



Optimasi Kombinasi Ramuan Etnomedisin Penumbuh Rambut Nusa Tenggara Timur Menggunakan *Orthogonal Stimulus Response Method* Pada Kepadatan Rambut Mencit (*Mus musculus*)

¹Maximus M. Taek, ²Dewi Sinta Megawati, ³Erlangga Sufi Subiyakto, ⁴Zahra Khoirunnisa, ⁵Novia Maulina, ⁶Faisal Akhmal Muslikh ^{7*}Burhan Ma'arif

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Katolik Widya Mandira, Kupang, Indonesia

^{2,3,4,5,7*}Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.

⁶Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Hang Tuah, Surabaya, Indonesia.

*Corresponding Author e-mail: burhan.maarif@farmasi.uin-malang.ac.id

Received: October 2025; Revised: November 2025; Accepted: December 2025; Published: December 2025

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi kombinasi Ramuan Etnomedisin Nusa Tenggara Timur (RENTT) sebagai kandidat penumbuh rambut berbahan alam serta mengevaluasi aktivitas antioksidan dan efektivitas biologisnya pada model alopecia. Penelitian dilakukan menggunakan desain eksperimental murni melalui pendekatan Taguchi–Orthogonal Stimulus Response Method (OSRM) untuk menentukan kombinasi optimal lima ekstrak tanaman, yaitu *Aleurites moluccanus*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Ficus benjamina*, *Polyscias scutellaria*, dan *Hibiscus tiliaceus*. Tahap optimasi in vitro dilakukan menggunakan uji aktivitas antioksidan metode DPPH dengan rancangan orthogonal array L27. Kombinasi optimal selanjutnya diuji secara in vivo pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi alopecia menggunakan croton oil, dengan parameter utama berupa persentase kepadatan rambut berdasarkan analisis histomorfometri hematoksin–eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi optimal RENTT memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 27,46 ppm. Analisis Taguchi mengidentifikasi *F. benjamina* sebagai faktor paling berpengaruh dalam formula optimal. Uji in vivo memperlihatkan bahwa kelompok RENTT menghasilkan kepadatan rambut tertinggi (49,45 ± 4,70) dan berbeda signifikan dibandingkan kontrol positif, kontrol negatif, dan kontrol normal. Simpulan penelitian ini menegaskan bahwa RENTT optimal memiliki potensi kuat sebagai kosmesetikal penumbuh rambut berbasis kearifan lokal Nusa Tenggara Timur dengan dukungan bukti ilmiah in vitro dan in vivo.

Kata Kunci: RENTT; flavonoid; antioksidan; Taguchi; Wnt/β-catenin

Abstract: This study aimed to optimize a traditional ethnomedicinal formulation from East Nusa Tenggara (RENTT) as a natural hair-growth candidate and to evaluate its antioxidant activity and biological effectiveness using an alopecia model. A true experimental design was applied using the Taguchi–Orthogonal Stimulus Response Method (OSRM) to determine the optimal combination of five plant extracts, namely *Aleurites moluccanus*, *Hibiscus rosa-sinensis*, *Ficus benjamina*, *Polyscias scutellaria*, and *Hibiscus tiliaceus*. In vitro optimization was conducted using the DPPH radical scavenging assay with a Taguchi L27 orthogonal array design. The optimal formulation was subsequently evaluated in vivo using male mice (*Mus musculus*) with croton oil-induced alopecia. Hair growth effectiveness was assessed based on hair density percentage through histomorphometric analysis with hematoxylin–eosin staining. The results demonstrated that the optimal RENTT formulation exhibited very strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 27.46 ppm. Taguchi analysis identified *F. benjamina* as the most influential factor in determining formulation performance. In vivo evaluation showed that the RENTT-treated group achieved the highest hair density (49.45 ± 4.70), which was significantly higher than that of the positive control, negative control, and normal control groups. In conclusion, the optimized RENTT formulation demonstrates strong antioxidant properties and a significant stimulatory effect on hair growth, indicating its promising potential as a natural cosmeceutical product based on the local wisdom of East Nusa Tenggara.

