbing I yang telah dengan penuh kesabaran membimbing, mengarahkan, dan memberikan masukan yang sangat berharga dalam penyusunan tesis ini.
5. Prof. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si., Apt selaku Pembimbing II yang telah memberikan ilmu, nasihat, dan motivasi yang tulus selama proses penelitian dan penulisan tesis.
6. Dr. dr. Joko Wahyu Wibow Mkes selaku penguji II yang banyak memberikan masukan dalam pelaksanaan penulisan tesis.
7. Dr. dr. Hadi Sarosa, M.Kes selaku penguji III yang telah memberikan banyak saran dalam penyelesaian tesis.
8. Seluruh staf dan pengajar di Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang yang telah memberikan ilmu pengetahuan yang bermanfaat.
9. Suami tercinta, Adhi Susilo, ST., MT, yang selalu menjadi sumber kekuatan, kesabaran, dan penyemangat dalam setiap langkah penulis.
10. Putra tercinta, Razka Aditya Alfarizi, yang menjadi inspirasi dan motivasi terbesar untuk terus berjuang dan menyelesaikan studi ini.
11. Kepada semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan di masa mendatang. Besar harapan penulis agar karya ini dapat memberikan manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Ilmu Biomedis.

Semarang, 26 Agustus 2025

Fitriandaru Adhi Astuti



ABSTRAK

Latar Belakang: Alopecia adalah kondisi kerontokan rambut yang dapat disebabkan oleh faktor seperti autoimun, stres, dan efek samping obat. Salah satu bentuknya, Alopecia Areata (AA), melibatkan peningkatan sitokin proinflamasi seperti Interferon-gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15). Minyak argan dan minyak rosemary diketahui memiliki sifat antiinflamasi yang dapat mempengaruhi kadar sitokin tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh serum kombinasi topikal minyak argan dan minyak rosemary terhadap kadar IL-15 dan IFN- γ pada tikus Wistar model alopecia-like yang diinduksi fluconazole.

Metode: Penelitian eksperimental menggunakan desain post-test only control group dengan 36 tikus Wistar yang dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Setiap kelompok mendapatkan perlakuan serum topikal selama 7 hari setelah induksi fluconazole selama 14 hari. Kadar IL-15 dan IFN- γ diukur menggunakan metode ELISA dan dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis serta Mann-Whitney.

Hasil: Kadar IL-15 tertinggi ditemukan pada kelompok yang diberi minyak argan (K3) dan terendah pada kelompok kontrol sehat (K1). Untuk IFN- γ , tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok. Uji statistik menunjukkan perbedaan bermakna pada kadar IL-15 ($p=0,048$), namun tidak pada kadar IFN- γ ($p=0,262$).

Kesimpulan: Serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal efektif menurunkan kadar IL-15, namun tidak mempengaruhi kadar IFN- γ secara signifikan. Penelitian ini memberikan bukti awal bahwa kombinasi ini dapat menjadi alternatif untuk mengelola alopecia-like dengan mengatur respons inflamasi dan imun.

Kata kunci: Alopecia, IL-15, IFN- γ , Minyak Argan, Minyak Rosemary.

ABSTRACT

Background: Alopecia is a condition of hair loss caused by factors such as autoimmune diseases, stress, and medication side effects. One common form, Alopecia Areata (AA), involves an increase in pro-inflammatory cytokines like Interferon-gamma (IFN- γ) and Interleukin-15 (IL-15). Argan oil and rosemary oil are known to have anti-inflammatory properties that may influence these cytokine levels. This study aims to evaluate the effect of a topical combination serum of argan oil and rosemary oil on IL-15 and IFN- γ levels in a Wistar rat alopecia-like model induced by fluconazole.

Methods: This experimental study used a post-test only control group design with 36 male Wistar rats, divided into six treatment groups. Each group received topical serum treatment for 7 days after 14 days of fluconazole induction. IL-15 and IFN- γ levels were measured using the ELISA method and analyzed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests.

Results: The highest IL-15 levels were found in the argan oil group (K3), and the lowest in the healthy control group (K1). For IFN- γ , no significant differences were observed across groups. Statistical analysis revealed significant differences in IL-15 levels ($p=0.048$), but no significant differences in IFN- γ levels ($p=0.262$).

Conclusion: The topical combination serum of argan oil and rosemary oil effectively reduced IL-15 levels, but did not significantly affect IFN- γ levels. This study provides preliminary evidence that this combination may serve as an alternative for managing alopecia-like conditions by modulating inflammatory and immune responses.

Keywords: Alopecia, IL-15, IFN- γ , Argan Oil, Rosemary Oil..

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN ENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
ABSTRAK.....	viii
<i>ABSTRACT</i>	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Rumusan Masalah.....	4
1.3. Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1. Tujuan Umum.....	4
1.3.2. Tujuan Khusus.....	5
1.4. Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	5
1.4.2. Manfaat Praktis.....	6
1.5. Originalitas Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Interleukin-15.....	10
2.1.1. Faktor yang Mempengaruhi Interleukin-15.....	11
2.1.2. Patogenesis Interleukin-15 Pada Alopecia.....	12
2.2. Interferon-Gamma (IFN- γ).....	12
2.2.1. Mekanisme Kerja interferon-Gamma (IFN- γ).....	13

2.2.2.	Patogenesis interferon-Gamma (IFN- γ) dalam Menyebabkan Alopecia	15
2.2.3.	Mekanisme Interleukin-15 dan interferon-Gamma (IFN- γ) dalam Menyebabkan Alopecia.....	17
2.3.	Argania Spinosa	19
2.3.1.	Minyak Argan	20
2.3.2.	Minyak Argan sebagai Anti-inflamasi dan Antioksidan	21
2.4.	Rosmarinus Officinalis.....	24
2.4.1.	Minyak Rosemary.....	25
2.4.2.	Minyak Rosemary sebagai Anti-inflamasi dan Antioksidan	25
2.5.	Rambut	26
2.5.1.	Definisi Rambut.....	26
2.5.2.	Faktor yang Mempengaruhi Petumbuhan Rambut	27
2.5.3.	Siklus Pertumbuhan Rambut	29
2.5.4.	Penyakit yang Menghambat Pertumbuhan Rambut	30
2.6.	Alopecia	30
2.6.1.	Patogenesis Alopecia	31
2.6.2.	Faktor – factor Penyebab Alopecia.....	31
2.6.3.	Alopecia Areata (AA).....	33
2.6.4.	Alopecia Androgenetik.....	35
2.6.5.	Traction Alopecia.....	36
2.6.6.	Peran Inflamasi dan Faktor Lingkungan dalam Alopecia.....	37
2.7.	Fluconazole	38
2.7.1.	Mekanisme Kerja Fluconazole	38
2.7.2.	Farmakokinetik Fluconazole	39
2.7.3.	Efek Samping Fluconazole	40
2.7.4.	Hubungan Fluconazole dalam Menyebabkan Alopecia	40
2.8.	Pengaruh Serum Topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary terhadap Kadar Interferon-Gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15).....	41
2.9.	Penggunaan Hewan Uji Tikus Wistar	43

2.10. Induksi Hewan Uji	43
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS	44
3.1. Kerangka Teori	44
3.2. Kerangka Konsep	48
3.3. Hipotesis	48
BAB IV METODE PENELITIAN	49
4.1. Rancangan Penelitian	49
4.2. Sampel Penelitian	50
4.2.1. Sampel	50
4.2.2. Besar Sampel	50
4.2.3. Kriteria Inklusi:	51
4.2.4. Kriteria Eksklusi:	51
4.2.5. Kriteria Drop Out	51
4.2.6. Cara Pengambilan Sampel Penelitian	52
4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	52
4.3.1. Variabel Penelitian	52
4.3.2. Definisi Operasional	53
4.4. Alat dan Bahan Penelitian	54
4.4.1. Alat	54
4.4.2. Bahan	55
4.5. Prosedur Penelitian	55
4.5.1. <i>Ethical Clearance</i>	55
4.5.2. Cara Pembuatan Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal	55
4.5.3. Pemberian Perlakuan pada Hewan Uji dan Validasi	56
4.5.4. Validasi Tikus <i>Alopecia-Like</i>	57
4.5.5. Terminasi dan Pengambilan Jaringan	63
4.5.6. Cara Pembuatan Sampel Jaringan Kulit untuk Analisis ELISA	64
4.5.7. Pembacaan Kadar IFN- γ dan IL-15 dengan <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA)</i>	64

4.5.8. Pembagian Kelompok.....	66
4.6. Alur Penelitian	68
4.7. Waktu dan Tempat Penelitian.....	69
4.7.1. Tempat Pelaksanaan.....	69
4.7.2. Waktu Penelitian	69
4.8. Analisis Data	69
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	71
5.1. Hasil Penelitian	71
5.1.1. Validasi Model <i>Alopecia-Like</i> pada Tikus	72
5.1.2. Pemeriksaan Kadar IL-15	75
5.1.3. Pemeriksaan Kadar IFN- γ	77
5.2. Pembahasan.....	79
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	86
6.1. Kesimpulan	86
6.2. Saran.....	87
DAFTAR PUSTAKA	88
LAMPIRAN.....	95



DAFTAR TABEL

Tabel 1.1. Originalitas Penelitian.....	7
Tabel 5.1. Hasil Pembacaan Pemeriksaan Histologi Folikel Rambut.....	74
Tabel 5.2. Hasil Pemeriksaan Rerata Kadar IL-15	76
Tabel 5.3. Perbandingan Rerata Kadar IL-15 antar Kelompok Perlakuan	77
Tabel 5.4. Hasil Pemeriksaan Rerata Kadar IFN- γ	78



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Produksi dan Regulasi IFN- γ	14
Gambar 2.2.	Mekanisme pensinyalan sel T pada alopecia areata.	17
Gambar 2.3.	Ringkasan Jalur Sinyal JAK/STAT.....	18
Gambar 2.4.	Tumbuhan Argania Spinosa	19
Gambar 2.5.	Kandungan Senyawa Kimia Argina spinosa	23
Gambar 2.6.	Rosmarinus Officinalis.....	24
Gambar 2.7.	Stuktur Lapisan Rambut.....	27
Gambar 2.8.	Siklus Pertumbuhan Rambut.....	29
Gambar 2.9.	Dua faktor utama perkembangan Alopecia Areata (AA).....	34
Gambar 2.10.	Aksi androgen pada folikel rambut	36
Gambar 2.11.	Struktur Molekul Fluconazole.....	38
Gambar 3.1	Kerangka Teori.....	47
Gambar 3.2.	Kerangka Konsep	48
Gambar 4.1.	Skema Rancangan Penelitian	49
Gambar 4.2	Alur Penelitian.....	68
Gambar 5.1.	Validasi Makroskopis dan Mikroskopis.....	73
Gambar 5.2.	Kadar IL-15 pada Jaringan Tikus	77
Gambar 5.3.	Kadar IFN- γ pada Jaringan Tikus.....	79

DAFTAR SINGKATAN

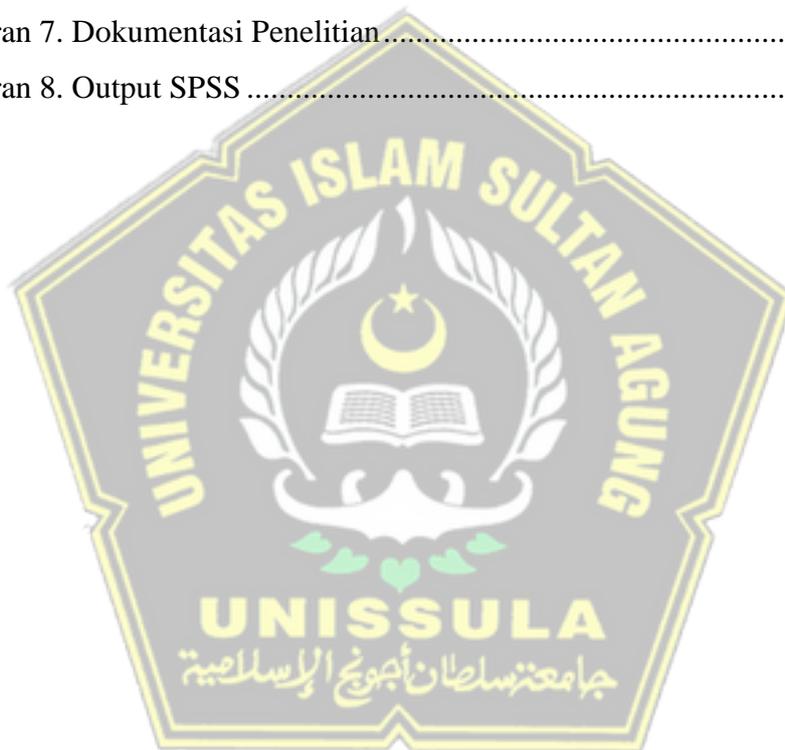
Singkatan	Kepanjangan
AA	Alopecia Areata
AGA	Alopecia Androgenetik
ALT-803	IL-15 Superagonist Complex
ANOVA	Analysis of Variance
APC	Antigen Presenting Cell
BSC	Biosafety Cabinet
CD	Cluster of Differentiation
CD8	Cluster of Differentiation 8 (T-cell subset)
CIV	Continuous Intravenous Infusion
COX	Cyclooxygenase
COX-2	Cyclooxygenase-2
DHT	Dihydrotestosterone
DNA	Deoxyribonucleic Acid
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
Fe²	Ferrous Ion
HE	Hematoxylin-Eosin
HRP	Horseradish Peroxidase
ICU	Intensive Care Unit
IFN	Interferon
IFN-γ	Interferon-gamma
IKK	I κ B Kinase
IL	Interleukin
IL-1	Interleukin-1
IL-2	Interleukin-2

IL-2R	Interleukin-2 Receptor
IL-6	Interleukin-6
IL-7	Interleukin-7
IL-12	Interleukin-12
IL-15	Interleukin-15
IL-23	Interleukin-23
JAK	Janus Kinase
JAK1	Janus Kinase 1
JAK2	Janus Kinase 2
JAK3	Janus Kinase 3
JAK-STAT / JAK/STAT	Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription
LOX	Lipoxygenase
MHC	Major Histocompatibility Complex
MHC-I	Major Histocompatibility Complex Class I
MICA	MHC Class I Polypeptide-Related Sequence A
NF	Nuclear Factor
NF-κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NK	Natural Killer (Cell)
NKTR-255	IL-15 Receptor Agonist
NO	Nitric Oxide
NOS	Nitric Oxide Synthase
NSV	Nonsegmental Vitiligo
P450	Cytochrome P450
PBS	Phosphate Buffered Saline
PDK	Phosphoinositide-Dependent Kinase

PGE₂	Prostaglandin E2
PKC	Protein Kinase C
PLC	Phospholipase C
PP2A	Protein Phosphatase 2A
ROS	Reactive Oxygen Species
SALT	Severity of Alopecia Tool
SOD	Superoxide Dismutase
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
TH1 / Th1	T-helper 1 cell
Th17	T-helper 17 cell
TYK2	Tyrosine Kinase 2
TCR-IL-15	T-cell Receptor – Interleukin-15
UGM	Universitas Gadjah Mada
UNESCO	United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization
URJ	Unit Rawat Jalan
WHO	World Health Organization

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. <i>Ethical Clearance</i>	95
Lampiran 2. Izin Penelitian	96
Lampiran 3. Klasifikasi Tikus	97
Lampiran 4. Surat Keterangan Hewan	98
Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Laboratorium pada Jaringan Tikus	99
Lampiran 6. Perubahan Induksi Alopecia	102
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian	107
Lampiran 8. Output SPSS	108



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Alopecia merupakan kondisi kerontokan rambut yang dapat bersifat sementara maupun permanen, dan disebabkan oleh berbagai faktor seperti autoimun, stres, gangguan hormonal, atau efek samping obat.¹ Salah satu bentuk paling umum yang terjadi adalah Alopecia Areata (AA).² Pada kasus alopecia areata, aktivasi sistem imun memainkan peran penting, di mana sel T CD8+ yang mengalami disregulasi memicu peningkatan ekspresi sitokin proinflamasi, seperti Interferon-gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15). IFN- γ adalah sitokin yang diproduksi terutama oleh sel T dan sel NK (natural killer) sebagai respons terhadap infeksi.³ IL-15 berperan dalam proliferasi dan aktivasi sel T CD8+ sitotoksik dan subset sel NK yang dapat menyerang folikel rambut pada pasien alopecia. sementara IL-15 berperan melalui mekanisme trans-presentasi oleh sel epitel atau sel dendritik di kulit, dapat memicu aktivasi sel T CD8+ dengan fenotipe destruktif (CT8+ NKG2D+). Minyak argan mengandung vitamin E dan asam lemak esensial yang berperan dalam menutrisi kulit kepala serta melindungi folikel rambut dari kerusakan akibat stres oksidatif.⁴ Sementara minyak rosemary (*Rosmarinus officinalis*) mengandung carnosic acid, 12-methoxycarnosic acid, ursolic acid, oleanolic acid, dan camphor, yang memiliki sifat antiinflamasi serta mampu meningkatkan sirkulasi darah.⁵ Kombinasi serum

topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary berpotensi memberikan efek sinergis, yang tidak hanya meningkatkan efektivitas pengobatan melalui peningkatan sirkulasi darah dan penurunan kadar IFN- γ serta IL-15, tetapi juga membantu memperbaiki lingkungan mikro folikel rambut, sehingga siklus pertumbuhan rambut dapat kembali optimal.

Berdasarkan penelitian sebelumnya Alopecia areata (AA) adalah 25% dari semua kasus alopecia dan Sebagian besar pasien berasal dari kelompok usia 30 sampai 59 tahun. AA dapat terjadi pada seluruh area tubuh, namun 90% kasus yang dilaporkan adalah terutama pada kulit kepala. Menurut penelitian (2012-2016) yang dilakukan Unit Rawat Jalan (URJ) Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Soetomo Surabaya periode Januari 2012-Oktober 2016 menyebutkan bahwa Kelompok usia terbanyak pasien baru AA adalah dari kelompok umur 25-44 tahun, yaitu 12 (33,3%) pasien dan paling sedikit pada kelompok usia 1-4 tahun dan ≥ 65 tahun (0%). Jumlah pasien pria lebih banyak daripada jumlah pasien wanita. Dari total kunjungan selama 5 tahun.⁶ Dengan jumlah kasus yang relatif kecil tetapi berpotensi berdampak besar pada individu yang mengalaminya, karena jika tidak ditangani, alopecia areata dapat berkembang menjadi bentuk yang lebih parah seperti alopecia totalis (kehilangan seluruh rambut di kepala) atau bahkan alopecia universalis (kehilangan seluruh rambut di tubuh).²

Berdasarkan penelitian sebelumnya fomulasi minyak argan 3% memiliki potensi dalam merangsang pertumbuhan rambut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi topikal nanoemulsi Minyak Argan secara

signifikan mempercepat fase anagen.⁷ berdasarkan penelitian sebelumnya kombinasi ekstrak rosemary 2% dan myrtle 2% dapat merangsang pertumbuhan rambut yang signifikan pada kelinci yang diuji, dengan tingkat pertumbuhan rambut yang sebanding dengan minoxidil 2%.⁸ Dalam sebuah penelitian Pemblokiran reseptor IL-15 dapat menurunkan jumlah sel CD8+NKG2D+ di kulit dan mencegah perkembangan AA pada model hewan, yang menunjukkan bahwa IL-15 memiliki potensi dalam patogenesis dan aktivitas Alopecia.⁹ Dalam sebuah penelitian ditemukan bahwa terdapat peningkatan signifikan kadar interferon-gamma (IFN- γ) dalam serum serta ekspresi sel T CD8+ pada jaringan biopsi kulit pasien alopecia areata (AA) dibandingkan dengan subjek kontrol sehat. Hal ini menegaskan bahwa IFN- γ merupakan indikator penting dari aktivitas alopecia areata.¹⁰

Pemberian serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary pada tikus model alopecia-like secara topikal berpotensi mempengaruhi kadar Interferon-gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15), dua sitokin yang berperan penting dalam patogenesis alopecia. Minyak argan mengandung senyawa bioaktif seperti tokoferol, polifenol, dan asam lemak esensial, yang dapat membantu mengurangi stres oksidatif dan inflamasi, serta memperbaiki integritas skin barrier dan mendukung proliferasi sel dermal papilla. Sementara itu, minyak rosemary dikenal memiliki efek antiinflamasi melalui kandungan carnosic acid dan rosmarinic acid. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi apakah serum

kombinasi ini dapat menurunkan kadar IFN- γ dan IL-15 dalam model tikus alopecia-like.

Kombinasi kedua minyak ini secara teoritis dapat memberikan manfaat ganda, baik dalam menekan respon inflamasi maupun mendukung regenerasi folikel rambut. Namun, hingga saat ini belum terdapat cukup bukti ilmiah yang menjelaskan secara langsung bahwa pemberian topikal kombinasi minyak argan dan rosemary dapat menurunkan ekspresi IFN- γ dan IL-15 secara signifikan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengevaluasi efek kombinasi keduanya terhadap kadar sitokin tersebut melalui studi eksperimental *in vivo* pada tikus jantan galur Wistar model alopecia-like yang diinduksi fluconazole.

1.2. Rumusan Masalah

Apakah Serum kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary topikal berpengaruh terhadap Kadar *Interleukin-15* (IL-15) dan *Interferon-Gamma* (IFN- γ) dengan studi Eksperimental *In Vivo* menggunakan Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia-Like yang diinduksi fluconazole.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1. Tujuan Umum

Mengetahui Pengaruh Pemberian Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal terhadap Kadar *Interleukin-15* (IL-15) dan *Interferon-Gamma* (IFN- γ) dengan Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia-Like yang diinduksi fluconazole.

1.3.2. Tujuan Khusus

1. Menganalisis Pengaruh Pemberian Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal dengan Dosis Minyak Argan 1,5% dan Minyak Rosemary 1% serta Dosis Minyak Argan 3% dan Minyak Rosemary 2% terhadap Kadar Interleukin-15 (IL-15) dan Interferon-Gamma (IFN- γ) pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia-Like yang diinduksi fluconazole.
2. Menganalisis Perbedaan Pengaruh Pemberian Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal dengan Dosis Minyak Argan 1,5% dan Minyak Rosemary 1% serta Dosis Minyak Argan 3% dan Minyak Rosemary 2% terhadap Kadar Interleukin-15 (IL-15) dan Interferon-Gamma (IFN- γ) pada Tikus Jantan Galur Wistar Model Alopecia-Like yang diinduksi fluconazole.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

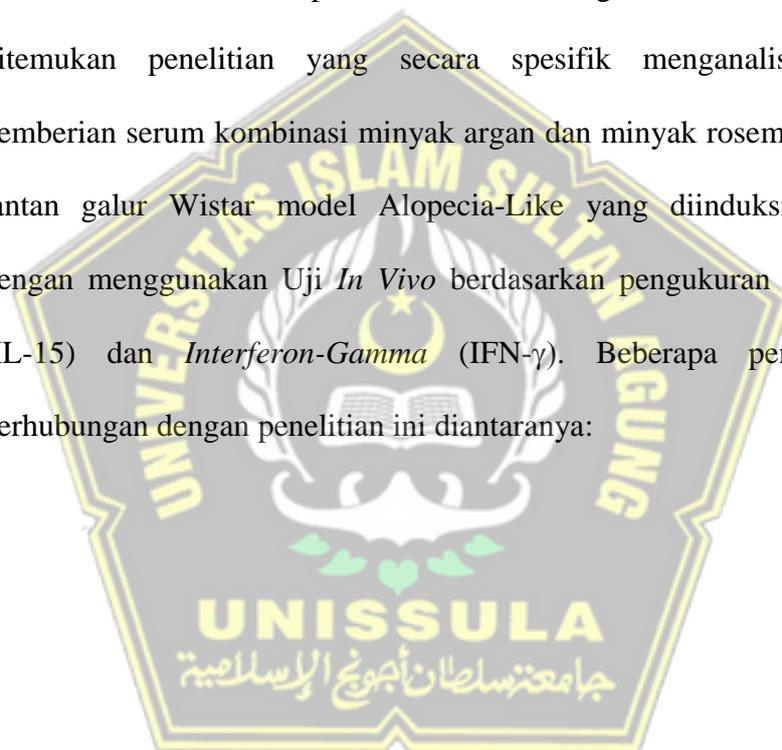
Manfaat teoritis pada penelitian ini adalah adanya informasi mengenai efektivitas pemberian serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal pada tikus jantan galur Wistar model Alopecia-Like yang diinduksi Fluconazole berdasarkan pengukuran *Interleukin-15* (IL-15) dan *Interferon-Gamma* (IFN- γ).

1.4.2. Manfaat Praktis

Mengembangkan pemanfaatan serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal pada tikus jantan galur Wistar model Alopecia-Like yang diinduksi Fluconazole.

1.5. Originalitas Penelitian

Berdasarkan hasil penelusuran di berbagai sumber saat ini, belum ditemukan penelitian yang secara spesifik menganalisa efektivitas pemberian serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary pada tikus jantan galur Wistar model Alopecia-Like yang diinduksi Fluconazole dengan menggunakan Uji *In Vivo* berdasarkan pengukuran *Interleukin-15* (IL-15) dan *Interferon-Gamma* (IFN- γ). Beberapa penelitian yang berhubungan dengan penelitian ini diantaranya:



Tabel 1.1. Originalitas Penelitian

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
1	Panahi, <i>et al.</i> ¹¹	Rosemary oil vs Minoxidil 2% for the treatment of androgenetic alopecia	Experimental : Randomized Comparative Trial (RCT)	minyak rosemary efektif mengobati androgenetic alopecia, sebanding dengan minoxidil 2%, meningkatkan sirkulasi darah, regenerasi folikel rambut, dan memiliki efek anti-inflamasi serta antioksidan yang signifikan.
2	Rahardj a Ebrahim AA, <i>et al.</i> ⁹	Serum interleukin-15 is a marker of alopecia areata severity	Eksperimental in vivo: case control	Pemblokiran reseptor IL-15 dapat menurunkan jumlah sel CD8+NKG2D+ di kulit dan mencegah perkembangan AA pada model hewan, hal ini menunjukkan bahwa IL-15 berperan langsung dalam inisiasi dan progresi penyakit. Ditemukan juga kadar serum IL-15 meningkat signifikan pada pasien AA dan berkorelasi positif dengan tingkat keparahan kerontokan rambut, yang menunjukkan bahwa IL-15 berperan dalam patogenesis dan aktivitas Alopecia
3	Thomps on, <i>et al.</i> ¹²	Fluconazole-induced alopecia in animal model and human cohort	Eksperimental in vivo: Post Test Only Control Group	Fluconazole meningkatkan jumlah rambut dalam fase telogen (telogen effluvium), yang dapat diobservasi pada model tikus dan pasien manusia.
4	Rahmas ari, <i>et al.</i> ⁷	Hair Growth Promotion of Argan Oil Nanoemulsion Hair Tonic Preparation With Mice	Eksperimental in vivo: randomized controlled trial	Penggunaan nanoemulsi tonik rambut dengan minyak argan (1%, 2%, dan 3%) meningkatkan pertumbuhan rambut pada tikus percobaan, dengan

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
				dosis 3% argan oil memberikan hasil terbaik pada panjang dan berat rambut.
5	Ragab MAEA, <i>et al.</i> ¹³	Serum level of interleukin-15 in active alopecia areata patients and its relation to age, sex, and disease severity.	Eksperimental: In Vitro	Kadar serum IL-15 secara signifikan lebih tinggi pada pasien alopecia areata dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat. Selain itu, terdapat korelasi positif antara kadar IL-15 dan tingkat keparahan penyakit berdasarkan skor SALT, namun tidak ditemukan hubungan yang signifikan dengan usia atau jenis kelamin pasien.
6	Passeron T, <i>et al.</i> ¹⁴	Inhibition of T-cell activity in alopecia areata: recent developments and new directions.	Literatur	aktivasi sel T CD8+NKG2D+ melalui jalur IL-15 dan IFN- γ berperan penting dalam patogenesis alopecia areata. Dalam terapi yang menargetkan jalur JAK/STAT menunjukkan potensi besar dalam menghambat respon autoimun dan menjadi arah baru pengobatan AA.
7	Z Agamia N, <i>et al.</i> ¹⁰	Interferon-gamma (IFN- γ) Serum Level and Immunohistochemical Expression of CD8 Cells in Tissue Biopsies in Patients with Alopecia Areata in Correlation with the Trichoscopic Findings.	Eksperimental: in vivo: case control	terdapat peningkatan signifikan kadar interferon-gamma (IFN- γ) dalam serum serta ekspresi sel T CD8+ pada jaringan biopsi kulit pasien alopecia areata (AA) dibandingkan dengan subjek kontrol sehat. Hal ini menegaskan bahwa IFN- γ merupakan indikator penting dari aktivitas alopecia areata.

No	Peneliti	Judul	Metode	Hasil Penelitian
8	Alburyh i M M, <i>et al.</i> ⁸	Effect of Rosemary and Myrtle Extracts Combination on Androgenetic Alopecia: A Comparative Study with Minoxidil	Eksperimenta l in vivo: randomized controlled trial	kombinasi ekstrak rosemary dan myrtle dapat merangsang pertumbuhan rambut yang signifikan pada kelinci yang diuji, dengan tingkat pertumbuhan rambut yang sebanding dengan minoxidil 2%
9	Khalil, D. Y., <i>et</i> <i>al.</i> ¹⁵	Anti-inflammatory and antioxidant activity of rosemary essential oil.	Eksperimenta l in Vitro	minyak rosemary memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang signifikan. Kandungan utama seperti eucalyptol, α -pinene, dan camphor berkontribusi terhadap efektivitasnya. Aktivitas antioksidannya mencapai 87,45%, dan mampu menghambat denaturasi protein hingga 81,20% pada konsentrasi tertinggi.
10	Tomasz ewska K, <i>et</i> <i>al.</i> ¹⁶	Increased Serum Levels of IFN- γ , IL- 1 β , and IL-6 in Patients with Alopecia Areata and Nonsegmental Vitiligo.	Eksperimenta l in vivo: observasional	kadar serum interferon- gamma (IFN- γ), interleukin-1 β (IL-1 β), dan interleukin-6 (IL-6) secara signifikan meningkat pada pasien dengan alopecia areata (AA) dan vitiligo nonsegmental (NSV) dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat. Hal ini semakin mempertegas bahwa IFN- γ merupakan indikator penting dari aktivitas alopecia areata.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Interleukin-15

Interleukin-15 (IL-15) adalah sitokin yang memiliki peran penting dalam mendukung proliferasi, pemeliharaan, dan kelangsungan hidup sel imun, khususnya sel natural killer (NK) dan sel T memori CD8+. IL-15 bekerja melalui mekanisme trans-presentasi, di mana ia diproduksi oleh sel penyaji dalam kompleks dengan reseptor IL-15R α , kemudian disampaikan kepada sel target imun yang memiliki reseptor IL-2/15R β , γ . Mekanisme ini memastikan aktivasi spesifik dan efisien dari sel target untuk mendukung fungsi imun. Meskipun potensialnya besar, IL-15 memiliki tantangan dalam penggunaannya secara terapeutik karena waktu paruh yang sangat pendek, yaitu sekitar 2,5 jam pada manusia. Untuk mencapai efek terapeutik yang optimal, IL-15 membutuhkan infus intravena kontinu (CIV) yang terbukti efektif dalam meningkatkan jumlah sel T CD8+, sel NK, dan subset CD56bright NK. Namun, metode ini tidak praktis bagi pasien karena membutuhkan administrasi yang terus-menerus dan risiko toksisitas tinggi pada konsentrasi puncak (C_{max}). Oleh karena itu, pengembangan agonis IL-15 atau "superagonis" seperti ALT-803, NKTR-255, dan hetIL-15 dilakukan untuk memperpanjang waktu paruh dan meningkatkan kenyamanan administrasi. Meskipun demikian, tantangan lain muncul, yaitu fenomena "cytokine sink," di mana sel imun yang diaktifkan oleh IL-15

meningkatkan konsumsi dan eliminasi sitokin, sehingga mengurangi efektivitas jangka panjangnya. Secara klinis, IL-15 menunjukkan potensi besar dalam imunoterapi, terutama dalam kombinasi dengan agen imunologi lain untuk terapi kanker. Namun, sebagai agen tunggal, aktivitas antikanker IL-15 terbatas. Penelitian terus berkembang untuk menciptakan metode administrasi yang lebih efektif, seperti depot pelepasan lambat, untuk mengatasi keterbatasan farmakokinetik IL-15.¹⁷

2.1.1. Faktor yang Mempengaruhi Interleukin-15

Dalam sebuah penelitian di temukan bahwa kadar serum interleukin-15 (IL-15) secara signifikan meningkat pada pasien dengan alopecia areata aktif dibandingkan dengan individu sehat. Analisis statistik mengungkapkan adanya korelasi positif yang bermakna antara kadar IL-15 dan tingkat keparahan penyakit, sebagaimana diukur dengan skor SALT, sehingga IL-15 berpotensi menjadi penanda biokimia untuk menilai aktivitas penyakit. Namun, variabel usia dan jenis kelamin tidak menunjukkan hubungan yang signifikan terhadap kadar IL-15, menandakan bahwa ekspresi sitokin ini lebih dipengaruhi oleh status imunopatologis daripada faktor demografis. Temuan ini mendukung peran IL-15 sebagai mediator kunci dalam patogenesis alopecia areata serta sebagai target potensial untuk terapi yang diarahkan pada jalur imun proinflamasi.¹⁶

2.1.2. Patogenesis Interleukin-15 Pada Alopecia

Interleukin-15 (IL-15) merupakan sebuah sitokin yang terlibat dalam banyak penyakit inflamasi dan autoimun.¹⁰ Interleukin-15 (IL-15) berperan penting dalam patogenesis alopecia areata (AA) melalui mekanisme imunologis yang melibatkan aktivasi dan proliferasi sel T CD8+ dan sel natural killer (NK). IL-15 mendorong kelangsungan hidup dan aktivitas sel-sel ini, serta meningkatkan produksi interferon-gamma (IFN- γ), yang diketahui berperan dalam kerusakan privilege imun folikel rambut—suatu kondisi yang memicu serangan autoimun terhadap folikel oleh sistem imun.¹⁸ Dalam sebuah penelitian menunjukkan bahwa pemblokiran reseptor IL-15 dapat menurunkan jumlah sel CD8+NKG2D+ di kulit dan mencegah perkembangan AA pada model hewan, hal ini menunjukkan bahwa IL-15 berperan langsung dalam inisiasi dan progresi penyakit. Ditemukan juga kadar serum IL-15 meningkat signifikan pada pasien AA dan berkorelasi positif dengan tingkat keparahan kerontokan rambut, yang menunjukkan bahwa IL-15 berperan dalam pathogenesis dan aktivitas Alopecia.⁹

2.2. Interferon-Gamma (IFN- γ)

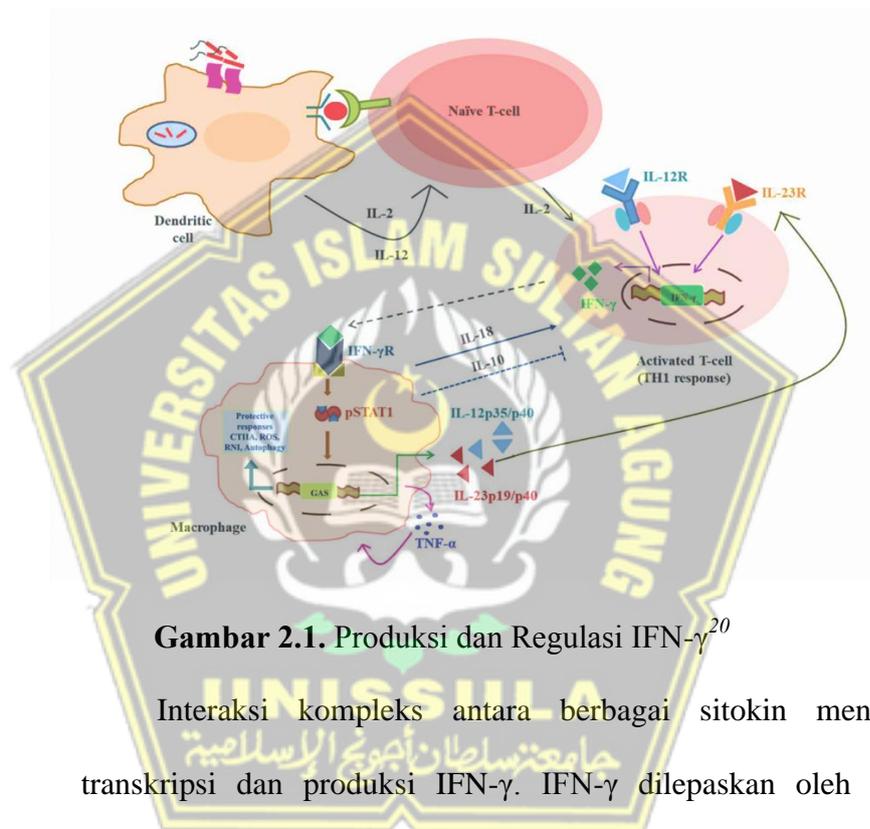
IFN- γ adalah sitokin yang diproduksi terutama oleh sel T dan sel NK (natural killer) yang berperan penting dalam respons imun. IFN- γ memiliki fungsi utama dalam mengatur aktivitas sel-sel imun dan meningkatkan kemampuan sel untuk melawan infeksi.¹⁹ Sebagai salah satu anggota

keluarga interferon, IFN- γ memiliki kemampuan untuk mengatur dan meningkatkan berbagai fungsi imun, termasuk pemrosesan dan presentasi antigen, yang penting untuk aktivasi sel T. IFN- γ juga meningkatkan kemampuan sel-sel imun untuk melawan infeksi dengan merangsang aktivitas makrofag, meningkatkan produksi molekul antimikroba, dan memfasilitasi pergerakan leukosit ke lokasi infeksi. Selain itu, IFN- γ berperan dalam menciptakan keadaan anti-virus dengan menginduksi ekspresi protein yang menghambat replikasi virus. Namun, meskipun IFN- γ memiliki banyak manfaat dalam melawan patogen, aktivitas berlebihan dari sitokin ini dapat menyebabkan kerusakan jaringan, peradangan yang berlebihan, dan berkontribusi pada patologi berbagai penyakit, termasuk infeksi Burkholderia dan kondisi autoimun. Oleh karena itu, regulasi yang ketat terhadap produksi dan aktivitas IFN- γ sangat penting untuk menjaga keseimbangan antara perlindungan imun dan kerusakan jaringan.²⁰

2.2.1. Mekanisme Kerja interferon-Gamma (IFN- γ)

IFN- γ mengaktifkan makrofag, meningkatkan kemampuan mereka dalam memproses dan menyajikan antigen, serta meningkatkan produksi reaktif oksigen (ROS) dan nitrogen (NOS) yang esensial untuk membunuh patogen intraseluler. Selain itu, IFN- γ berperan dalam menginduksi autophagy, yang membantu membersihkan patogen dari dalam sel. Mekanisme ini juga mencakup modulasi respons sel B dengan mempengaruhi produksi antibodi dan peningkatan aktivitas sitotoksik sel NK, yang

berkontribusi pada eliminasi sel-sel tumor dan infeksi. Artikel ini menyoroti interaksi IFN- γ dengan sitokin lain dan jalur sinyal, menunjukkan kompleksitas dalam pengaturan respons imun yang melibatkan IFN- γ , yang tidak hanya berfungsi sebagai agen anti-virus tetapi juga berperan dalam berbagai fungsi fisiologis lainnya.¹¹



Gambar 2.1. Produksi dan Regulasi IFN- γ ²⁰

Interaksi kompleks antara berbagai sitokin menentukan transkripsi dan produksi IFN- γ . IFN- γ dilepaskan oleh sel NK (Natural Killer) atau sel T untuk memicu respons antimikroba. Saat patogen dikenali dan diambil oleh APC (Antigen Presenting Cell), seperti sel dendritik (DC), peptida antigenik dipresentasikan kepada populasi sel T naif untuk memulai respons imun adaptif. Lingkungan sitokin yang terdiri dari IL-12 dan IL-2 memicu proliferasi sel T untuk mendukung perkembangan fenotipe proinflamasi. Paparan IL-12 mengarahkan sel T naif menuju polarisasi fenotipe TH1, di mana

IFN- γ menjadi sitokin dominan dalam respons TH1. Setelah transkripsi dan produksi IFN- γ dalam sel T yang berkomitmen dan berkembang secara klonal dalam garis keturunan TH1, sitokin ini mengaktifkan makrofag untuk meningkatkan fungsi protektif melawan infeksi. Makrofag yang teraktivasi kemudian menghasilkan IL-12 dan IL-23, yang memperkuat kondisi proinflamasi dan memfasilitasi produksi lebih lanjut dari IFN- γ . Produksi IFN- γ ini bersifat self-sustained (berkelanjutan) dan terjadi melalui umpan balik positif. Selain itu, makrofag juga dapat menghasilkan IFN- γ yang mengarah pada aktivasi autokrin, lebih lanjut meningkatkan fungsi antimikroba mereka.²¹

2.2.2. Patogenesis interferon-Gamma (IFN- γ) dalam Menyebabkan Alopecia

IFN- γ memiliki peran penting dalam patogenesis Alopecia, khususnya Alopecia Areata (AA) dengan merusak imunitas folikel rambut, yang seharusnya melindungi folikel dari serangan sistem imun. Pada kondisi normal, folikel rambut memiliki status imunitas yang dilindungi (immune privilege), yang mencegah reaksi autoimun. Namun, pada AA, IFN- γ yang diproduksi oleh sel T sitotoksik CD8+, Th1, Th17, dan sel NK, mengaktifkan jalur peradangan, termasuk jalur JAK/STAT, yang berkontribusi pada gangguan siklus pertumbuhan rambut.²²