Keywords: RENTT; flavonoids; antioxidant; Taguchi; Wnt/β-catenin

How to Cite: Taek, M. M., Megawati, D. S., Subiyakto, E. S., Khoirunnisa, Z., Maulina, N., Muslikh, F. A., & Ma'arif, B. (2025). Optimasi Kombinasi Ramuan Etnomedisin Penumbuh Rambut Nusa Tenggara Timur Menggunakan Orthogonal Stimulus Response Method Pada Kepadatan Rambut Mencit (*Mus musculus*). *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 13(4), 2730–2741. <https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18301>



<https://doi.org/10.33394/bioscientist.v13i4.18301>

Copyright© 2025, Taek et al

This is an open-access article under the CC-BY-SA License.



PENDAHULUAN

Kanker merupakan salah satu penyebab utama kematian di seluruh dunia dan menjadi tantangan serius bagi kesehatan masyarakat global. Data *Global Cancer Statistics (Globocan)* tahun 2022 mencatat 19,9 juta kasus baru dengan 9,7 juta kematian akibat kanker, sedangkan di Indonesia terdapat 396.914 kasus baru dan 234.511 kematian pada periode yang sama (Globocan, 2022; Kemenkes RI, 2022). Beban ini berdampak luas terhadap kualitas hidup, produktivitas, dan pembiayaan kesehatan. Kemoterapi tetap menjadi salah satu pilar utama penatalaksanaan kanker yang bekerja dengan menekan proliferasi sel ganas melalui mekanisme sitotoksik yang menargetkan sel ber-replikasi cepat, sehingga berkontribusi pada pengendalian penyakit dan peningkatan kelangsungan hidup. Namun, rejimen kemoterapi kerap menimbulkan efek samping multimodal, seperti mual, muntah, neuropati perifer, mielosupresi, gangguan kognitif, *fatigue*, hingga *chemotherapy-induced alopecia* (CIA) yang memicu masalah fisiologis dan psikologis, menurunkan kualitas hidup, serta berpotensi mengganggu kepatuhan terapi (Saraswat et al., 2020; Perez et al., 2024).

Salah satu efek samping kemoterapi yang paling berdampak adalah *chemotherapy-induced alopecia* (CIA), yaitu kerontokan rambut akibat obat sitotoksik yang menyerang sel matriks rambut pada fase anagen (Melani dkk., 2019). Kehilangan rambut tidak hanya memengaruhi penampilan, tetapi juga berdampak pada harga diri, citra tubuh, dan kualitas hidup pasien. Lebih dari 80% pasien menganggap CIA sebagai efek samping paling menyedihkan dari pengobatan kanker (Perez et al., 2024). Terapi farmakologis seperti minoksidil, finasterid, dan dutasterid yang telah disetujui *Food and Drug Administration* (FDA) digunakan untuk merangsang pertumbuhan rambut pada pasien dengan kerontokan rambut (Fakhrizal & Saputra, 2020). Minoksidil, sebagai standar terapi, bekerja dengan melebarkan pembuluh darah dan memperpanjang fase anagen folikel rambut, namun sering menimbulkan efek samping seperti iritasi kulit kepala, dermatitis kontak, pertumbuhan rambut pada area nonterapi, serta potensi karsinogenik. Selain itu, harga yang relatif tinggi membuatnya sulit dijangkau sebagian besar pasien di negara berkembang, sehingga menurunkan kepatuhan terapi. Pendekatan nonfarmakologis seperti *scalp cooling* juga mulai diterapkan untuk mencegah CIA, tetapi metode ini memerlukan fasilitas khusus, menimbulkan ketidaknyamanan, dan tidak selalu efektif pada semua rejimen kemoterapi (Rossi et al., 2020; Shadi, 2023). Kondisi ini menegaskan perlunya alternatif terapi yang memiliki potensi keamanan dan selaras dengan kearifan lokal, terutama bagi masyarakat Indonesia yang kaya sumber daya hayati serta tradisi pengobatan berbasis etnomedisin yang lebih aman dan terjangkau.