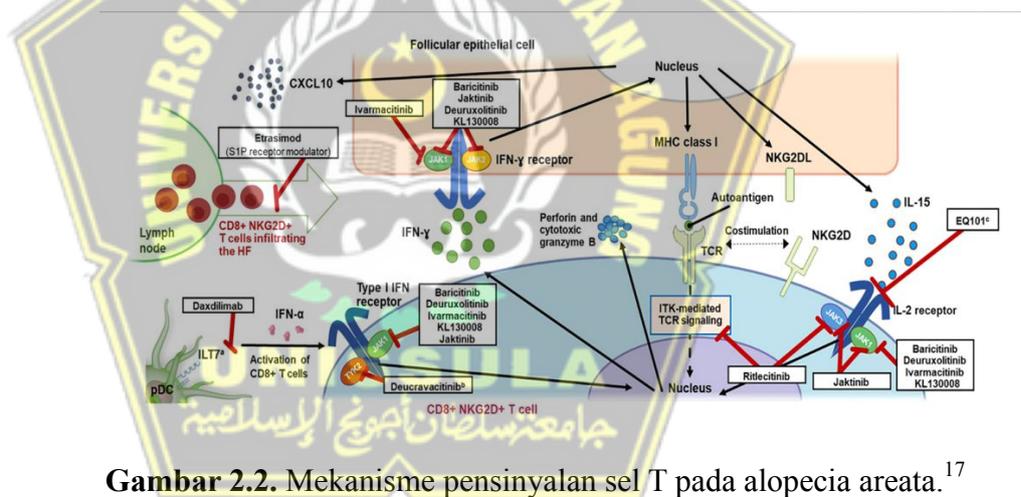
IFN- γ juga memicu keruntuhan imunitas folikel dengan meningkatkan ekspresi molekul MHC kelas I pada sel-sel folikel. Proses ini menarik sel-sel imun tambahan, termasuk limfosit T sitotoksik (CD8+NKG2D+), yang memperburuk peradangan di sekitar folikel rambut, yang akhirnya menghambat pertumbuhan rambut. Bukti eksperimental lebih lanjut mendukung peran penting IFN- γ dalam AA. Misalnya, tikus yang tidak memiliki IFN- γ kebal terhadap perkembangan AA, dan pemberian IFN- γ eksogen dapat menyebabkan atrofi folikel rambut.²³

Dalam sebuah penelitian ditemukan bahwa terdapat peningkatan signifikan kadar interferon-gamma (IFN- γ) dalam serum serta ekspresi sel T CD8+ pada jaringan biopsi kulit pasien alopecia areata (AA) dibandingkan dengan subjek kontrol sehat. Peningkatan kadar IFN- γ berkorelasi positif dengan aktivitas dan durasi penyakit, sedangkan intensitas infiltrasi CD8+ menunjukkan hubungan yang signifikan dengan derajat keparahan berdasarkan skor SALT. Hal ini menegaskan bahwa IFN- γ merupakan indikator penting dari aktivitas alopecia areata.¹⁰

Dalam sebuah penelitian lain yang meneliti keterkaitan antara sitokin proinflamasi dan patogenesis penyakit autoimun kulit, ditemukan bahwa kadar serum interferon-gamma (IFN- γ), interleukin-1 β (IL-1 β), dan interleukin-6 (IL-6) secara signifikan meningkat pada pasien dengan alopecia areata (AA) dan vitiligo

nonsegmental (NSV) dibandingkan dengan kelompok kontrol sehat. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa kadar IL-6 pada pasien AA berkorelasi positif dengan durasi penyakit, sedangkan pada pasien NSV, kadar IL-1 β berkorelasi positif dengan luas dan durasi penyakit serta berkorelasi negatif dengan aktivitas penyakit. Hal ini semakin menegaskan bahwa IFN- γ merupakan indikator penting dari aktivitas alopecia areata.¹⁷

2.2.3. Mekanisme Interleukin-15 dan interferon-Gamma (IFN- γ) dalam Menyebabkan Alopecia



Gambar 2.2. Mekanisme pensinyalan sel T pada alopecia areata.¹⁷

Jalur sinyal imun yang melibatkan interleukin-15 (IL-15) dan interferon-gamma (IFN- γ) berperan penting dalam mempertahankan respon imun terhadap folikel rambut. IFN- γ yang disekresikan oleh sel T CD8+NKG2D+ akan menginduksi ekspresi molekul MHC kelas I dan ligan NKG2D (NKG2DL) pada sel epitel folikel rambut, sehingga memicu pengenalan folikel sebagai target oleh sistem imun. Paparan IFN- γ juga merangsang pelepasan IL-15 oleh sel

folikel, yang kemudian mengaktivasi kembali sel T CD8⁺ melalui reseptor IL-2R dan jalur pensinyalan JAK1/JAK3, sehingga meningkatkan kembali produksi IFN- γ . Hal ini menciptakan inflamasi kronis yang menyebabkan kerusakan pada imun folikel dan destruksi folikel rambut. Gambar 2.2 juga menunjukkan berbagai molekul yang sedang dikembangkan sebagai terapi target, seperti baricitinib dan deuruxolitinib yang menghambat jalur JAK-STAT, serta ritlecitinib yang menghambat pensinyalan TCR–IL-15.

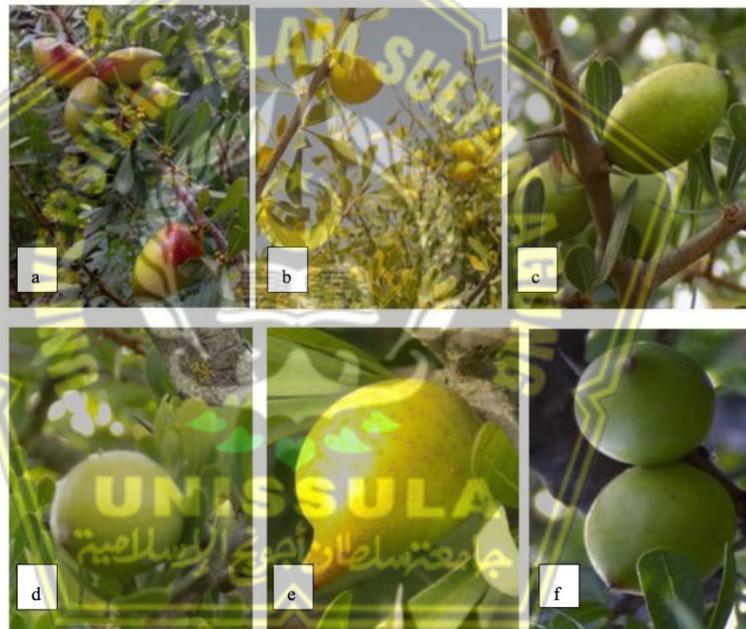


Gambar 2.3. Ringkasan Jalur Sinyal JAK/STAT.¹⁷

Jalur sinyal JAK/STAT merupakan salah satu mekanisme molekuler utama yang mengatur respon imun dan inflamasi, termasuk dalam patogenesis alopecia areata. Gambar 2.3 memperlihatkan konfigurasi spesifik antara berbagai reseptor sitokin dengan anggota keluarga Janus kinase (JAK), seperti JAK1, JAK2, JAK3, dan TYK2. Sitokin-sitokin seperti IL-2, IL-7, IL-15, dan IFN- γ mengaktifkan jalur ini melalui pengikatan ke reseptor permukaan sel yang terasosiasi dengan protein JAK. Setelah aktivasi, JAK akan memfosforilasi bagian intraseluler dari reseptor, memungkinkan

protein STAT (signal transducer and activator of transcription) menempel dan turut terfosforilasi. STAT yang telah teraktivasi kemudian ber-dimerisasi dan berpindah ke inti sel untuk mengatur transkripsi berbagai gen proinflamasi. Aktivasi jalur ini memicu ekspresi molekul efektor seperti IFN- γ , yang selanjutnya memperkuat peradangan dan merusak imun folikel rambut.

2.3. *Argania Spinosa*



Gambar 2.4. Tumbuhan *Argania Spinosa*

Variasi dalam bentuk dan warna daun serta buah: (a) Buah argan hijau dan merah dengan bentuk fusiform serta daun hijau tua, (b) Buah argan kuning dengan bentuk menengah serta daun hijau terang, (c) Buah hijau dengan bentuk oval serta daun hijau sedang, (d) Buah hijau dengan bentuk

bulat, (e) Buah hijau dengan bentuk meruncing (apiculated), (f) Buah hijau dengan bentuk sedang.²⁴

Argania spinosa, yang termasuk dalam famili Sapotaceae, adalah tanaman endemik Maroko yang memiliki nilai ekologi, sosial, dan ekonomi yang tinggi. Tanaman ini banyak ditemukan di kawasan Mediterania, terutama di Maroko bagian barat daya, dan telah diakui sebagai cadangan biosfer UNESCO. Minyak argan, produk utama dari tanaman ini, diekstrak dari bijinya melalui metode tradisional maupun mekanis. Kandungan bioaktifnya, seperti asam lemak tak jenuh, tokoferol, sterol, dan polifenol, memberikan berbagai manfaat farmakologis, termasuk sebagai antioksidan, antidiabetik, anti-inflamasi, dan antimikroba. Selain itu, minyak ini digunakan secara luas dalam perawatan kulit dan rambut, serta sebagai terapi tradisional untuk berbagai penyakit.²⁵

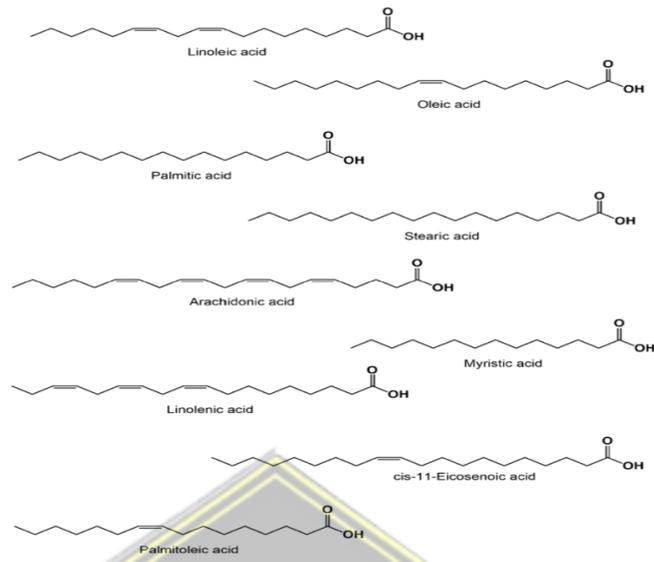
2.3.1. Minyak Argan

Minyak Argan adalah produk utama dari pohon argan dan telah menjadi fokus utama dalam berbagai penelitian mengenai pohon argan, terutama dalam hal komposisi, kualitas, dan aktivitas biologisnya.²⁵ diekstraksi dari biji tanaman *Argania spinosa*, yang merupakan spesies endemik Maroko dan tergolong dalam famili Sapotaceae. Minyak argan memiliki warna kuning kecokelatan, rasa kacang yang khas, dan konsistensi ringan yang mudah diserap. Kandungan kimianya mencakup asam lemak tak jenuh, tokoferol,

sterol, dan polifenol, sehingga berkhasiat sebagai antioksidan, antidiabetik, anti-inflamasi, dan antimikroba.⁴

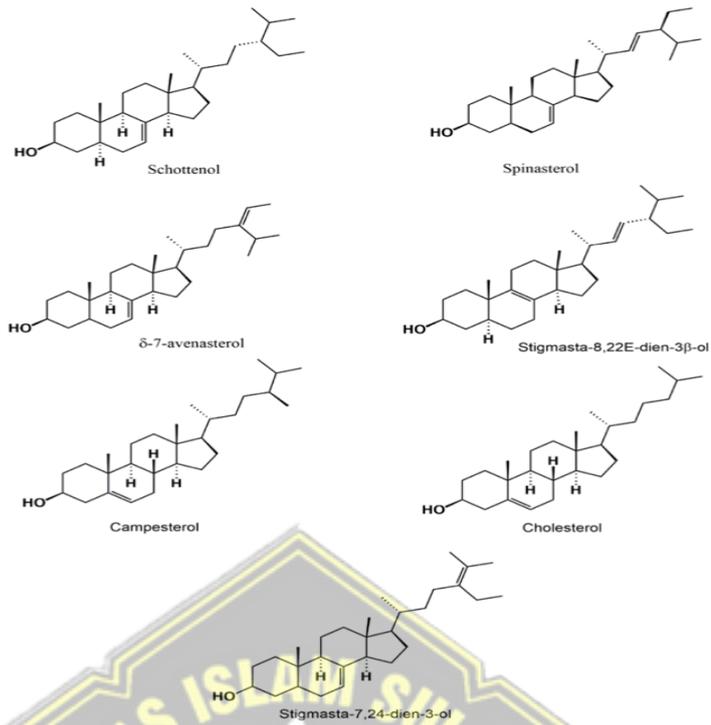
2.3.2. Minyak Argan sebagai Anti-inflamasi dan Antioksidan

Minyak argan sangat kaya akan tokoferol, terutama γ -tokoferol (γ T), yang memiliki kemampuan bertindak sebagai anti-inflamasi dengan memengaruhi transkripsi gen inflamasi melalui modifikasi jalur sinyal atau menghambat aktivitas enzim dalam biosintesis eikosanoid. α -tokoferol (α T) bekerja terutama dengan menghambat sinyal seluler, sedangkan γ -tokoferol (γ T) secara kuat menghambat biosintesis prostaglandin E₂ yang dimediasi oleh COX-2. Jalur sinyal terkait melibatkan enzim dan molekul seperti Akt, p38MAPK, PDK, PI3K, PKC, PLC, dan PP2A. Di sisi lain, tokoferol bertindak sebagai antioksidan yang kuat; bukti in vitro menunjukkan fungsi vitamin E sebagai penangkap radikal peroksil dan penghambat peroksidasi lipid yang telah terdokumentasi dengan baik. Perlindungan oleh vitamin E terhadap kerusakan oksidatif diharapkan dapat mengurangi oksidasi DNA pada manusia.²⁵

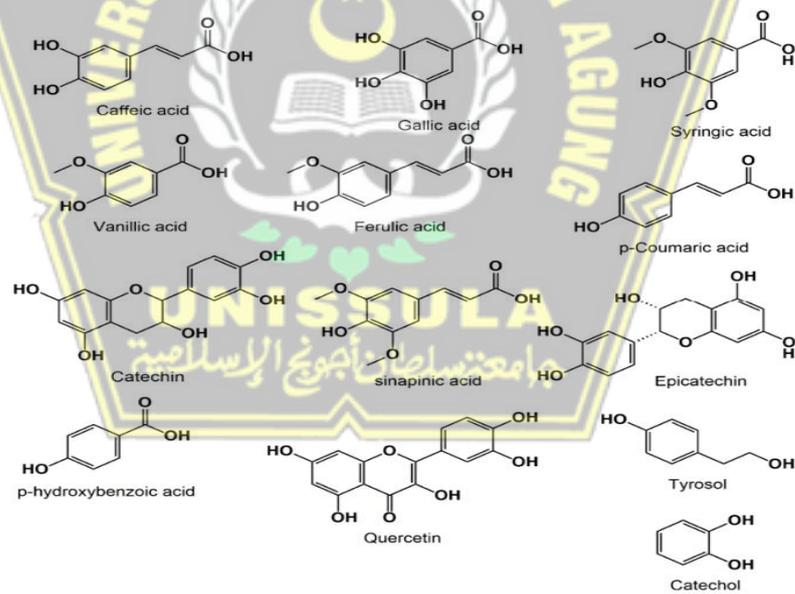


Asam lemak utama yang ditemukan dalam Minyak Argan²⁵





Sterol utama yang ditemukan dalam Minyak Argan²⁵



Polifenol utama yang ditemukan dalam Minyak Argan²⁵

Gambar 2.5. Kandungan Senyawa Kimia Argina spinosa

2.4. Rosmarinus Officinalis



Gambar 2.6. Rosmarinus Officinalis.²⁶

Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), yang kini juga dikenal sebagai *Salvia rosmarinus*, adalah tanaman semak abadi yang berasal dari kawasan Mediterania dan termasuk dalam famili Lamiaceae. Tanaman ini memiliki daun hijau linier yang aromatik dan bunga kecil yang tersusun dalam verticillasters, berwarna dari putih hingga ungu muda. Dalam sejarahnya, rosemary telah digunakan sejak ribuan tahun lalu dalam pengobatan tradisional berbagai budaya, seperti Mesir, Yunani, dan Romawi, untuk tujuan pengobatan dan spiritual. Rosemary dikenal karena nilai nutrisinya serta sifat farmakologisnya yang beragam, seperti sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi. Minyak atsiri rosemary yang diekstraksi dari bagian daun dan bunga mengandung senyawa aktif seperti 1,8-cineole, α -pinene, dan camphor yang berperan penting dalam berbagai aktivitas biologisnya. Selain itu, rosemary juga banyak digunakan dalam industri makanan sebagai bahan pengawet alami, penyedap, serta dalam kosmetik dan produk kebersihan karena aroma dan manfaat terapeutiknya.²⁷

2.4.1. Minyak Rosemary

Minyak rosemary (*Rosmarinus officinalis*) adalah minyak atsiri yang diekstraksi dari daun dan bunga tanaman rosemary, yang dikenal luas karena sifat terapeutiknya. Minyak ini mengandung senyawa aktif seperti asam rosmarinik, asam karnosik, kamper, dan 12-metoksikarnosik, yang memberikan beragam manfaat kesehatan. Secara terapeutik, minyak rosemary memiliki sifat antiinflamasi, antioksidan, antimikroba, dan antiandrogenik. Kemampuan antiinflamasinya bekerja dengan menghambat mediator inflamasi seperti nitric oxide dan faktor transkripsi NF- κ B, sedangkan aktivitas antiandrogeniknya mampu menghambat enzim 5-alpha-reductase yang terkait dengan produksi dihidrotestosteron, sebuah hormon yang berperan dalam alopecia. Minyak rosemary juga telah dibandingkan dengan minoxidil 2% dalam studi klinis dan menunjukkan efektivitas yang serupa dalam merangsang pertumbuhan rambut, dengan efek samping yang lebih minimal.²⁸

2.4.2. Minyak Rosemary sebagai Anti-inflamasi dan Antioksidan

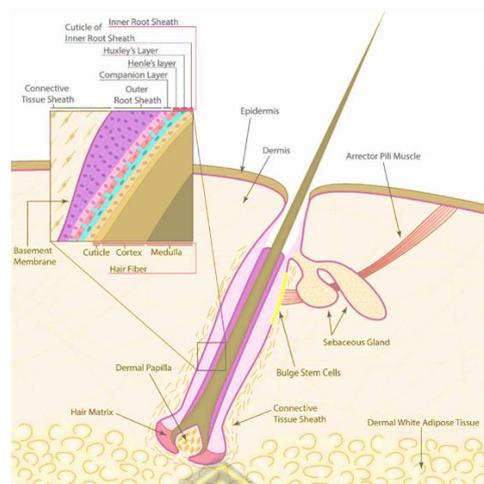
Minyak rosemary (*Rosmarinus officinalis*) memiliki aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang signifikan, didukung oleh berbagai mekanisme kerja senyawa bioaktif utamanya, seperti 1,8-cineole, α -pinene, dan camphor. Sebagai agen antiinflamasi, minyak ini bekerja dengan menghambat faktor transkripsi NF- κ B, yang memengaruhi produksi berbagai mediator inflamasi seperti

interleukin (IL-1, IL-6) dan enzim inflamasi, termasuk COX-2 dan iNOS. Selain itu, minyak rosemary juga memblokir jalur asam arachidonat melalui penghambatan enzim 5-lipoksigenase (5-LOX) dan siklooksigenase (COX), yang berperan dalam pembentukan leukotrien dan prostaglandin, mediator utama dalam proses inflamasi. Aktivitas antiinflamasi ini diperkuat dengan penurunan migrasi leukosit ke area peradangan, yang telah dibuktikan dalam berbagai model hewan. Sebagai antioksidan, minyak rosemary mampu menetralkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang dihasilkan selama inflamasi melalui aktivitas penghambatan lipid peroksidasi dan kemampuan mengikat ion logam seperti Fe²⁺, yang diketahui berkontribusi pada stres oksidatif. Kombinasi sifat antiinflamasi dan antioksidan ini menjadikan minyak rosemary agen potensial dalam pengobatan berbagai penyakit inflamasi.²⁷

2.5. Rambut

2.5.1. Definisi Rambut

Rambut adalah filamen protein yang berasal dari folikel di dalam dermis dan sebagian besar terbuat dari keratin. Rata-rata orang memiliki sekitar 5 juta helai rambut di tubuhnya dan sekitar 100.000 folikel rambut di kulit kepalanya.²⁹



Gambar 2.7. Struktur Lapisan Rambut.³⁰

Batang rambut terdiri dari tiga lapisan yaitu medulla, korteks dan kutikula. Medula berada di tengah, korteks yang merupakan badan utama dari batang rambut, dan kutikula merupakan lapisan luar keras yang terbuat dari sel-sel keratin yang tumpang tindih dan bertindak sebagai penutup pelindung batang rambut. Bagian medula dan korteks terdapat pigmen yang menghasilkan warna rambut.³⁰

2.5.2. Faktor yang Mempengaruhi Petumbuhan Rambut

Rambut yang sehat adalah rambut yang bersih, tidak kering atau kusam, tidak bercabang di ujungnya, dan tidak mudah rusak atau rontok. Rambut halus, bersih, dan berkilau dengan ujung meruncing. Sementara keutuhan ujung rambut berhubungan dengan rambut kortikal, tekstur dan kilap rambut berhubungan dengan kualitas permukaannya.³⁰

Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan rambut, antar lain:³¹

⇒ Genetik:

Faktor genetik menentukan potensi pertumbuhan rambut, termasuk panjang fase anagen dan kepadatan rambut.

⇒ Hormon:

Hormon seperti androgen (terutama testosteron) dapat mempengaruhi pertumbuhan rambut, baik mempercepat atau memperlambatnya, tergantung pada lokasi tubuh (misalnya, pertumbuhan rambut di kulit kepala vs. tubuh).

⇒ Nutrisi:

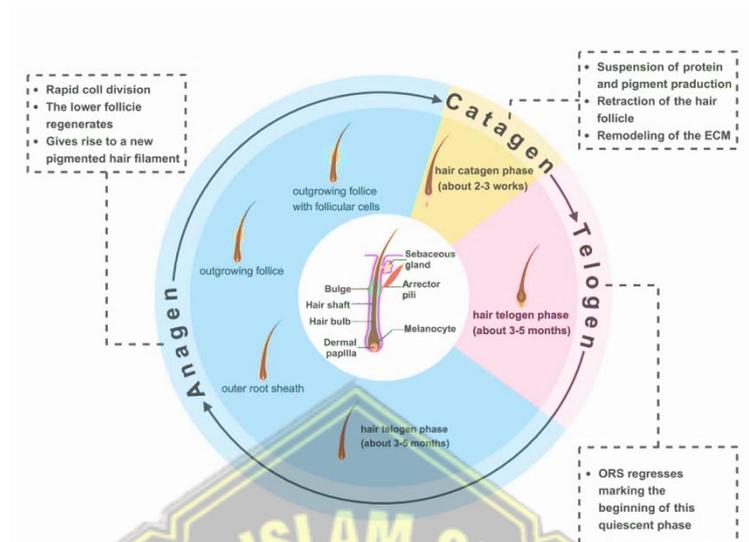
Nutrisi yang baik, terutama protein, vitamin (terutama biotin dan vitamin D), serta mineral seperti zinc dan besi, sangat penting untuk mendukung pertumbuhan rambut yang sehat.

⇒ Kesehatan kulit kepala:

Kondisi kulit kepala, seperti peradangan atau infeksi, dapat mengganggu siklus pertumbuhan rambut. Gangguan seperti dermatitis atau ketombe dapat mempengaruhi kesehatan folikel rambut.

⇒ Stres dapat memicu gangguan pada siklus rambut, seperti *telogen effluvium*, yang menyebabkan kerontokan rambut sementara.

2.5.3. Siklus Pertumbuhan Rambut



Gambar 2.8. Siklus Pertumbuhan Rambut.³²

- **Fase Anagen (Pertumbuhan):** Ini adalah fase pertumbuhan aktif di mana folikel rambut menghasilkan rambut yang tumbuh panjang. Fase ini dapat berlangsung selama beberapa tahun, tergantung pada individu. Sel-sel di *hair matrix* terus berkembang dan membentuk keratin yang mengeras menjadi rambut.³²
- **Fase Katagen (Regresi):** Pada fase ini, folikel rambut mulai mengecil dan persediaan darah ke folikel berkurang, menghentikan pertumbuhan rambut. Proses ini berlangsung hanya beberapa minggu.³²
- **Fase Telogen (Istirahat):** Fase ini adalah periode di mana rambut berhenti tumbuh dan tidak aktif. Fase telogen bisa berlangsung selama beberapa bulan, sebelum rambut lama mulai rontok dan digantikan oleh rambut baru yang tumbuh pada fase anagen berikutnya.³²

2.5.4. Penyakit yang Menghambat Pertumbuhan Rambut

Beberapa penyakit dapat menghambat pertumbuhan rambut dengan mempengaruhi kondisi folikel rambut dan siklus pertumbuhannya. Salah satu penyebab utama adalah alopecia androgenetik, yang disebabkan oleh faktor genetik dan hormon, terutama dihidrotestosteron (DHT), yang mempercepat miniaturisasi folikel rambut, mengurangi pertumbuhannya, dan menyebabkan kebotakan. Selain itu, gangguan autoimun seperti alopecia areata dapat memicu sistem kekebalan tubuh untuk menyerang folikel rambut, mengakibatkan kerontokan rambut yang signifikan. Penyakit lain seperti psoriasis dan dermatitis seboroik juga dapat menyebabkan peradangan di kulit kepala, yang mengganggu kesehatan folikel rambut dan menghambat pertumbuhannya. Kondisi seperti stres kronis, gangguan tiroid, dan kekurangan gizi juga dapat mempengaruhi siklus pertumbuhan rambut, memperburuk kerontokan, dan menghambat regenerasi rambut baru.³²

2.6. Alopecia

Alopecia adalah kondisi yang membuat rambut rontok, baik sebagian maupun seluruhnya, dan bisa terjadi secara perlahan atau tiba-tiba. Kerontokan ini tidak hanya terbatas pada kulit kepala, tapi juga bisa muncul di bagian tubuh lain seperti alis, bulu mata, atau rambut di lengan dan kaki. Salah satu hal penting tentang alopecia adalah tidak adanya bekas luka atau kerusakan permanen di kulit, sehingga folikel rambut masih utuh. Artinya,

rambut punya kemungkinan tumbuh kembali jika penyebab kerontokan, seperti stres, perubahan hormon, atau penyakit autoimun, bisa ditangani. Meski begitu, dalam beberapa kasus, proses tumbuhnya kembali rambut mungkin butuh waktu lama atau bahkan perlu bantuan medis.³³

2.6.1. Patogenesis Alopecia

Patogenesis alopecia melibatkan berbagai faktor yang memengaruhi siklus pertumbuhan rambut, yaitu faktor genetik, hormonal, autoimun, lingkungan, dan psikologis seperti stres. Secara umum, siklus rambut terdiri dari tiga fase utama: anagen (fase pertumbuhan), catagen (fase transisi), dan telogen (fase istirahat). Gangguan pada salah satu fase ini, baik karena faktor internal maupun eksternal, dapat memicu kerontokan rambut lebih cepat atau dalam jumlah yang berlebihan.³³ Pada beberapa jenis alopecia, kondisi ini bersifat sementara, sedangkan pada jenis lainnya kerusakan bisa menjadi permanen apabila tidak ditangani dengan baik.

2.6.2. Faktor – factor Penyebab Alopecia

1. Faktor Genetik

Faktor genetik memainkan peran penting dalam alopecia, terutama pada alopecia androgenetik. Gen tertentu yang diwariskan dapat menyebabkan folikel rambut lebih sensitif terhadap hormon androgen seperti dihidrotestosteron (DHT), yang mempercepat fase telogen dan memperlambat pertumbuhan

rambut baru. Dalam banyak kasus, orang dengan riwayat keluarga alopecia memiliki risiko lebih tinggi mengalami kondisi serupa.³⁴

2. Faktor Hormonal

Hormon juga mempengaruhi perkembangan alopecia, khususnya pada alopecia androgenetik. Pada pria, hormon androgen mempercepat penipisan rambut, sementara pada wanita, perubahan hormon selama kehamilan, menopause, atau gangguan tiroid dapat memicu kerontokan rambut secara tiba-tiba.³⁴

3. Faktor Autoimun

Pada alopecia areata, sistem kekebalan tubuh keliru mengenali folikel rambut sebagai ancaman dan menyerangnya. Sitokin pro-inflamasi seperti IFN- γ memicu peradangan pada folikel rambut dan memperpendek fase anagen. Ini menyebabkan rambut rontok dalam bentuk bercak dan bisa berkembang menjadi alopecia totalis atau alopecia universalis.³⁵

4. Faktor Lingkungan dan Stres

Stres fisik atau emosional bisa memicu jenis alopecia seperti telogen effluvium, di mana lebih banyak folikel rambut masuk ke fase telogen secara bersamaan. Perubahan pola hidup, paparan racun, atau kondisi kesehatan tertentu seperti infeksi atau malnutrisi juga dapat memengaruhi siklus pertumbuhan rambut.³³

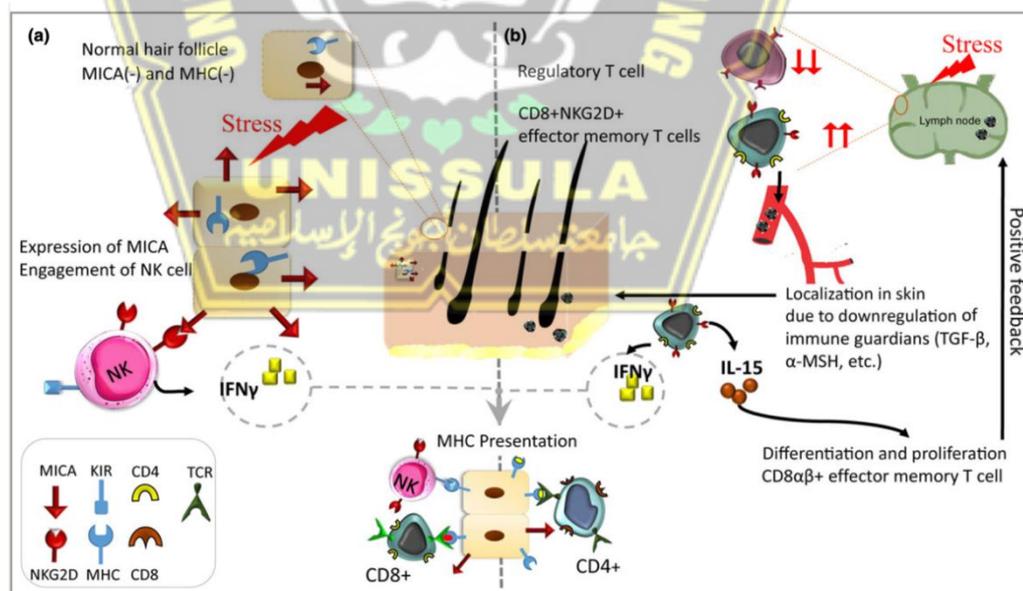
2.6.3. Alopecia Areata (AA)

Alopecia areata adalah salah satu bentuk alopecia paling umum dan disebabkan oleh gangguan autoimun, di mana folikel rambut diserang oleh Faktor kekebalan tubuh, mengakibatkan kerontokan dalam bentuk bercak-bercak di kepala atau tubuh.³⁵

Alopecia areata umumnya ditandai dengan munculnya area kecil kebotakan di kulit kepala atau bagian tubuh lainnya. Pada tahap awal, kondisi ini sering tampak seperti kebotakan kecil. Namun, dalam beberapa kasus, penyakit ini dapat berkembang lebih serius hingga menyebabkan hilangnya seluruh rambut di kepala, kondisi yang dikenal sebagai alopecia totalis. Bahkan, pada faktor yang lebih parah, alopecia areata bisa mempengaruhi seluruh tubuh, mengakibatkan hilangnya semua rambut, termasuk alis, bulu mata, dan rambut di bagian tubuh lain, yang disebut alopecia universalis.³⁶ Folikel rambut pada penyakit ini tidak mengalami kerusakan permanen, sehingga rambut masih berpotensi tumbuh faktor meski sering disertai kekambuhan. Alopecia areata dapat muncul pada usia berapa pun, namun paling sering terjadi pada usia 25 hingga 29 tahun.³⁷

Penelitian menunjukkan bahwa alopecia areata (AA) lebih banyak dialami oleh individu dari etnis Asia, terutama karena faktor – faktor dan kondisi faktor tertentu yang lebih sering muncul pada populasi ini. Selain itu, prevalensi AA juga lebih tinggi pada

kelompok dengan status sosial ekonomi rendah. Hal ini bisa jadi terkait dengan akses terbatas terhadap layanan faktor berkualitas, pola makan yang kurang optimal, dan faktor – faktor yang lebih tinggi akibat kondisi ekonomi yang tidak stabil. Kemudian, orang yang tinggal di daerah perkotaan juga lebih rentan terkena AA karena faktor lingkungan perkotaan seperti polusi, tekanan pekerjaan, serta paparan faktor sosial secara terus-menerus sehingga dapat memperburuk kondisi autoimun dan memicu gejala kebotakan. AA dapat berkembang menjadi bentuk yang lebih parah, yaitu alopecia totalis (AT) yaitu hilangnya semua rambut pada kulit kepala dan alopecia universalis (AU) yaitu kerontokan semua rambut pada tubuh.³⁷



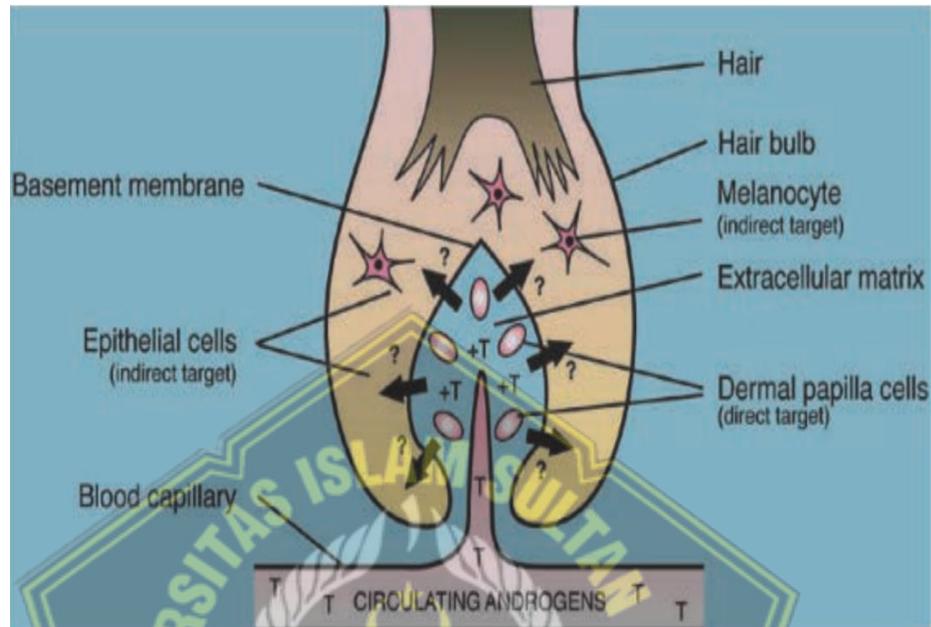
Gambar 2.9. Dua faktor utama perkembangan Alopecia Areata (AA)²¹

- a) Stres memicu ekspresi protein MICA pada keratinosit, yang kemudian mengaktifkan sel Natural Killer (NK) dan memicu sekresi IFN- γ . Ekspresi protein MHC-I diinduksi oleh IFN- γ , sehingga antigen yang sebelumnya tersembunyi kini dikenali oleh sel T, yang pada akhirnya memicu respon autoimun.²¹
- b) Peningkatan jumlah sel CD8⁺ NKG2D⁺ di kelenjar getah bening regional yang kemudian menyerang folikel rambut. Sel-sel ini memproduksi IL-15 dan IFN- γ , memperburuk kerusakan. IFN- γ dan IL-15 juga mendorong umpan balik positif, yang mengakibatkan infiltrasi sel T lebih lanjut ke dalam folikel rambut dan memperkuat serangan autoimun.²¹

2.6.4. Alopecia Androgenetik

Pada alopecia androgenetik, faktor hormonal dan faktor memainkan peran utama. Hormon androgen, seperti dihidrotestosteron (DHT), menyebabkan pengecilan folikel rambut secara bertahap, terutama pada pria. Proses ini memperpendek fase anagen dan memperpanjang fase telogen, sehingga rambut yang tumbuh menjadi semakin tipis dan mudah rontok.³⁴ Pada pria, AGA biasanya ditandai dengan pola penarikan garis rambut di bagian depan dan penipisan di bagian atas kepala, sedangkan pada faktor, AGA cenderung muncul sebagai penipisan rambut di bagian faktor kepala dengan garis rambut depan yang tetap utuh. Kondisi ini dapat dimulai pada usia muda dan prevalensinya meningkat seiring

bertambahnya usia, dengan perbedaan yang signifikan antara pria dan faktor dalam hal pola dan faktor keparahan.³⁸



Gambar 2.10. Aksi androgen pada folikel rambut

Androgen di vaskular masuk ke folikel rambut dan dimetabolisme menjadi *dihydrotestosterone* (DHT) yang akan berikatan dengan reseptor androgen di sel papilla dermis, sehingga terjadi perubahan produksi faktor-faktor regulasi yang mempengaruhi aktivitas sel papilla dermis, keratinosit, dan melanosit.³⁸

2.6.5. Traction Alopecia

Traction alopecia disebabkan oleh tekanan atau tarikan berulang pada folikel rambut, biasanya akibat gaya rambut yang terlalu ketat, seperti kepong atau kuncir. Jika tekanan ini berlangsung

dalam jangka waktu lama, folikel dapat mengalami kerusakan permanen dan menghambat pertumbuhan rambut baru.³⁴

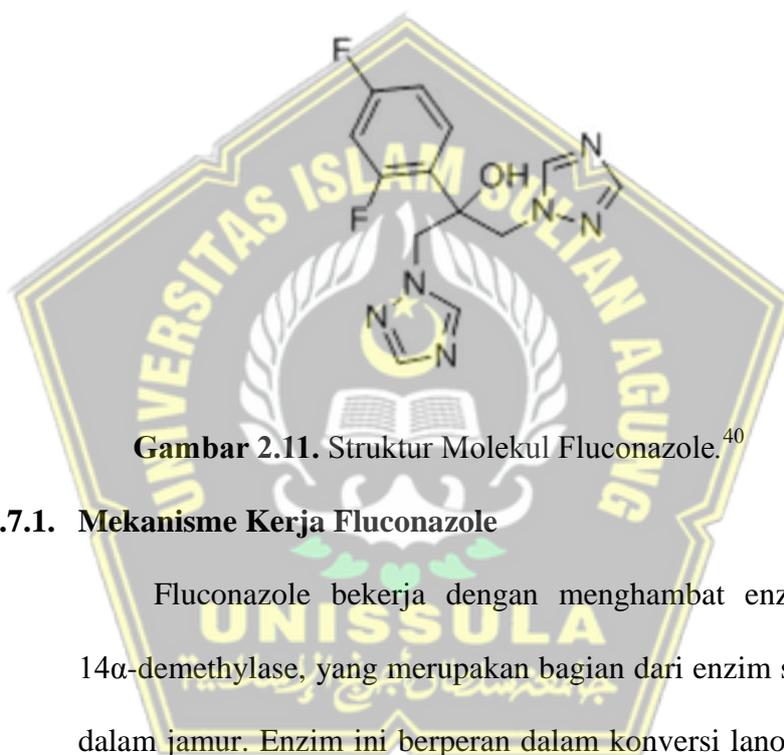
2.6.6. Peran Inflamasi dan Faktor Lingkungan dalam Alopecia

Pada jenis alopecia seperti Alopecia Areata (AA) inflamasi memiliki peran penting dalam memperburuk kerontokan rambut. Pada AA, sistem imun tubuh menghasilkan sitokin pro-inflamasi seperti *Interferon-Gamma* (IFN- γ), yang menyerang folikel rambut dan memperpendek fase anagen, mengakibatkan kerontokan rambut yang sangat mendadak.³³

Faktor lingkungan seperti stres berat atau berkepanjangan juga memicu dan memperburuk alopecia, terutama telogen effluvium. Dalam kondisi ini, tubuh merespons stres dengan mempercepat peralihan folikel rambut dari fase pertumbuhan (anagen) ke fase istirahat (telogen). Akibatnya, rambut rontok dalam jumlah besar dalam waktu singkat.³⁹ Pola makan dan diet yang buruk atau defisiensi nutrisi, juga sering dihubungkan dengan kerontokan rambut, karena nutrisi sangat penting untuk mempertahankan kesehatan folikel rambut dan siklus pertumbuhan yang normal. Selain itu, infeksi atau penggunaan obat-obatan tertentu, seperti obat kemoterapi atau antidepresan, juga dapat memicu kerontokan rambut dengan memengaruhi keseimbangan hormon dan memperburuk inflamasi.³⁵

2.7. Fluconazole

Fluconazole adalah salah satu antijamur dari golongan triazol.⁴⁰ terdapat dalam bentuk oral dan parenteral Fluconazole termasuk antifungi golongan triazol yang ditemukan pada tahun 1982 dan pertama diperkenalkan di Eropa kemudian di Amerika Serikat. Bentuk sediaannya adalah kapsul 50 mg, 150 mg, dan injeksi 200 mg/100 ml.