Indonesia memiliki keragaman hayati dan pengetahuan etnomedisin yang luas, namun pemanfaatannya sebagai terapi alternatif *chemotherapy-induced alopecia* (CIA) masih terbatas dan jarang divalidasi melalui pendekatan ilmiah (Upa et al., 2023). Formulasi herbal berbasis sumber daya lokal yang secara khusus ditujukan untuk mengatasi kerontokan rambut akibat kemoterapi juga belum tersedia dalam bentuk sediaan terstandar (Sindura & Jain, 2018). Selain itu, masyarakat Nusa Tenggara Timur (NTT) secara turun-temurun menggunakan Ramuan Etnomedisin Nusa Tenggara Timur (RENTT) untuk menjaga kesehatan dan merangsang pertumbuhan rambut. Beberapa bahan utama RENTT, seperti minyak kemiri (*Aleurites moluccanus*) mengandung flavonoid glikosida swertisin; daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis*) kaya antosianin dan kuersetin; akar gantung beringin (*Ficus benjamina*) mengandung rutin (*kuersetin-3-O-rutinosida*) dan turunan kaemferol; daun mangkokan (*Polyscias scutellaria*) yang mengandung flavonol utama seperti kuersetin dan kaemferol; serta daun waru (*Hibiscus tiliaceus*) yang juga mengandung kuersetin

dan kaempferol (Ayouaz *et al.*, 2023; Saha *et al.*, 2025; Yarmolinsky *et al.*, 2012; Pertami *et al.*, 2024). Kandungan flavonoid dan polifenol dari tanaman-tanaman tersebut diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi folikel rambut dari stres oksidatif serta mendukung regenerasi rambut melalui aktivasi jalur molekuler seperti Wnt/ β -catenin, sehingga berpotensi memberikan efek sinergis dalam menstimulasi pertumbuhan rambut.

Meskipun masing-masing tanaman penyusun RENTT telah terbukti mengandung senyawa bioaktif yang sesuai dengan mekanisme pertumbuhan rambut melalui mekanisme antioksidan, penelitian sebelumnya masih terbatas pada deskripsi etnobotani dan uji parsial masing-masing tanaman sehingga belum mampu mengungkap potensi sinergisme komponen dalam satu formulasi. Hingga saat ini, belum terdapat studi yang secara sistematis mengoptimasi kombinasi etnomedisin NTT sebagai kandidat penumbuh rambut menggunakan pendekatan desain eksperimental berbasis statistik seperti *Taguchi–Orthogonal Stimulus Response Method* (OSRM). Selain itu, bukti ilmiah melalui validasi *in vivo* terkait efektivitas maupun keamanan penggunaan kombinasi tersebut pada model alopecia juga masih belum tersedia. Kesenjangan pengetahuan ini menunjukkan perlunya penelitian terstruktur yang tidak hanya mengidentifikasi aktivitas biologis, tetapi juga mengoptimasi dan memverifikasi formulasi secara menyeluruh untuk mendukung pengembangan RENTT sebagai kandidat kosmeseutikal berbasis bahan alam.

Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimasi kombinasi Ramuan Etnomedisin Nusa Tenggara Timur (RENTT) sebagai kandidat penumbuh rambut berbahan alam serta mengevaluasi aktivitas antioksidan dan efektivitas biologisnya pada model alopecia. Penelitian ini menggunakan pendekatan optimasi berbasis *Orthogonal Stimulus Response Method* yang dikembangkan untuk merumuskan kombinasi ekstrak RENTT yang paling efektif meningkatkan pertumbuhan rambut. Pendekatan ini memungkinkan evaluasi berbagai komposisi ekstrak secara efisien sehingga faktor yang paling berpengaruh terhadap aktivitas biologis dapat diidentifikasi. Kombinasi terbaik kemudian diuji lebih lanjut untuk memastikan efektivitasnya dalam meningkatkan kepadatan rambut pada model alopecia. Dengan demikian, penelitian ini memberikan dasar ilmiah yang kuat untuk pengembangan formulasi penumbuh rambut berbahan alam yang terstandarisasi dan berpotensi dikembangkan sebagai kosmeseutikal (Zhang & Li, 2013).

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni (*true experimental*) dengan rancangan *posttest only-control group design* menggunakan 35 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) yang dibagi ke dalam lima kelompok, yaitu kontrol positif (minoksidil 5% dan diinduksi *croton oil*), kontrol negatif (VCO dalam Tween 5% dan diinduksi *croton oil*), kontrol normal 1 (tanpa perlakuan), kontrol normal 2 (VCO tanpa induksi *croton oil*), serta kelompok perlakuan RENTT optimal. Sebelum perlakuan, semua mencit diaklimatisasi selama tujuh hari dalam kondisi laboratorium terkontrol untuk memastikan kestabilan fisiologis hewan uji.