Gambar 2.11. Struktur Molekul Fluconazole.⁴⁰

2.7.1. Mekanisme Kerja Fluconazole

Fluconazole bekerja dengan menghambat enzim lanosterol 14 α -demethylase, yang merupakan bagian dari enzim sitokrom P450 dalam jamur. Enzim ini berperan dalam konversi lanosterol menjadi ergosterol, yang merupakan komponen penting dalam membran sel jamur. efektif melawan berbagai spesies *Candida*, *Blastomyces dermatitis*, *Histoplasma capsulatum*, dan jamur lainnya, kecuali *Candida glabrata* dan *Candida krusei* yang memiliki resistansi lebih tinggi.⁴⁰

Fluconazole diketahui meningkatkan aktivitas enzim ROS, GPx, dan SOD pada sel jamur yang diberi perlakuan, baik pada

strain yang rentan maupun resisten. Peningkatan aktivitas ini menunjukkan bahwa fluconazole dapat memicu stres oksidatif, yang kemudian diatasi oleh enzim antioksidan seperti GPx dan SOD untuk melindungi sel. Namun, karena tidak ada perbedaan signifikan dalam aktivitas enzim antara strain resisten dan rentan, hal ini mengindikasikan bahwa mekanisme resistansi fluconazole tidak bergantung pada respons antioksidan, melainkan kemungkinan melibatkan mekanisme lain, seperti peningkatan eflluks obat atau modifikasi target enzim yang menjadi sasaran fluconazole.⁴¹

2.7.2. Farmakokinetik Fluconazole

Fluconazole memiliki bioavailabilitas hampir 100% setelah pemberian oral dan tidak dipengaruhi oleh makanan, dengan distribusi luas dalam tubuh serta penetrasi yang baik ke cairan serebrospinal. Obat ini memiliki ikatan protein plasma rendah kurang lebih 11–12% dan sebagian besar diekskresikan melalui ginjal dalam bentuk tidak berubah sekitar 80%, dengan waktu paruh eliminasi sekitar 30 jam yang dapat lebih lama pada pasien dengan gangguan ginjal.⁴² Fluconazole merupakan inhibitor CYP2C19 dan inhibitor sedang CYP3A4, sehingga dapat berinteraksi dengan obat lain yang dimetabolisme oleh enzim ini.⁴³ Pada pasien kritis, variabilitas farmakokinetik yang signifikan dapat terjadi, dipengaruhi oleh fungsi ginjal, dosis, dan metode administrasi, di mana augmented renal clearance atau renal replacement therapy dapat

meningkatkan ekskresi obat sehingga berpotensi menyebabkan underdosing. Oleh karena itu, pemantauan kadar fluconazole dalam plasma penting untuk memastikan dosis yang sesuai agar efektivitas terapinya optimal.⁴²

2.7.3. Efek Samping Fluconazole

Fluconazole dapat menyebabkan beberapa efek samping yang bervariasi dari ringan hingga serius. Efek samping yang sering dilaporkan meliputi gangguan gastrointestinal seperti mual, muntah, diare, dan nyeri perut. Ada penggunaan dosis tinggi selama kehamilan, fluconazole dikaitkan dengan risiko kelainan kongenital, terutama pada janin yang terpapar selama trimester pertama.⁴⁰

2.7.4. Hubungan Fluconazole dalam Menyebabkan Alopecia

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Thompson et al. (2019), fluconazole diketahui dapat menyebabkan alopecia, khususnya dalam bentuk telogen effluvium, baik pada model hewan maupun pada pasien manusia. Pada percobaan menggunakan tikus, ditemukan bahwa jumlah rambut yang berada dalam fase telogen meningkat secara signifikan pada hari ke-7 dan ke-14 setelah pemberian fluconazole, yang menunjukkan transisi siklus rambut menuju fase telogen lebih cepat dibandingkan dengan kelompok kontrol. Penelitian ini juga melibatkan lima pasien manusia yang menerima pengobatan fluconazole dalam jangka panjang, yang

semuanya mengalami kerontokan rambut, dan hasil pemeriksaan mikroskopik menunjukkan bahwa seluruh rambut berada pada fase telogen. Meskipun penelitian ini menguji kemungkinan pengaruh fluconazole terhadap metabolisme asam retinoat, yang terkait dengan pengaturan siklus pertumbuhan rambut, tidak ditemukan perubahan signifikan dalam kadar asam retinoat pada serum dan jaringan kulit. Temuan ini mengindikasikan bahwa fluconazole dapat menyebabkan alopecia sebagai efek samping.¹²

2.8. Pengaruh Serum Topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary terhadap Kadar Interferon-Gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15)

Pemberian serum topikal minyak argan dan minyak rosemary pada tikus model alopecia-like yang diinduksi fluconazole berpotensi menurunkan kadar Interferon-Gamma (IFN- γ) dan Interleukin-15 (IL-15), yang merupakan dua sitokin utama dalam mekanisme inflamasi terkait alopecia. IFN- γ merupakan sitokin proinflamasi yang diproduksi oleh sel T dan sel NK, berperan dalam memicu respons imun yang dapat merusak folikel rambut. Sementara itu, IL-15 berperan dalam proliferasi dan aktivasi sel T CD8⁺ serta sel NK, yang dapat memperburuk kerusakan imunologis di sekitar folikel rambut.

Minyak argan, yang kaya akan tokoferol, sterol, dan polifenol, memiliki sifat antioksidan yang kuat yang membantu mengurangi stres oksidatif dan menekan produksi sitokin inflamasi, termasuk IFN- γ dan IL-15. Studi menunjukkan bahwa tokoferol dalam minyak argan berperan

dalam menghambat biosintesis prostaglandin E2 (PGE2) melalui jalur COX-2, yang berkontribusi terhadap pengurangan inflamasi perifolikular. Selain itu, kandungan asam lemak esensial dalam minyak argan membantu memperbaiki skin barrier dan meningkatkan regenerasi jaringan folikel rambut.

Minyak rosemary memiliki efek antiinflamasi yang signifikan melalui kandungan senyawa bioaktif seperti asam rosmarinik dan asam karnosik. Senyawa ini mampu menghambat jalur NF- κ B dan menekan produksi nitric oxide (NO), yang merupakan mediator inflamasi utama dalam alopecia areata. Selain itu, minyak rosemary juga memiliki kemampuan untuk menghambat aktivitas enzim 5-alpha reductase, yang bertanggung jawab dalam konversi testosteron menjadi dihidrotestosteron (DHT), faktor utama dalam miniaturisasi folikel rambut pada alopecia androgenetik. Dengan demikian, pemberian serum topikal minyak rosemary tidak hanya menekan inflamasi tetapi juga meningkatkan sirkulasi darah di kulit kepala, mendukung pertumbuhan rambut yang lebih sehat.

Kombinasi minyak argan dan minyak rosemary dapat memberikan efek sinergis dalam menurunkan kadar IFN- γ dan IL-15. Mekanisme ini terjadi melalui penghambatan jalur inflamasi, penekanan stres oksidatif, serta peningkatan mikrosirkulasi dan nutrisi di area folikel rambut. Hal ini mendukung potensi penggunaan kombinasi minyak argan dan minyak rosemary sebagai terapi alternatif dalam menangani alopecia yang terkait dengan respons inflamasi dan stres oksidatif.

2.9. Penggunaan Hewan Uji Tikus Wistar

Tikus Wistar merupakan sistem uji standar yang sering digunakan dalam studi preklinis, termasuk penelitian toksikologi dan efektivitas obat. Mereka memiliki kumpulan data historis yang besar mengenai toksisitas berbagai substansi, yang membuatnya lebih dapat diandalkan untuk penelitian. Tikus Wistar memiliki umur yang stabil dan perilaku sosial yang baik, yang memudahkan kelompok dan mengurangi biaya pemeliharaan. Selain itu, mereka memiliki insiden perubahan neoplastik yang lebih rendah dibandingkan dengan strain lain, seperti Sprague-Dawley, yang membuat mereka lebih cocok untuk studi jangka Panjang.²³

2.10. Induksi Hewan Uji

Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Wikramanayake, et al dikatakan bahwa kerontokan pada tikus yang diinduksi cyclophosphamide berawal dari area badan lalu ke arah posterior bagian leher.²⁴ Studi lain yang dilakukan oleh Thompson GR, et al. menyatakan bahwa induksi dengan fluconazole pada tikus menyebabkan peningkatan rambut dalam fase telogen (istirahat), dimulai pada hari ke-7 hingga hari ke-14, menunjukkan telogen effluvium.¹² Dalam penelitian ini, tikus Wistar jantan dengan berat badan 200–250 gram diberi perlakuan fluconazole secara oral dengan dosis 35 mg/kg/hari. Tikus dibagi menjadi dua kelompok: kelompok perlakuan yang menerima fluconazole dan kelompok kontrol yang tidak menerima obat. Tikus diberi pakan standar yang mengandung vitamin A untuk menghindari efek dermatologis akibat defisiensi vitamin tersebut.

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

3.1. Kerangka Teori

Alopecia merupakan istilah medis untuk kondisi kerontokan rambut yang terjadi baik pada kulit kepala maupun bagian tubuh lainnya. Alopecia dapat disebabkan oleh berbagai faktor, seperti faktor genetik, peradangan, autoimun, stres, atau kondisi medis lainnya. Peradangan memegang peranan penting dalam kondisi alopecia. Peradangan terjadi ketika sistem imun menyerang folikel rambut, yang dianggap sebagai jaringan asing. Proses ini sering kali melibatkan sel-sel imun, seperti sel T CD8+ yang dapat merusak folikel rambut dan menyebabkan kerontokan rambut. Sel T CD8+ menghasilkan sitokin pro-inflamasi, seperti interferon- γ (IFN- γ), yang berkontribusi pada peradangan di sekitar folikel rambut. Selain itu, peningkatan kadar interleukin-15 (IL-15) sebagai regulator imun yang mendukung aktivasi dan kelangsungan hidup sel NK dan sel T juga memperparah kerusakan imunologis di folikel rambut. Kombinasi ini menciptakan lingkungan inflamasi yang memicu stres oksidatif dan kerusakan jaringan.

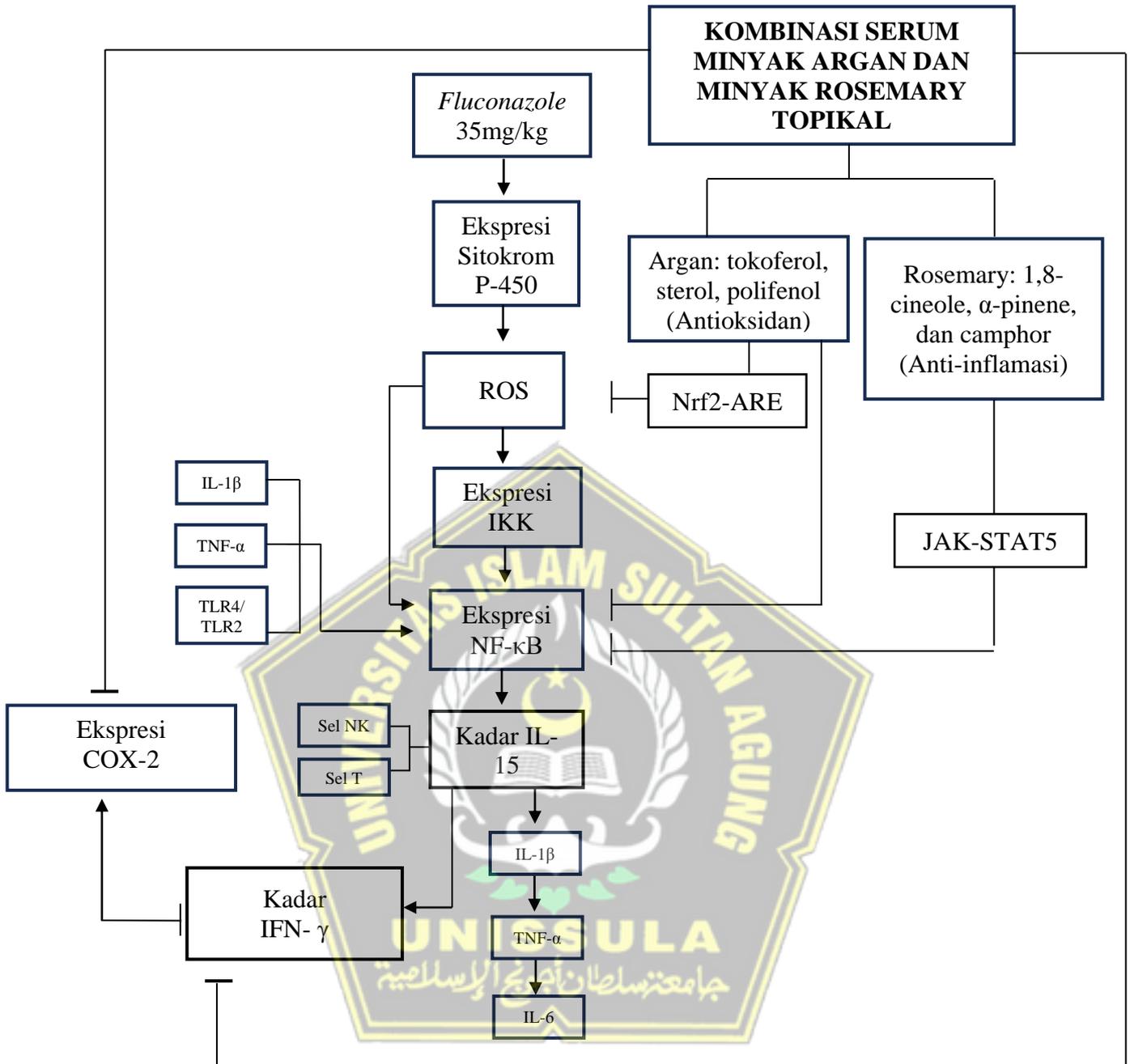
Fluconazole adalah salah satu antijamur dari golongan triazol. Fluconazole bekerja dengan menghambat enzim lanosterol 14 α -demethylase, yang merupakan bagian dari enzim sitokrom P450 dalam jamur. Enzim ini berperan dalam konversi lanosterol menjadi ergosterol,

yang merupakan komponen penting dalam membran sel jamur. Fluconazole diketahui meningkatkan aktivitas enzim ROS, GPx, dan SOD pada sel jamur yang diberi perlakuan, baik pada strain yang rentan maupun resisten. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Thompson et al. (2019), fluconazole diketahui dapat menyebabkan alopecia, khususnya dalam bentuk telogen effluvium. Pada percobaan menggunakan tikus, ditemukan bahwa jumlah rambut yang berada dalam fase telogen meningkat secara signifikan pada hari ke-7 dan ke-14 setelah pemberian fluconazole, yang menunjukkan transisi siklus rambut menuju fase telogen lebih cepat dibandingkan dengan kelompok control. Tikus yang diinduksi fluconazole akan mengalami gangguan pada sitokrom P-450 yang meningkatkan kadar ROS, sehingga menyebabkan kondisi alopecia-like. Peningkatan ROS akibat induksi fluconazole memicu fosforilasi IKK dan aktivasi NF- κ B, yang selanjutnya menginduksi ekspresi gen-gen inflamasi, termasuk sitokin seperti IL-15 dan IFN- γ . Sitokin-sitokin ini memperparah kerusakan imun di sekitar folikel rambut, yang berkontribusi terhadap perkembangan alopecia-like.

Minyak argan kaya akan zat bioaktif seperti asam lemak tak jenuh, polifenol, tokoferol, dan sterol. Tokoferol, terutama γ -tokoferol, bekerja sebagai anti-inflamasi dengan menghambat jalur sinyal inflamasi dan biosintesis eikosanoid. Senyawa ini juga dapat menekan kadar IL-15 dan IFN- γ , sehingga membantu meredakan inflamasi pada folikel rambut. Selain itu, minyak argan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, menetralkan ROS, dan mengurangi stres oksidatif. Minyak rosemary, yang mengandung

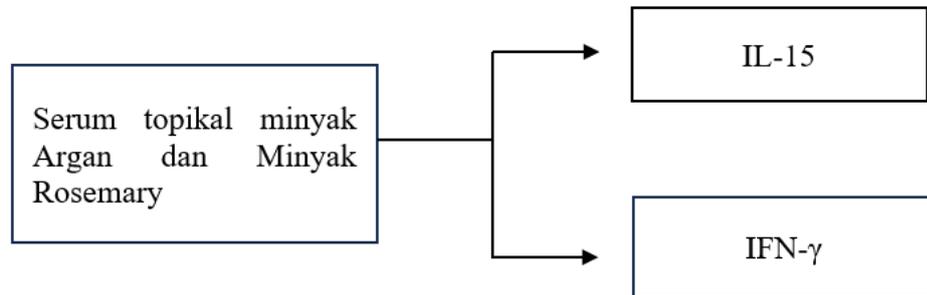
asam rosmarinik, asam karnosik, dan karnosol, memiliki efek serupa. Senyawa aktifnya menghambat produksi sitokin pro-inflamasi seperti IFN- γ dan IL-15, serta mengurangi stres oksidatif. Dengan meningkatkan sirkulasi darah di kulit kepala, minyak rosemary juga mendukung regenerasi rambut.





Gambar 3.1 Kerangka Teori

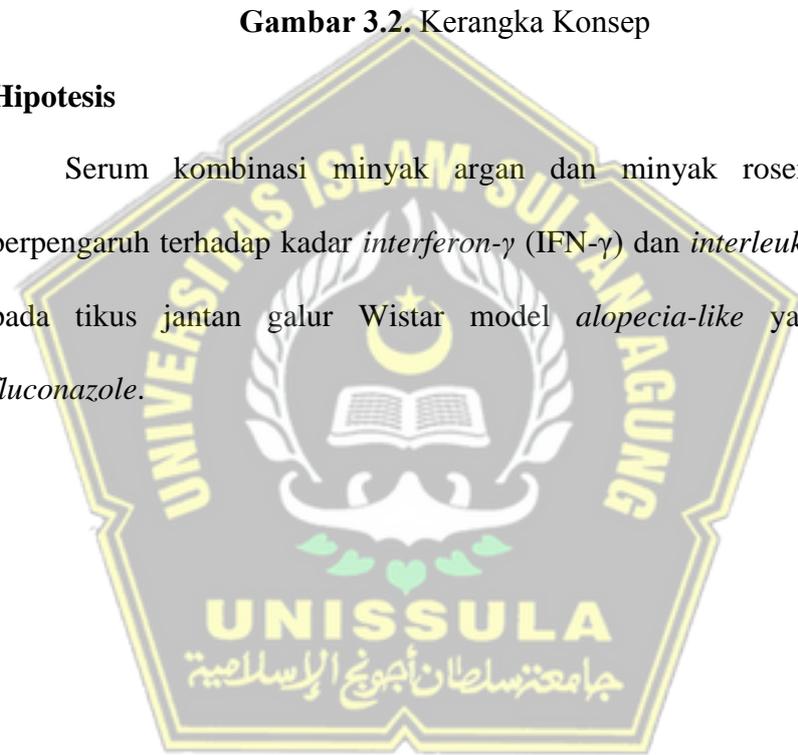
3.2. Kerangka Konsep



Gambar 3.2. Kerangka Konsep

3.3. Hipotesis

Serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal berpengaruh terhadap kadar *interferon-γ* (IFN- γ) dan *interleukin-15* (IL-15) pada tikus jantan galur Wistar model *alopecia-like* yang diinduksi *fluconazole*.

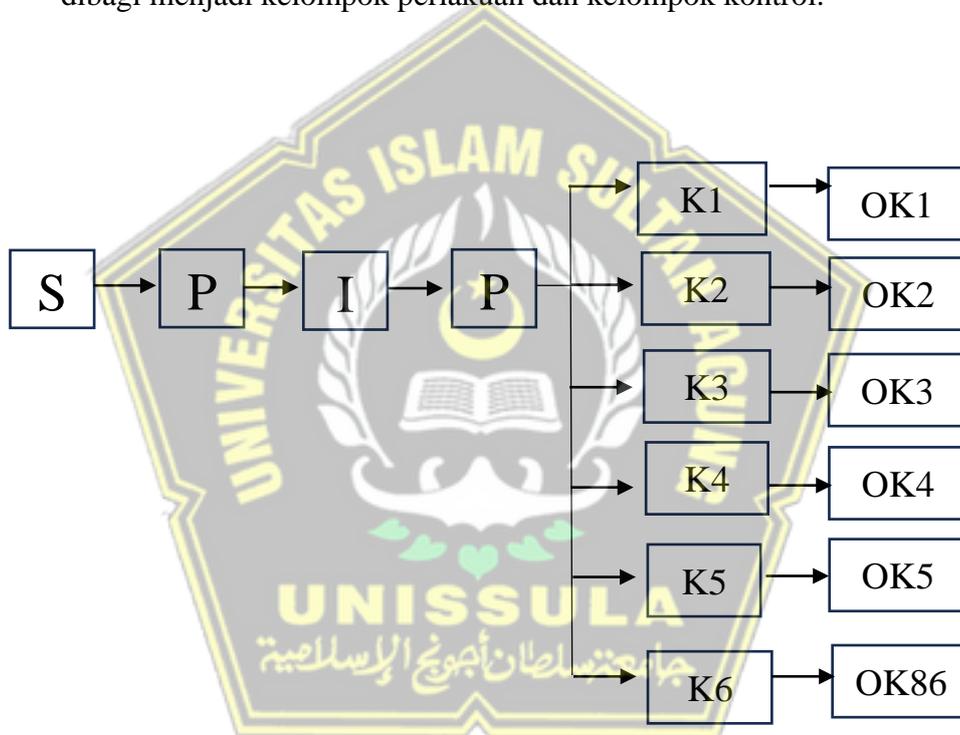


BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental in vivo dengan desain *Post Test only Control Group Design*. Dalam desain ini, hewan coba dibagi menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.



Gambar 4.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Sampel

P = Penyesuaian

I = Induksi *Fluconazole* pada tikus

P = Perlakuan pemberian serum topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary

K1 = Tikus tidak diberi perlakuan (hanya dicukur sebagian dan diberi NaCL (0.9%))

K2 = Tikus model diberi perlakuan pemberian base serum topikal

K3 = Tikus model diberi perlakuan pemberian minyak argan 3% secara topikal

K4 = Tikus model diberi perlakuan pemberian minyak rosemary 2% secara topikal

K5 = Tikus model diberi perlakuan pemberian serum topikal minyak argan 1,5% dan minyak rosemary 1%

K6 = Tikus model diberi perlakuan pemberian serum topikal minyak argan 3% dan minyak rosemary 2%

OK1 = Observasi tikus tanpa perlakuan

OK2 = Observasi tikus diberi perlakuan pemberian base serum topikal

OK3 = Observasi tikus diberi perlakuan pemberian minyak argan 3% secara topikal

OK4 = Observasi tikus diberi perlakuan pemberian minyak rosemary 2% secara topikal

OK5 = Observasi tikus diberi perlakuan pemberian serum topikal minyak argan 1,5% dan minyak rosemary 1% secara topikal

OK6 = Observasi tikus diberi perlakuan pemberian serum topikal minyak argan 3% dan minyak rosemary 2% secara topikal

4.2. Sampel Penelitian

4.2.1. Sampel

Studi ini menggunakan hewan coba Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan dari kemuning. Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor usia 2-3 bulan dengan berat 200 – 250 gram.

4.2.2. Besar Sampel

Besar sampel menurut WHO, minimal 5 ekor tiap kelompok percobaan. Sehingga dalam masing-masing kelompok percobaan

akan menggunakan 5 ekor tikus.²⁴ Pada penelitian ini kelompok percobaan terdiri dari 6 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan. Sehingga Jumlah keseluruhan sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor.

4.2.3. Kriteria Inklusi:

Sampel studi dibatasi pada tikus wistar jantan berwarna putih dan memenuhi kriteria inklusi sebagai berikut:

1. Usia 2-3 bulan.
2. Tikus Wistar dengan berat badan 200 – 250 gram.
3. Jenis kelamin Jantan.
4. Tikus dalam kondisi sehat dan aktif selama periode penelitian.

4.2.4. Kriteria Eksklusi:

1. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda penyakit sebelum penelitian dimulai.
⇒ Tikus kondisi Alopesia dengan kondisi kerontokan bulu dengan pemberian Fluconazole selama 14 hari yang divalidasi menggunakan pengamatan mikroskopis pada fase anagen effluvium terjadi pemendekan dibandingkan kelompok tikus sehat.

4.2.5. Kriteria *Drop Out*

Tikus mati saat penelitian berlangsung.

4.2.6. Cara Pengambilan Sampel Penelitian

Pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan cara *simple random sampling*. Enam perlakuan diberikan pada tikus *Wistar Jantan*:

Perlakuan K1 (hanya di cukur dan diberi NaCl 0,9%), K2 (diberi paparan fluconazole dan di beri base serum topikal), K3 (diberi perlakuan pemberian minyak argan 3% topikal), K4 (diberi perlakuan pemberian minyak rosemary 2% topikal), K5 (diberi perlakuan pemberian serum kombinasi minyak argan 1,5% dan minyak rosemary 1% topikal), K6 (diberi perlakuan pemberian serum kombinasi minyak argan 3% dan minyak rosemary 2% topikal).

4.3. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1. Variabel Penelitian

4.3.1.1. Variabel Bebas

Variable bebas dalam penelitian ini adalah dosis serum topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary.

4.3.1.2. Variabel Tergantung

Kadar *interferon- γ* (IFN- γ) dan kadar *interleukin-15* (IL-15) pada model tikus Alopecia.

4.3.1.3. Variabel Prakondisi

Induksi Alopecia-like pada tikus dilakukan dengan memberikan perlakuan fluconazole secara oral dengan dosis

35 mg/kg/hari selama 14 hari dan fisik dengan metode pencukuran lokal.

Minyak Argan dan Minyak Rosemary dibuat sediaan serum topikal.

4.3.2. Definisi Operasional

1. Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal.

Serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari dua jenis formula, yaitu:

- Kombinasi 1: minyak argan 1,5% dan minyak rosemary 1%
- Kombinasi 2: minyak argan 3% dan minyak rosemary 2%

Serum topikal ini disiapkan dengan mencampurkan minyak argan dan minyak rosemary dalam basis gel carbopol dengan emulgator Tween 20, lalu disesuaikan pH-nya dalam rentang 5.5–6.0 untuk memastikan kenyamanan aplikasi pada kulit tikus. Serum ini kemudian diaplikasikan pada kulit tikus jantan galur Wistar yang telah diinduksi fluconazole selama 7 hari berturut-turut, sekali sehari.

2. *Interferon- γ* (IFN- γ)

Pengukuran kadar *Interferon- γ* (IFN- γ) pada model tikus wistar diperiksa dari sampel jaringan kulit pada hari ke 7 setelah pengolesan Serum Topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary untuk melihat kadar *Interferon- γ* (IFN- γ) pada jaringan kulit

kemudian dianalisis menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Unit: pg/mL

Skala: data rasio

3. *Interleukin-15* (IL-15)

Pengukuran kadar *Interleukin-15* (IL-15) pada model tikus wistar diperiksa dari sampel jaringan kulit pada hari ke 7 setelah pengolesan Serum Topikal Minyak Argan dan Minyak Rosemary untuk melihat kadar *Interleukin-15* (IL-15) pada jaringan kulit kemudian dianalisis menggunakan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Unit: pg/mL

Skala: data rasio

4.4. Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1. Alat

Penelitian ini menggunakan berbagai peralatan laboratorium untuk mendukung proses induksi, perawatan hewan coba, serta pengukuran kadar sitokin IFN- γ dan IL-15 dari jaringan kulit tikus. Alat yang digunakan meliputi Biosafety Cabinet (BSC), kandang hewan, timbangan digital, alat cukur bulu, dissecting kit, pinset, gunting, serta perlengkapan anestesi dan eutanasia. Untuk persiapan sampel jaringan digunakan cryotube 1 mL, mikropipet dan tip steril (biru, kuning, pink), conical tube (15 mL, 50 mL), centrifuge, vortex

mixer, dan pipette filler. Proses analisis ELISA dilakukan menggunakan microplate reader ELISA, pelat ELISA 96-well, beaker glass, mikropipet.

4.4.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain tikus Wistar, serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary, fluconazole, NaCl 0,9%, ELISA kit Rat IFN- γ dan IL-15, Phosphate-Buffered Saline (PBS), etanol, ketamin, aquadest, dan pakan tikus. Proses pengambilan sampel dilakukan setelah perlakuan selesai, dengan cara mengambil jaringan kulit dari area perlakuan. Jaringan tersebut kemudian dihomogenisasi menggunakan PBS, disentrifugasi, dan supernatan digunakan sebagai sampel untuk analisis.

4.5. Prosedur Penelitian

4.5.1. Ethical Clearance

Ethical clearance Universitas Islam Sultan Agung Fakultas Kedokteran Semarang memberikan persetujuan atas studi ini.

4.5.2. Cara Pembuatan Serum Kombinasi Minyak Argan dan Minyak Rosemary Topikal

Pembuatan serum topikal minyak argan dan minyak rosemary dimulai dengan mempersiapkan gel base dengan melarutkan carbopol (1% w/v) ke dalam air destilasi sambil diaduk

menggunakan magnetic stirrer hingga larut sempurna, kemudian pH disesuaikan ke 5.5–6.0 menggunakan larutan NaOH atau asam sitrat 0.1 N. Selanjutnya, campurkan minyak argan dan minyak rosemary dengan emulgator Tween 20 dalam beaker terpisah, lalu aduk hingga homogen. Tambahkan campuran minyak ini secara perlahan ke dalam gel base sambil terus diaduk dengan magnetic stirrer selama 10–15 menit hingga tercampur sempurna. Setelah itu, pH serum diperiksa dan disesuaikan kembali jika diperlukan, lalu serum dituang ke dalam botol serum steril yang kedap udara untuk disimpan di tempat sejuk dan terlindung dari cahaya matahari langsung.

4.5.3. Pemberian Perlakuan pada Hewan Uji dan Validasi

Untuk memunculkan alopecia pada tikus maka dilakukan proses pencukuran dan induksi dengan pemberian *Fluconazole* secara oral. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Thompson GR, et al. menyebutkan bahwa induksi alopecia pada tikus dilakukan dengan pemberian Fluconazole secara oral sebanyak 35mg/kg/hari selama 14 hari untuk memicu kerontokan.¹² Sehingga dalam penelitian ini untuk menginduksi tikus *alopecia-like* tikus akan diberi perlakuan pemberian Fluconazole secara oral sebanyak 35mg/kg/hari selama 14 hari. Setelah 14 hari perlakuan dilakukan validasi di hari ke 15 secara makroskopis, tikus yang memenuhi kriteria inklusi dan telah memenuhi validasi *alopesia-like* yaitu tikus

yang mengalami perhambatan pertumbuhan rambut dan pemendekan dibandingkan kelompok tikus sehat. Dan secara mikroskopis dengan mengamati preparat jaringan kulit yang diwarnai Hematoxylin-Eosin (HE) menggunakan mikroskop digital. Selanjutnya tikus *alopecia-like* dioles serum topikal yang mengandung Minyak Argan 1,5% Minyak Rosemary 1% dan Minyak Argan 3% Minyak Rosemary 2% setiap hari selama 7 hari sebanyak 1x sehari pada pagi hari antara pukul 08.00 hingga 10.00 pagi. Pengambilan sampel dilakukan satu kali pada hari ke-21 setelah pemberian hari terakhir pemberian serum.

4.5.4. Validasi Tikus *Alopecia-Like*

4.5.4.1. Validasi Makroskopis

Validasi tikus model alopecia-like secara makroskopis dilakukan untuk memastikan bahwa tikus yang digunakan dalam penelitian ini mengalami perubahan yang sesuai dengan kondisi alopecia yang diinduksi fluconazole.

Validasi ini bertujuan untuk mengamati secara langsung perubahan yang terjadi pada tikus sebelum dan setelah perlakuan.

1. Tahapan Validasi Makroskopis

⇒ Pencukuran Bulu

Sebelum perlakuan dimulai, bulu tikus dicukur di area yang akan diamati, yaitu kulit kepala atau

punggung. Pencukuran ini bertujuan untuk mempermudah pengamatan terhadap perubahan yang terjadi pada kulit dan rambut tikus setelah perlakuan. Pencukuran dilakukan menggunakan mesin cukur khusus untuk hewan percobaan dengan hati-hati untuk menghindari kerusakan pada kulit tikus.

⇒ **Induksi Fluconazole**

Setelah pencukuran, tikus diberikan perlakuan dengan fluconazole secara oral dengan dosis 35 mg/kg/hari selama 14 hari berturut-turut. Fluconazole berfungsi untuk menginduksi kondisi alopecia-like pada tikus melalui mekanisme yang mengganggu siklus pertumbuhan rambut. Tikus yang diberikan fluconazole ini akan mengalami kerontokan rambut pada area yang sebelumnya dicukur.

⇒ **Pengamatan Berkala**

Pengamatan dilakukan secara berkala pada interval waktu tertentu, seperti setiap 2 hari sekali. Pengamatan ini bertujuan untuk mencatat perubahan yang terjadi pada kulit tikus, baik berupa kerontokan rambut, perubahan tekstur kulit, atau tanda-tanda inflamasi. Setiap perubahan dicatat dengan seksama

dan dokumentasikan untuk memastikan progres dari proses alopecia-like.

⇒ **Waktu Pengamatan**

Validasi makroskopis dilakukan pada hari ke-14 setelah pemberian fluconazole. Pada waktu ini, perubahan yang signifikan pada kondisi rambut dan kulit tikus seharusnya sudah terlihat dengan jelas. Area yang mengalami kerontokan rambut mulai mengemuka dalam bentuk bercak atau area tanpa rambut yang jelas, menunjukkan bahwa tikus telah mengalami alopecia-like.

2. Hasil Pengamatan Makroskopis

⇒ **Kerontokan Rambut**

Kerontokan rambut mulai terlihat pada tikus yang diinduksi fluconazole, terutama pada area yang sebelumnya dicukur. Kerontokan ini muncul dalam bentuk bercak-bercak bulat atau tidak teratur pada kulit kepala atau punggung, sesuai dengan gejala alopecia areata atau telogen effluvium.

⇒ **Perubahan Kulit**

Selain kerontokan rambut, beberapa tikus menunjukkan tanda-tanda inflamasi seperti kemerahan atau pembengkakan ringan pada kulit di sekitar folikel

rambut yang hilang. Beberapa tikus juga menunjukkan peningkatan kelembaban atau kekeringan kulit pada area yang terkena alopecia.

⇒ **Perkembangan Area Kerontokan**

Pengamatan lanjutan menunjukkan bahwa area kerontokan rambut dapat berkembang atau menyusut tergantung pada kondisi tikus. Beberapa tikus mengalami penurunan ukuran area kerontokan setelah perlakuan, sementara yang lain mengalami peningkatan ukuran area kerontokan, yang menandakan progres dari alopecia-like.

3. Dokumentasi dan Validasi Makroskopis

Untuk mendukung temuan makroskopis, dokumentasi fotografis dilakukan untuk setiap fase pengamatan. Foto-foto ini digunakan untuk mencatat perubahan yang terjadi pada kulit dan rambut tikus.

4.5.4.2. Validasi Mikroskopis

Validasi dilakukan dengan mengamati jaringan yang diwarnai Hematoksilin-Eosin (HE) dengan menggunakan mikroskop digital.

- Sampel kulit diperoleh dari masing-masing kelompok dan digunakan untuk membuat potongan histologis menggunakan pewarnaan HE dan teknik paraffin.

- Sampel kulit tikus diperoleh dari masing-masing kelompok dan diawetkan dalam larutan NBF 10% atau Neutral Buffer Formalin.
- Sampel kulit dibersihkan dari sisa larutan fiksatif dengan membilasnya menggunakan alkohol 70%.
- Sampel ditandai dan ditempatkan dalam keranjang tisu setelah difiksasi dalam larutan BNF 10%.
- Alkohol absolut dan alkohol bergradasi 70, 80%, 90%, dan 96% digunakan untuk mendehidrasi sampel jaringan.
- Sampel dimasukkan ke dalam toluol selama satu jam, atau hingga menjadi bening atau transparan.
- Sampel kemudian diinfiltrasi menggunakan parafin dalam oven bersuhu 560° C. Caranya dengan memasukkannya ke dalam kombinasi toluol dan parafin dengan perbandingan 3:1, 1:1, dan 1:3 masing-masing selama 30 menit. Masing-masing selama tiga puluh menit, sampel kulit direndam dalam parafin murni I, parafin murni II, dan parafin murni III.
- Kemudian sampel ditanam (embedding) dalam parafin dan blocking ditunggu hingga paraffin mengeras.
- Dengan menggunakan mikrotom, potong blok jaringan menjadi irisan berukuran 6µm. Kemudian letakkan

potongan-potongan tersebut di atas permukaan kaca yang telah dilapisi perekat Mayer Albumin, ditetesi sedikit air suling, dan dipanaskan di atas hot plate hingga menempel sempurna.

- Sebelum pewarnaan jaringan, parafin dihilangkan (deparaffinisasi) dengan xylol selama sehari penuh.
- Pewarna HE digunakan untuk pewarnaan. Kertas kering digunakan untuk menyerap kandungan xylol, yang kemudian secara bertahap ditambahkan ke air sulingan dan larutan alkohol dengan persentase yang semakin rendah (96%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, dan 30%), masing-masing, untuk durasi 1-2 menit
- Setelah jaringan diwarnai selama 5–10 detik dengan hematoksilin, jaringan dibilas lagi selama 10 menit dengan air mengalir.
- Selama 3-5 menit, preparata direndam dalam alkohol masing-masing 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70%.
- Selanjutnya jaringan diwarnai dengan pewarnaan eosin selama 2 menit. Kemudian dikeringkan dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, dan 96%) masing-masing selama 3-5 menit.

- Setelah 15 menit clearing xylol, balsam Kanada ditetaskan ke dalam sediaan histologi.
- Memasang slide jaringan dengan kaca penutup, memberi label, dan memasukkannya ke dalam kotak sediaan melengkapi prosedur ini.
- Evaluasi jaringan kulit dilakukan dengan menggunakan mikroskop digital yang terhubung dengan perangkat lunak analisis digital.
- validasi alopecia-like dilakukan dengan mengamati preparat jaringan kulit yang diwarnai Hematoksin-Eosin (HE) menggunakan mikroskop digital. Kondisi alopecia-like ditandai dengan adanya degenerasi, atrofi, atau kerusakan folikel rambut, serta perubahan morfologi folikel seperti pemendekan atau gangguan siklus pertumbuhan rambut, ditemukan dominasi folikel rambut dalam fase telogen (fase istirahat), dan penurunan jumlah folikel aktif.

4.5.5. Terminasi dan Pengambilan Jaringan

Tikus diberikan kombinasi xylazine (20 mg/kgbb) dan ketamine (60 mg/kgbb) untuk menginduksi anestesi. Setelah tikus tidak responsif terhadap rangsangan, matikan tikus dengan dosis koktail yang mematikan. Kemudian organ kulit diambil dari bangkai tikus.⁴⁴

4.5.6. Cara Pembuatan Sampel Jaringan Kulit untuk Analisis ELISA

Setelah perlakuan pada tikus, jaringan kulit diambil dan dipotong kecil-kecil. Jaringan kulit tersebut kemudian dimasukkan ke dalam tabung sentrifuge dan dihancurkan menggunakan Phosphate-Buffered Saline (PBS) untuk memecah sel dan melepaskan sitokin yang terlarut. Homogenisasi dilakukan menggunakan vortex alat penghomogenisasi dengan kecepatan tinggi selama beberapa menit. Sampel yang telah terhomogenisasi disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan padatan jaringan dari cairan supernatant. Supernatan yang mengandung sitokin, seperti IFN- γ dan IL-15, kemudian dipindahkan ke tabung lain untuk dianalisis menggunakan ELISA.

4.5.7. Pembacaan Kadar IFN- γ dan IL-15 dengan *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

1. Persiapan Sampel Jaringan:

Jaringan kulit dari setiap tikus dihomogenisasi menggunakan buffer PBS sesuai volume yang ditentukan, lalu disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan padatan jaringan dari cairan supernatant. Supernatan yang mengandung sitokin, seperti IFN- γ dan IL-15, kemudian dipindahkan ke tabung lain untuk dianalisis menggunakan ELISA.

2. **Penyiapan Pelat ELISA:**

Pelat mikrotiter ELISA 96 well disiapkan untuk menampung seluruh sampel jaringan dari 6 kelompok (masing-masing 6 ekor), serta 6–8 titik kurva standar dan 1 blanko. Sampel dimasukkan ke dalam well sesuai urutan kelompok.

3. **Penambahan Sampel:**

Sebanyak 50 μ L supernatan jaringan ditambahkan ke masing-masing well yang telah dilapisi antibodi primer spesifik terhadap IFN- γ atau IL-15 (pre-coated). Pelat diinkubasi selama 1–2 jam pada suhu ruang sesuai protokol kit.

4. **Pencucian Pelat:**

Pelat dicuci 3–5 kali menggunakan wash buffer untuk menghilangkan sampel yang tidak berikatan. Pelat dikeringkan dengan tisu bebas serat.

5. **Penambahan Antibodi Sekunder:**

Sebanyak 50 μ L antibodi sekunder terkonjugasi dengan enzim HRP ditambahkan ke tiap well. Pelat diinkubasi kembali selama 30–60 menit.

6. **Pencucian Ulang:**

Pelat dicuci ulang 3–5 kali untuk menghilangkan antibodi sekunder yang tidak berikatan.

7. Penambahan Substrat TMB:

Substrat TMB ditambahkan ke tiap well dan diinkubasi selama 10–15 menit dalam kondisi gelap hingga warna biru muncul.

8. Penghentian Reaksi:

Sebanyak 50 μ L larutan stop ditambahkan ke masing-masing well untuk menghentikan reaksi, menghasilkan perubahan warna dari biru ke kuning.

9. Pembacaan Absorbansi:

Pelat dibaca menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 450 nm, dan nilai absorbansi tiap sampel dicatat.

10. Analisis Data

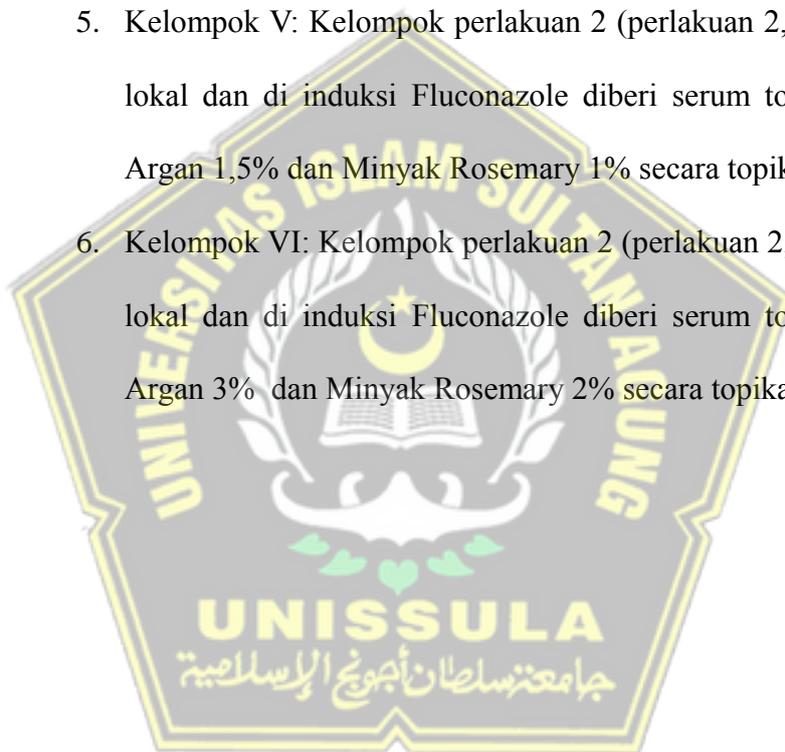
Kadar IFN- γ dan IL-15 dihitung berdasarkan kurva standar kit ELISA dan ditabulasi untuk dianalisis secara statistik.