Bahan tanaman yang digunakan terdiri dari simplisia daun *H. rosa-sinensis*, akar gantung *F. benjamina*, daun *P. scutellaria*, dan daun *H. tiliaceus*, yang telah diidentifikasi di UPT Materia Medika Batu untuk memastikan ketepatan spesies. Setelah proses identifikasi, seluruh bahan disortasi, dikeringkan pada suhu 50°C selama dua hari, dan digiling hingga diperoleh serbuk simplisia yang homogen. Bahan kimia meliputi etanol 70%, DPPH, Tween 5%, virgin coconut oil (VCO), dan *croton oil* 5%. Alat utama yang digunakan meliputi oven pengering, grinder, rotary evaporator

(Heidolph-VAP G3), *microplate reader*, serta mikroskop cahaya Nikon Eclipse Ei yang dilengkapi kamera Optilab.

Prosedur Pembuatan Ekstrak dan Formula RENTT

Seluruh simplisia dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama dua hari, kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Serbuk masing-masing tanaman dimaserasi menggunakan etanol 70% selama 72 jam dengan rasio 1:15 dan pengadukan berkala. Filtrat hasil maserasi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* rotari (Heidolph-VAP G3) pada suhu 50°C untuk memperoleh ekstrak pekat (Widayanti *et al.*, 2023). Ekstrak ini selanjutnya digunakan sebagai komponen formula RENTT berdasarkan variasi konsentrasi yang ditetapkan dalam desain Taguchi.

Tahap Optimasi In Vitro (Uji DPPH dan Desain Taguchi–OSRM)

Optimasi formula dilakukan dengan menerapkan desain Taguchi menggunakan *Orthogonal Array* (OA) L27, yang memuat lima faktor (A–E) masing-masing pada tiga level konsentrasi. Pemilihan OA L27 dipertimbangkan karena mampu mengevaluasi kombinasi faktor secara sistematis dengan jumlah percobaan yang relatif efisien, namun tetap memungkinkan estimasi efek utama setiap faktor terhadap respons. Rincian faktor yang dioptimasi beserta level konsentrasinya ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Desain eksperimental faktor yang relevan dan levelnya

Factor	Level		
<i>Aleurites moluccanus</i> (A)	0,75	1,5	3
<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> (B)	5	10	20
<i>Ficus benjamina</i> (C)	5	10	20
<i>Polyscias scutellaria</i> (D)	5	10	20
<i>Hibiscus tiliaceus</i> (E)	5	10	20

Berdasarkan kombinasi level dari kelima faktor tersebut, diperoleh 27 kondisi formulasi yang tersusun dalam OA L27. Susunan lengkap kombinasi run ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. *Orthogonal array* Taguchi L27

Run	A	B	C	D	E
1	0,75	5	5	5	5
2	0,75	5	5	5	10
3	0,75	5	5	5	20
4	0,75	10	10	10	5
5	0,75	10	10	10	10
6	0,75	10	10	10	20
7	0,75	20	20	20	5
8	0,75	20	20	20	10
9	0,75	20	20	20	20
10	1,5	5	10	20	5
11	1,5	5	10	20	10
12	1,5	5	10	20	20
13	1,5	10	20	5	5
14	1,5	10	20	5	10
15	1,5	10	20	5	20
16	1,5	20	5	10	5

Run	A	B	C	D	E
17	1,5	20	5	10	10
18	1,5	20	5	10	20
19	3	5	20	10	5
20	3	5	20	10	10
21	3	5	20	10	20
22	3	10	5	20	5
23	3	10	5	20	10
24	3	10	5	20	20
25	3	20	10	5	5
26	3	20	10	5	10
27	3	20	10	5	20

Seluruh kombinasi formula kemudian diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Pada pengujian ini, setiap sampel dicampurkan dengan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit sebelum absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan *microplate reader* (Ladeska *et al.*, 2022). Nilai IC₅₀ dihitung dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi, yang selanjutnya dianalisis menggunakan perangkat lunak Minitab 22 untuk memperoleh nilai *means* dengan kategori *smaller is better* dan *signal-to-noise ratio* (S/N) dengan kategori *larger is better*. Hasil analisis S/N, yang dipadukan dengan grafik efek utama dan uji ANOVA, digunakan untuk mengidentifikasi faktor yang memberikan pengaruh terbesar serta menentukan kombinasi formula RENTT yang paling optimal.