4.5.8. Pembagian Kelompok

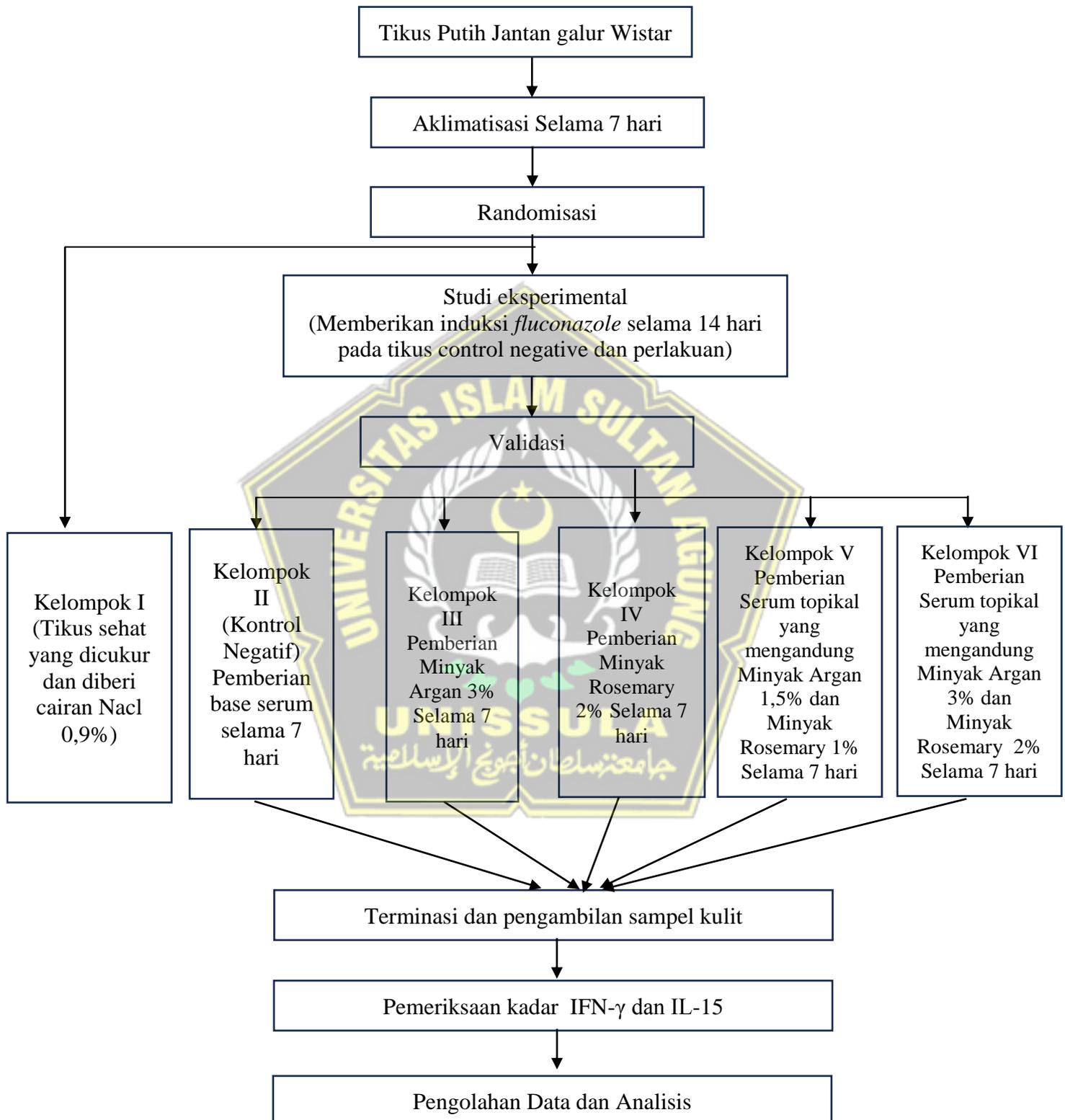
Kelompok perlakuan dibagi menjadi 4 dan tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

1. Kelompok I : Tikus Sehat di cukur dan tidak diberi perlakuan hanya di basuh NaCl 0,9%.
2. Kelompok II: Kelompok kontrol (Kontrol Negatif, tikus yang dicukur lokal dan di induksi Fluconazole diberi base serum topikal)

3. Kelompok III: Kelompok perlakuan 1 (perlakuan 1, tikus dicukur lokal dan di induksi Fluconazole diberi Minyak Argan 3% secara topikal)
4. Kelompok IV: Kelompok perlakuan 2 (perlakuan 2, tikus dicukur lokal dan di induksi Fluconazole diberi Minyak Rosemary 2% secara topikal)
5. Kelompok V: Kelompok perlakuan 2 (perlakuan 2, tikus dicukur lokal dan di induksi Fluconazole diberi serum topikal Minyak Argan 1,5% dan Minyak Rosemary 1% secara topikal)
6. Kelompok VI: Kelompok perlakuan 2 (perlakuan 2, tikus dicukur lokal dan di induksi Fluconazole diberi serum topikal Minyak Argan 3% dan Minyak Rosemary 2% secara topikal)



4.6. Alur Penelitian



Gambar 4.2 Alur Penelitian

4.7. Waktu dan Tempat Penelitian

4.7.1. Tempat Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Integrated Biomedical Laboratories (IBL) Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

4.7.2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dimulai bulan Juli-Agustus 2025, dimulai dengan persiapan peralatan, pemesanan reagensia, pemesanan serta persiapan hewan coba.

4.8. Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar IFN- γ dan IL-15 dalam jaringan dibersihkan, dikoreksi, dan ditabulasi, dilakukan uji deskriptif terhadap masing-masing variabel menggunakan skala data rasio. Uji normalitas data dilakukan dengan *Shapiro-Wilk*, sedangkan uji homogenitas varians dilakukan dengan uji *Levene*. Apabila data menunjukkan sebaran normal ($p > 0,05$) dan varian homogen ($p > 0,05$), maka dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok. Kelompok perlakuan yang memberikan perbedaan paling signifikan kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan uji *Post Hoc LSD*. Jika ditemukan data yang tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, maka dilakukan uji *Kruskal-Wallis*, yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* sebagai uji banding antar kelompok. Seluruh proses analisis data dilakukan

dengan menggunakan program *SPSS versi 26.0 for Windows* dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Hasil Penelitian

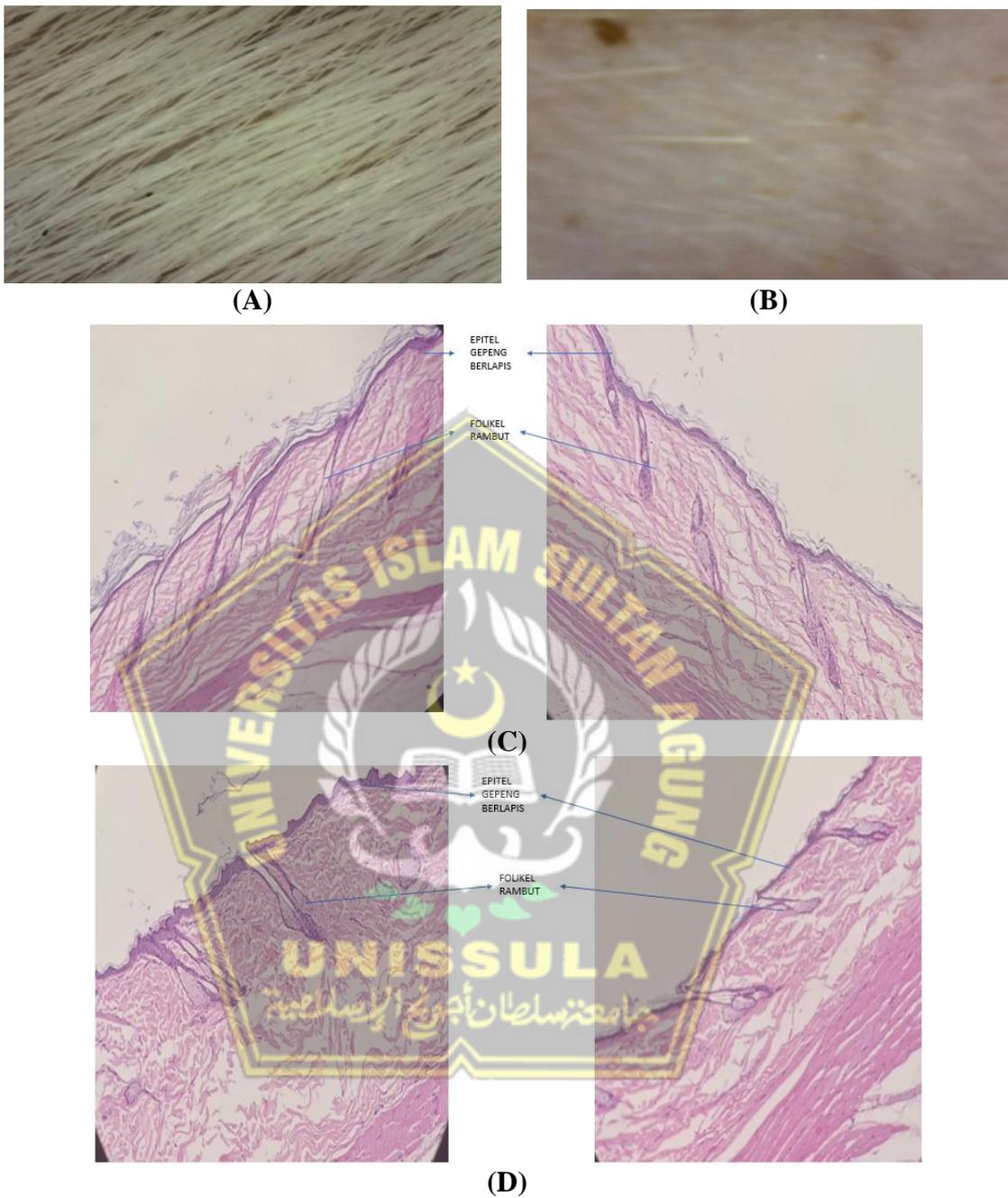
Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pengaruh serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal terhadap kadar IL-15 dan IFN- γ pada tikus Wistar model alopecia-like yang diinduksi fluconazole. Sebanyak 30 ekor tikus digunakan dalam penelitian ini dan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok 1 (K1) berfungsi sebagai kontrol sehat, dimana tikus hanya dicukur dan dibersihkan dengan NaCl 0,9% tanpa perlakuan lebih lanjut. Kelompok 2 (K2) sebagai kontrol negatif dicukur, diinduksi fluconazole, dan diberikan serum dasar topikal. Kelompok 3 (K3) diberikan minyak argan 3%, Kelompok 4 (K4) diberikan minyak rosemary 2%, Kelompok 5 (K5) diberikan kombinasi minyak argan 1,5% dan rosemary 1%, serta Kelompok 6 (K6) diberikan kombinasi minyak argan 3% dan rosemary 2%.

Induksi fluconazole dilakukan secara oral dengan dosis 35mg/kg/hari selama 14 hari berturut-turut untuk menciptakan kondisi alopecia-like. Setelah induksi, dilakukan validasi untuk memastikan model alopecia-like terbentuk dengan benar. Selanjutnya, serum topikal diberikan setiap hari selama 7 hari sesuai dengan kelompok perlakuan yang telah ditentukan. Selama penelitian, tidak terjadi kematian pada hewan coba, menunjukkan bahwa prosedur induksi dan pemberian serum dilakukan dengan aman tanpa

efek samping fatal. Pada hari ke-22, setelah 14 hari induksi dan 7 hari perlakuan, tikus dihentikan dan sampel jaringan kulit pada area perlakuan diambil. Sampel jaringan kemudian dianalisis menggunakan metode ELISA untuk mengukur kadar IL-15 sebagai indikator inflamasi dan IFN- γ sebagai respon imun, dengan tujuan untuk mengevaluasi perbedaan respons antar kelompok perlakuan.

5.1.1. Validasi Model *Alopecia-Like* pada Tikus

Paparan fluconazole secara topikal pada tikus Wistar selama 14 hari menyebabkan perubahan signifikan pada morfologi kulit, yang berbeda jelas dengan kondisi kulit normal. Observasi makroskopis menunjukkan bahwa kulit punggung tikus yang sehat sebelum induksi memiliki permukaan yang halus, rambut tumbuh merata, dan tidak ada perubahan warna atau kerusakan pada permukaan kulit (Gambar 5.1A). Namun, pada tikus yang telah diinduksi fluconazole, terlihat penurunan kepadatan rambut, perubahan warna kulit, serta munculnya bercak-bercak yang menandakan adanya proses patologis yang menyerupai kondisi alopecia-like (Gambar 5.1B).



Gambar 5.1. Validasi Makroskopis dan Mikroskopis: (A) Kulit punggung tikus sehat/normal, (B) Kondisi kulit punggung setelah induksi fluconazole selama 14 hari, (C) Hasil pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) tikus sehat, (D) Hasil pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE) tikus yang diinduksi fluconazole.

Analisis histopatologi menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) memperlihatkan perbedaan yang mencolok antara kulit

tikus yang sehat dan tikus yang diinduksi fluconazole. Pada kulit tikus sehat (Gambar 5.1C), tampak lapisan epitel gepeng berlapis yang teratur dan folikel rambut yang tetap utuh serta tersusun dengan baik. Sebaliknya, pada kulit tikus yang telah diinduksi fluconazole (Gambar 5.1D), terlihat kerusakan pada struktur histologis, dengan folikel rambut yang rusak, penurunan jumlah folikel rambut yang aktif, serta epitel yang lebih tipis dan tidak sekompak dengan kelompok tikus sehat. Temuan ini mengindikasikan bahwa induksi fluconazole selama 14 hari berhasil menciptakan model alopecia-like pada tikus Wistar. Model ini ditandai oleh perubahan makroskopis berupa penurunan jumlah rambut dan perubahan warna kulit, serta perubahan mikroskopis yang mencakup kerusakan pada struktur folikel rambut yang terdeteksi melalui pemeriksaan histopatologi.

Tabel 5.1. Hasil Pembacaan Pemeriksaan Histopatologi Folikel Rambut

Kelompok	N	Lapang Pandang Pembacaan 10x					Rata-rata
		I	II	III	IV	V	
Normal	1	5	7	10	7	10	7,8
Fluconazole	1	4	4	6	3	3	4,4

Tabel 5.1 menyajikan hasil penghitungan jumlah folikel rambut pada lima lapang pandang dengan perbesaran 10x. Pada kelompok kontrol normal, rata-rata jumlah folikel rambut tercatat sebesar 7,8, sementara pada kelompok yang diinduksi fluconazole, jumlah folikel rambut mengalami penurunan menjadi 4,4. Temuan ini menunjukkan perbedaan yang mencolok antara kelompok normal dan kelompok yang diberi induksi fluconazole. Penurunan jumlah

folikel rambut pada kelompok fluconazole menandakan bahwa induksi selama 14 hari berhasil menciptakan model alopecia-like pada tikus Wistar.

Secara histologis, penurunan ini tercermin dalam jumlah folikel rambut aktif yang lebih sedikit, yang dapat dilihat dalam lapang pandang mikroskopis. Fenomena ini menggambarkan proses patologis yang mirip dengan alopecia, di mana gangguan pada siklus pertumbuhan folikel rambut mengarah pada berkurangnya jumlah rambut yang tumbuh. Oleh karena itu, model alopecia-like yang diinduksi fluconazole dalam penelitian ini dapat dianggap valid untuk digunakan pada tahap uji perlakuan. Secara histologis, terlihat penurunan jumlah folikel rambut yang signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal, yang memperkuat kesesuaian model ini untuk mengevaluasi efektivitas agen terapeutik yang bertujuan merangsang pertumbuhan rambut.

5.1.2. Pemeriksaan Kadar IL-15

Berdasarkan Tabel 5.2, rerata kadar IL-15 tertinggi ditemukan pada kelompok K3 ($62,26 \pm 6,39$), diikuti berturut-turut oleh K4 ($56,86 \pm 6,26$), K5 ($56,82 \pm 1,83$), K2 ($56,14 \pm 2,40$), K6 ($54,48 \pm 2,15$), dan yang terendah pada K1 ($52,20 \pm 2,26$). Uji normalitas dengan *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai $p > 0,05$ pada hampir seluruh kelompok, kecuali K4 ($p = 0,003$), sehingga secara keseluruhan distribusi data tidak sepenuhnya normal. Selanjutnya, uji

homogenitas varians menggunakan *Levene's Test* memberikan hasil $p=0,021$ ($p<0,05$), yang menunjukkan bahwa varians antar kelompok tidak homogen. Analisis dilanjutkan menggunakan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis*, yang menghasilkan $p=0,048$ ($p<0,05$), menandakan adanya perbedaan bermakna kadar IL-15 antar kelompok perlakuan.

Tabel 5.2. Hasil Pemeriksaan Rerata Kadar IL-15

Variabel	Kelompok						<i>p value</i>
	K1 Mean± SD	K2 Mean± SD	K3 Mean± SD	K4 Mean ±SD	K5 Mean ± SD	K6 Mean ± SD	
Kadar IL-15	52.20 ± 2.26	56.14 ± 2.40	62.26 ± 6.39	56.86 ± 6.26	56.82 ± 1.83	54.48 ±2.15	
<i>Saphiro Wilk</i>	0.917	0.069	0.226	0.003	0.344	0.178	
<i>Levene's Test</i>							0.021
<i>Kruskal Wallis</i>							0.048*

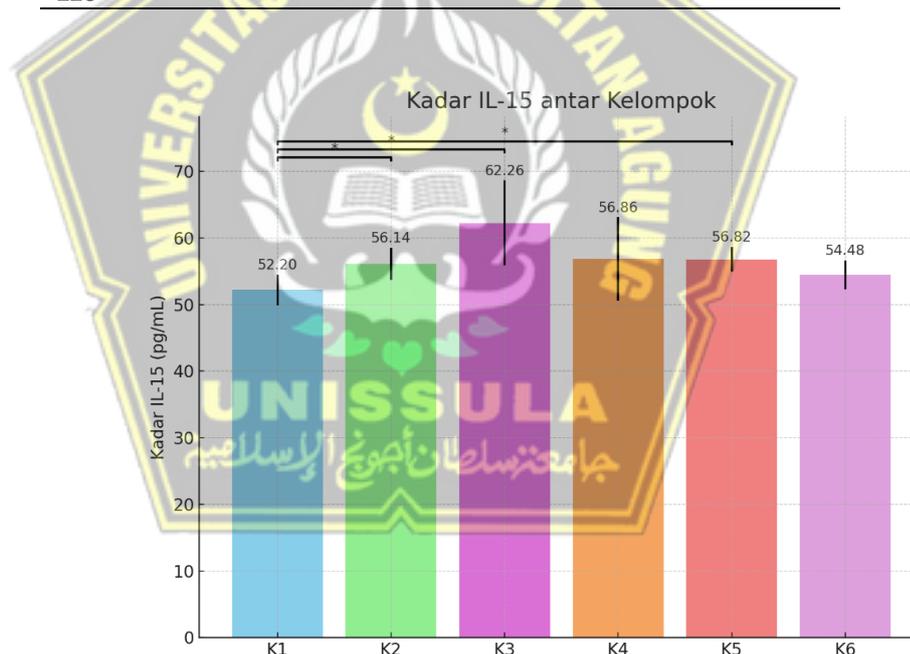
*: berpengaruh signifikan

Uji *Mann-Whitney* terhadap kadar IL-15 pada tabel 5.3 menunjukkan adanya perbedaan bermakna ($p<0,05$) antara K1 dengan K2, K3, dan K5, sedangkan perbandingan K1 dengan K4 maupun K1 dengan K6, serta antar pasangan kelompok lainnya tidak menunjukkan perbedaan signifikan ($p>0,05$). Kondisi ini menggambarkan bahwa kadar IL-15 pada sebagian besar kelompok masih berada dalam rentang yang berdekatan dengan tumpang tindih nilai, sehingga selisih rerata tidak cukup besar untuk bermakna secara statistik. Variasi data yang relatif tinggi pada beberapa

kelompok juga turut memengaruhi hasil tersebut. Secara keseluruhan, peningkatan kadar IL-15 lebih jelas terlihat pada perbandingan kelompok kontrol sehat (K1) dengan K2, K3, dan K5, sedangkan kelompok lainnya menunjukkan kadar yang relatif setara.

Tabel 5.3. Perbandingan Rerata Kadar IL-15 antar Kelompok Perlakuan

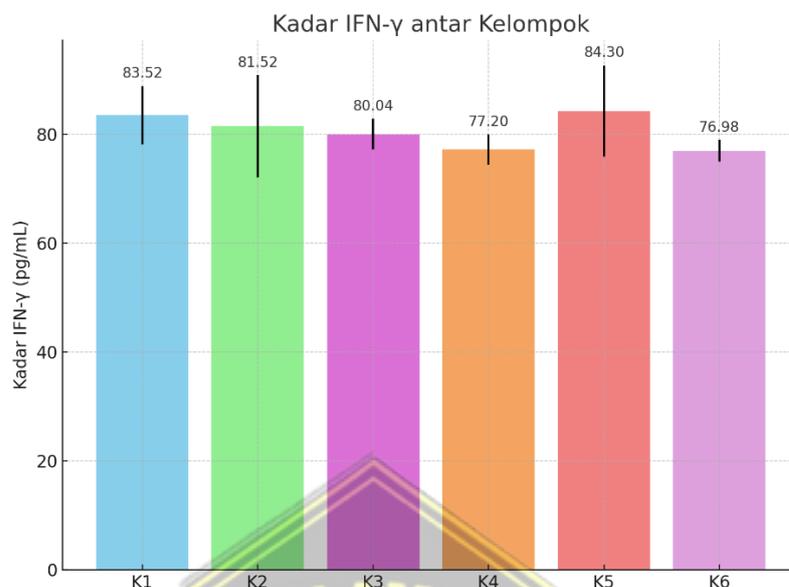
Kadar IL-15						
Kelompok	K1	K2	K3	K4	K5	K6
K1	-	0.028*	0.028*	0.117	0.016*	0.142
K2		-	0.076	0.465	0.347	0.347
K3			-	0.465	0.175	0.117
K4				-	0.251	0.530
K5					-	0.117
K6						-



Gambar 5.2. Kadar IL-15 pada Jaringan Tikus

5.1.3. Pemeriksaan Kadar IFN- γ

Berdasarkan Tabel 5.4, rerata kadar IFN tertinggi terdapat pada kelompok K5 ($84,30 \pm 8,40$), diikuti oleh K1 ($83,52 \pm 5,36$), K2 ($81,52 \pm 9,38$), K3 ($80,04 \pm 2,85$), K6 ($76,98 \pm 1,96$), dan paling



Gambar 5.3. Kadar IFN- γ pada Jaringan Tikus

5.2. Pembahasan

Induksi fluconazole selama 14 hari terbukti berhasil menciptakan model alopecia-like pada tikus Wistar. Secara makroskopis, tikus yang diinduksi menunjukkan penurunan kepadatan rambut, bercak-bercak pada kulit, serta perubahan warna dibandingkan kelompok sehat. Kondisi ini sesuai dengan mekanisme kerja fluconazole yang menghambat enzim sitokrom P450, mengganggu sintesis sterol, dan merusak integritas membran sel, sehingga menimbulkan stres oksidatif serta inflamasi lokal. Pemeriksaan histopatologi memperkuat temuan tersebut, di mana kelompok induksi memperlihatkan penurunan signifikan jumlah folikel rambut aktif (rata-rata 4,4) dibandingkan kelompok sehat (rata-rata 7,8). Kerusakan struktur folikel, epitel yang menipis, dan penurunan folikel aktif menunjukkan bahwa induksi fluconazole berhasil membentuk kondisi alopecia-like yang valid sebagai model penelitian.⁴⁵

Minyak argan mengandung komponen bioaktif utama berupa asam lemak tak jenuh (oleat 42–48%, linoleat 30–38%), tokoferol, polifenol, sterol, serta squalene. Kandungan linoleat berperan penting dalam menjaga fluiditas membran dan mengatur fungsi barier kulit, sementara tokoferol dan polifenol memiliki kapasitas sebagai scavenger radikal bebas. Aktivasi jalur Nrf2–ARE oleh polifenol argan meningkatkan ekspresi enzim antioksidan seperti superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), dan catalase, yang secara langsung menekan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) akibat stres oksidatif induksi fluconazole. Selain itu, argan oil terbukti menurunkan ekspresi NF- κ B, suatu faktor transkripsi kunci yang mengatur ekspresi sitokin proinflamasi (IL-1 β , TNF- α , IL-6). Maka, minyak argan menyiapkan kondisi jaringan yang lebih tenang secara imunologis, sehingga memungkinkan proliferasi sel imun regulator dan faktor regeneratif bekerja optimal.^{46,47}

Sebaliknya, minyak rosemary mengandung senyawa aktif seperti carnosic acid, carnosol, rosmarinic acid, dan 1,8-cineole. Carnosic acid bekerja melalui aktivasi jalur MAPK–ERK yang mendorong proliferasi sel, termasuk sel T CD8⁺ dan sel NK. Rosmarinic acid memiliki efek imunomodulator yang lebih kompleks; ia dapat menstimulasi jalur JAK–STAT, khususnya STAT5, yang terkait dengan transkripsi IL-15. Sementara itu, carnosol dan 1,8-cineole diketahui bersifat antiinflamasi dengan menghambat pelepasan prostaglandin E2 dan leukotrien, sehingga menekan inflamasi akut. Dengan demikian, rosemary oil berfungsi sebagai

imunostimulan adaptif sekaligus pengendali inflamasi, suatu kombinasi yang relevan dalam konteks alopecia yang memiliki komponen imunopatologis kuat.^{48,49}

Kadar IL-15 terendah ditemukan pada kelompok kontrol sehat (K1) yaitu $52,20 \pm 2,26$. Nilai ini dapat dianggap sebagai kadar fisiologis IL-15 normal pada folikel rambut sehat. Setelah diinduksi fluconazole, kadar IL-15 pada kelompok kontrol negatif (K2) meningkat menjadi $56,14 \pm 2,40$, dengan perbedaan signifikan dibanding K1 ($p=0,028$). Peningkatan ini merefleksikan adanya respon kompensasi jaringan terhadap kerusakan folikel akibat stres oksidatif, karena IL-15 diketahui berperan dalam homeostasis folikel rambut dan proliferasi sel stem.⁵⁰

Pada kelompok perlakuan argan 3% (K3), kadar IL-15 meningkat lebih jauh menjadi $62,26 \pm 6,39$, tertinggi di antara semua kelompok, dan berbeda signifikan dibanding K1 ($p=0,028$). Hasil ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa argan oil kaya akan polifenol dan tokoferol yang mampu mengaktivasi jalur Nrf2–ARE, meningkatkan ekspresi enzim antioksidan, serta menurunkan ekspresi NF- κ B. Efek ini menciptakan lingkungan jaringan yang lebih kondusif untuk proliferasi sel imun regulator dan sel stem folikel rambut.^{46,47}

Perlakuan rosemary 2% (K4) menghasilkan kadar IL-15 sebesar $56,86 \pm 6,26$. Nilai ini lebih tinggi dari kontrol sehat namun tidak berbeda signifikan, menunjukkan bahwa rosemary memberikan stimulasi regeneratif meski efeknya lebih lemah dibanding argan. Mekanisme rosemary terkait

dengan kandungan rosmarinic acid dan carnosic acid yang mengaktifkan jalur JAK-STAT5, sehingga meningkatkan transkripsi IL-15.^{48,49} Kombinasi argan 1,5% + rosemary 1% (K5) menghasilkan kadar IL-15 sebesar $56,82 \pm 1,83$. Kelompok ini berbeda signifikan dengan kontrol sehat ($p=0,016$), menandakan adanya sinergi antara proteksi antioksidan argan dan stimulasi imunomodulator rosemary. Kombinasi dosis lebih tinggi (argan 3% + rosemary 2%) pada K6 memberikan kadar IL-15 $54,48 \pm 2,15$. Meski lebih tinggi dibanding K1, perbedaannya tidak signifikan. Hal ini mungkin disebabkan oleh dosis yang terlalu tinggi sehingga memunculkan mekanisme kompensasi atau efek saturasi.⁴⁸

Hasil analisis kadar IL-15 menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan ($p=0,048$), dengan peningkatan signifikan terutama pada kelompok argan 3% (K3) dan kombinasi argan 1,5% + rosemary 1% (K5) dibandingkan kontrol sehat. Peningkatan IL-15 ini berhubungan langsung dengan observasi makroskopis pada gambar 5.1 berupa peningkatan kepadatan rambut serta perbaikan permukaan kulit pada kelompok perlakuan. Konsistensi antara perubahan histopatologi, yaitu peningkatan jumlah folikel aktif, dengan tingginya kadar IL-15 mendukung peran sitokin ini sebagai faktor regeneratif yang memicu fase anagen pada folikel rambut. Dengan demikian, hasil IL-15 yang signifikan menguatkan validasi model bahwa perbaikan makroskopis setelah perlakuan memang berkorelasi dengan respons imunologis yang terukur.

Secara keseluruhan, hasil IL-15 menunjukkan bahwa perlakuan dengan argan, rosemary, maupun kombinasinya mampu meningkatkan kadar sitokin regeneratif dibanding kelompok sehat, dengan efek paling menonjol pada kelompok argan 3% (K3). Temuan ini memperkuat peran IL-15 sebagai faktor penting dalam mempertahankan homeostasis folikel rambut dan memicu fase anagen.⁵¹

Analisis kadar IFN- γ menunjukkan hasil yang tidak bermakna secara statistik antar kelompok ($p=0,262$). Ketidakbermaknaan ini menggambarkan bahwa meskipun terdapat perbedaan rerata, respons inflamasi pada model tetap berada dalam batas fisiologis. Temuan ini konsisten dengan validasi makroskopis pada gambar 5.1 yang tidak memperlihatkan tanda-tanda inflamasi berat atau kerusakan kulit yang progresif, melainkan lebih dominan pada perubahan kepadatan rambut dan morfologi folikel. Stabilitas kadar IFN- γ dapat dipandang sebagai indikator bahwa perbaikan makroskopis yang terjadi pada kelompok perlakuan tidak diiringi peningkatan proses inflamasi yang merugikan. Dengan demikian, pola ini menegaskan bahwa model alopecia-like yang dibentuk menampilkan dinamika imun yang lebih terarah pada regenerasi (IL-15) tanpa dipengaruhi oleh fluktuasi berlebihan sitokin proinflamasi (IFN- γ).

Pada kelompok kontrol sehat (K1), kadar IFN- γ tercatat $83,52 \pm 5,36$, yang mencerminkan ekspresi fisiologis normal dari sitokin Th1. Pada kelompok kontrol negatif (K2), nilai turun sedikit menjadi $81,52 \pm 9,38$, tanpa perbedaan signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun

fluconazole memicu inflamasi, peningkatan IFN- γ tidak cukup tinggi untuk bermakna secara statistik. Kelompok perlakuan argan 3% (K3) memiliki kadar IFN- γ $80,04 \pm 2,85$, sementara rosemary 2% (K4) justru lebih rendah yaitu $77,20 \pm 2,82$. Kedua nilai ini tidak berbeda signifikan dibanding kontrol, namun menunjukkan adanya kecenderungan penurunan. Mekanisme ini dapat dijelaskan oleh sifat antiinflamasi argan yang menekan ekspresi NF- κ B, serta peran rosemary dalam menghambat pelepasan prostaglandin E2 dan leukotrien.^{52,53}

Pada kelompok kombinasi, K5 (argan 1,5% + rosemary 1%) justru memiliki kadar IFN- γ tertinggi yaitu $84,30 \pm 8,40$, meskipun tidak bermakna secara statistik. Sementara K6 (argan 3% + rosemary 2%) memiliki kadar IFN- γ terendah yaitu $76,98 \pm 1,96$. Fluktuasi ini menandakan bahwa kombinasi minyak dapat memengaruhi regulasi IFN- γ secara kompleks, namun tetap dalam batas fisiologis. Stabilitasnya kadar IFN- γ pada seluruh kelompok merupakan hal positif, karena peningkatan berlebihan sitokin ini diketahui dapat memicu destruksi autoimun folikel rambut pada alopecia.^{53,54}

Maka, penelitian ini menunjukkan pola imunomodulasi yang selektif: peningkatan IL-15 sebagai sitokin regeneratif, disertai kestabilan IFN- γ yang menghindarkan kerusakan folikel. Hal ini sesuai dengan konsep bahwa IL-15 dapat mendukung proliferasi sel stem folikel, sementara IFN- γ berlebih justru memperparah alopecia.^{51,52,55}

Penelitian ini memiliki keterbatasan pada ukuran sampel, yaitu hanya lima ekor tikus dalam setiap kelompok. Jumlah tersebut menyebabkan variasi data antar individu cukup tinggi dan dapat memengaruhi kekuatan analisis statistik, sehingga generalisasi hasil harus dilakukan dengan hati-hati. Durasi perlakuan yang singkat, yakni tujuh hari setelah fase induksi fluconazole, juga menjadi keterbatasan penting. Siklus pertumbuhan rambut pada mamalia berlangsung dalam fase-fase yang kompleks dan memerlukan waktu lebih panjang untuk menampilkan perubahan morfologis yang optimal. Waktu intervensi yang terbatas kemungkinan belum mampu menggambarkan secara menyeluruh efek jangka panjang dari kombinasi minyak argan dan rosemary.

Metode pengukuran sitokin yang digunakan, yaitu ELISA pada jaringan kulit dengan pendekatan *endpoint*, hanya memberikan gambaran kondisi akhir tanpa memperlihatkan dinamika perubahan sitokin sejak awal induksi hingga akhir perlakuan. Desain penelitian dengan pengukuran serial akan lebih mampu menjelaskan pola respons imun secara menyeluruh. Keterbatasan-keterbatasan tersebut tidak mengurangi kontribusi penelitian ini dalam memberikan bukti awal mengenai potensi kombinasi minyak argan dan rosemary sebagai terapi topikal alopecia.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

- 1) Pemberian serum kombinasi minyak argan dan minyak rosemary topikal pada tikus Wistar model alopecia-like yang diinduksi fluconazole berpengaruh signifikan terhadap kadar IL-15 ($p=0,048$). Kadar IL-15 terendah terdapat pada kelompok kontrol sehat (K1) sebesar $52,20 \pm 2,26$, sedangkan kadar tertinggi ditemukan pada kelompok minyak argan 3% (K3) sebesar $62,26 \pm 6,39$. Kombinasi argan 1,5% + rosemary 1% (K5) juga menunjukkan peningkatan signifikan dibanding kontrol sehat ($56,82 \pm 1,83$; $p=0,016$). Kombinasi argan 3% + rosemary 2% (K6) memberikan kadar $54,48 \pm 2,15$ yang lebih tinggi dari kontrol namun tidak bermakna. Hasil ini menegaskan bahwa perlakuan, khususnya argan 3% maupun kombinasi argan–rosemary dosis seimbang, mampu meningkatkan faktor regeneratif berupa IL-15 pada jaringan folikel rambut.
- 2) Pemberian serum topikal minyak argan dan rosemary tidak memberikan perbedaan bermakna terhadap kadar IFN- γ antar kelompok ($p=0,262$). Nilai rerata kadar IFN- γ relatif seragam, dengan kontrol sehat (K1) sebesar $83,52 \pm 5,36$, kontrol negatif (K2) $81,52 \pm 9,38$, argan 3% (K3) $80,04 \pm 2,85$, rosemary 2% (K4) $77,20 \pm 2,82$, kombinasi argan 1,5% + rosemary 1% (K5) $84,30 \pm 8,40$, dan kombinasi argan 3% + rosemary

2% (K6) $76,98 \pm 1,96$. Stabilitasnya kadar IFN- γ menunjukkan bahwa meskipun terdapat peningkatan IL-15 pada kelompok perlakuan, respons imun proinflamasi yang dimediasi IFN- γ tidak teraktivasi secara berlebihan, sehingga perlakuan topikal ini tidak memicu kerusakan folikel lebih lanjut.

6.2. Saran

- 1) Penelitian selanjutnya disarankan untuk memperpanjang periode aplikasi serum kombinasi minyak argan dan rosemary, tidak terbatas hanya 7 hari, melainkan hingga 14–28 hari, guna mengevaluasi efek jangka panjang terhadap regulasi IL-15, IFN- γ , serta fase pertumbuhan folikel rambut.
- 2) Perlu dilakukan eksplorasi variasi konsentrasi kombinasi, termasuk dosis menengah, untuk memperoleh hubungan dosis–respon yang lebih jelas dan menentukan dosis minimal yang tetap memberikan efektivitas optimal dengan efek samping yang rendah.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hwang A, Brady K, Liu R, Lio P. Complementary and Alternative Therapies for Alopecia Areata.
2. Zhou C, Li X, Wang C, Zhang J. Alopecia Areata: an Update on Etiopathogenesis, Diagnosis, and Management. Vol. 61, Clinical Reviews in Allergy and Immunology. Springer; 2021. p. 403–23.
3. Purba HHS, Yasmon A. Potential biomarkers of IFN- γ , IL-2 and CXCL9 for diagnosis of Q fever disease. Indonesian Journal of Biomedicine and Clinical Sciences. 2024 Apr 24;56(2).
4. Serrafi A, Chegdani F, Bennis F, Kepinska M. The Importance of Argan Oil in Medicine and Cosmetology. Vol. 16, Nutrients . Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI); 2024.
5. de Macedo LM, Dos Santos ÉM, Militão L, Tundisi LL, Ataide JA, Souto EB, et al. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *salvia rosmarinus* spenn.) and its topical applications: A review. Vol. 9, Plants. MDPI AG; 2020.
6. Anindhita A, Ardhaninggar A, Setyaningrum T. Studi Retrospektif: Alopecia Areata A Retrospektif Study: Alopecia Areata.
7. Instructor T. Hair Growth Promotion of Argan Oil (*Argania Spinosa* Skeels) Nanoemulsion Hair Tonic Preparation With Mice (*Mus Musculus*).
8. Alburyhi MM, Alghorafi M, Abd M, Al-Ghorafi H. EFFECT OF ROSEMARY AND MYRTUS EXTRACTS COMBINATION ON ANDROGENETIC ALOPECIA: A COMPARATIVE STUDY WITH MINOXIDIL" [Internet]. Vol. 10, European Journal of Pharmaceutical and Medical Research www.ejpmr.com |. 2023. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/374945356>
9. Ebrahim AA, Salem RM, Fallah AA El, Younis ET. Serum interleukin-15 is a marker of alopecia areata severity. *Int J Trichology*. 2019 Jan 1;11(1):26–30.

10. Agamia N, Apalla Z, El Achy S, Abdelmaksoud E, Kandil N, Abozeid S. Interferon-gamma serum level and immunohistochemical expression of CD8 cells in tissue biopsies in patients with alopecia areata in correlation with trichoscopic findings. *Dermatol Ther.* 2020 Jul 1;33(4).
11. 31.Rosemary oil vs minoxidil research.
12. Thompson Iii GR, Krois CR, Affolter VK, Everett AD, Katarina Varjonen E, Sharon VR, et al. Examination of Fluconazole-Induced Alopecia in an Animal Model and Human Cohort. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1128/AAC>
13. El Aziz Ragab MA, Hassan EM, EL Moaty El Niely DA, Mohamed MM. Serum level of interleukin-15 in active alopecia areata patients and its relation to age, sex, and disease severity. *Postepy Dermatol Alergol.* 2021;37(6):904–8.
14. Passeron T, King B, Seneschal J, Steinhoff M, Jabbari A, Ohyama M, et al. Inhibition of T-cell activity in alopecia areata: recent developments and new directions. Vol. 14, *Frontiers in Immunology.* Frontiers Media SA; 2023.
15. Khalil DY, Hassan OM. Anti-inflammatory and Antioxidant Activity of Rosemary Essential Oil. *Journal of Angiotherapy.* 2024;8(4).
16. Tomaszewska K, Kozłowska M, Kaszuba A, Lesiak A, Narbutt J, Zalewska-Janowska A. Increased Serum Levels of IFN- γ , IL-1 β , and IL-6 in Patients with Alopecia Areata and Nonsegmental Vitiligo. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020.
17. Hangasky JA, Waldmann TA, Santi D V. Interleukin 15 Pharmacokinetics and Consumption by a Dynamic Cytokine Sink. Vol. 11, *Frontiers in Immunology.* Frontiers Media S.A.; 2020.
18. Sarode VV, Gautam SP. Evaluation of betulin for hair growth promoting activity in rats. *International Journal of Pharmaceutical Chemistry and Analysis.* 2024 Mar 28;11(1):62–71.
19. Luoto R, Ruuskanen O, Ihalainen JK, Pekkala S, Hintikka J, Kanerva N, et al. Inflammatory Biomarkers in Elite Cross-Country Skiers After a

- Competition Season: A Case–Control Study. *Journal of Science in Sport and Exercise*. 2023 Aug 1;5(3):254–62.
20. Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN- γ): Exploring its implications in infectious diseases. Vol. 9, *Biomolecular Concepts*. Walter de Gruyter GmbH; 2018. p. 64–79.
 21. Rajabi F, Drake LA, Senna MM, Rezaei N. Alopecia areata: a review of disease pathogenesis. Vol. 179, *British Journal of Dermatology*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 1033–48.
 22. Sinclair RD. Healthy hair: What is it? In: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*. Nature Publishing Group; 2007. p. 2–5.
 23. Scala M Di, Gil-Fariña I, Olagüe C, Vales A, Sobrevals L, Fortes P, et al. Identification of IFN- γ -producing T cells as the main mediators of the side effects associated to mouse interleukin-15 sustained exposure [Internet]. Vol. 7. Available from: www.impactjournals.com/oncotarget
 24. Louati M, Ucarli C, Arikan B, Ghada B, Hannachi AS, Turgut-Kara N. Genetic, morphological, and biochemical diversity of argan tree (*Argania spinosa* L.) (sapotaceae) in Tunisia. *Plants*. 2019 Sep 1;8(9).
 25. Azizi SE, Dalli M, Roubi M, Moon S, Berrichi A, Maleb A, et al. Insights on Phytochemistry and Pharmacological Properties of *Argania spinosa* L. Skeels: A Comprehensive Review. *ACS Omega*. American Chemical Society; 2024.
 26. Qiu Kaidi WS et al. Rosemary: Unrevealing an old aromatic crop as a newsorce of promising functional food additive—A review. *Comprehensive reviews in food science dan food safety*. 2023 [cited 2025 Aug 19]; Available from: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.13273>
 27. Borges RS, Ortiz BLS, Pereira ACM, Keita H, Carvalho JCT. *Rosmarinus officinalis* essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. Vol. 229, *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier Ireland Ltd; 2019. p. 29–45.