Tahap Uji *In Vivo* (Model Alopecia dan Perlakuan)

Dilakukan aklimatisasi pada hewan coba mendit selama 7 hari, kemudian rambut pada area dorsum mencit dicukur seluas 2 × 2 cm, kemudian induksi alopecia dilakukan dengan mengoleskan croton oil 5% secara topikal untuk menimbulkan peradangan lokal dan kerontokan rambut. Formula RENTT optimal, minoxidil, atau kontrol diberikan sebanyak 0,2 mL per aplikasi, dua kali sehari selama 28 hari. Setelah perlakuan, area uji difiksasi, dibuat preparat histologi, dan diwarnai hematoksin–eosin. Pengamatan folikel rambut dilakukan pada 5 lapang pandang dengan mikroskop Nikon Eclipse Ei pada perbesaran 100× untuk menentukan persentase kepadatan rambut menggunakan *software* ImageJ raster.

Analisis Data dan Statistik

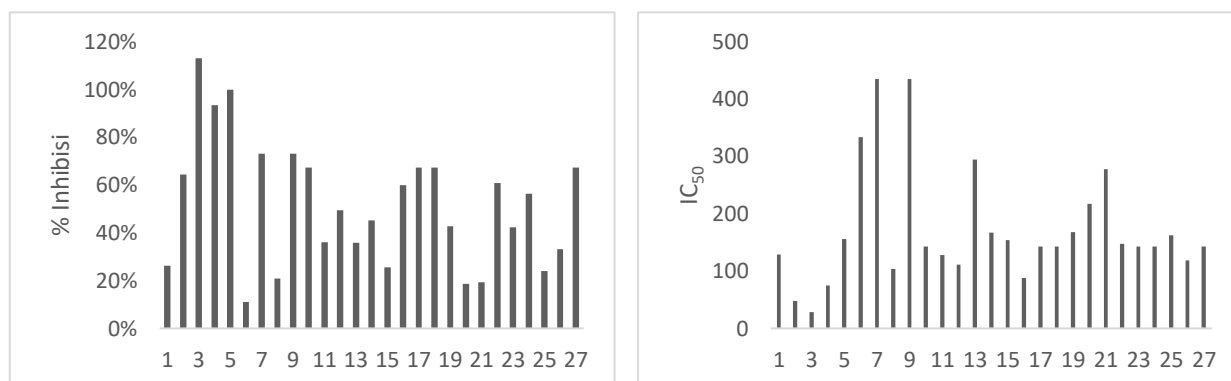
Data hasil pengamatan dianalisis melalui uji Shapiro–Wilk untuk menilai normalitas distribusi dan uji Levene untuk menguji homogenitas varians antar kelompok. Karena kedua asumsi parametrik terpenuhi ($p > 0,05$), analisis dilanjutkan menggunakan uji ANOVA satu arah (*one-way ANOVA*) dengan taraf signifikansi 0,05 untuk menentukan adanya perbedaan yang bermakna antar perlakuan. Uji lanjut *post hoc Least Significant Difference* (LSD) digunakan untuk mengidentifikasi pasangan kelompok yang menunjukkan perbedaan signifikan. Seluruh proses analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak IBM SPSS Statistics versi 20.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa kombinasi RENTT optimal memiliki nilai IC₅₀ paling rendah dibandingkan seluruh kombinasi lainnya, seperti dapat dilihat pada Gambar 1, yang menandakan potensi penangkal radikal bebas yang

sangat kuat. Aktivitas ini konsisten dengan kandungan flavonoid dan polifenol pada tiap tanaman penyusun RENTT yang diketahui mampu mendonorkan atom hidrogen dan menetralkan radikal bebas melalui stabilisasi resonansi. Temuan ini sejalan dengan laporan Ladeska et al., 2022 dan Putri & Etika, 2025, yang menegaskan bahwa keberlimpahan gugus hidroksil pada flavonoid berkorelasi kuat dengan kapasitas antioksidan.



Gambar 1. Aktivitas antioksidan (DPPH % inhibisi dan IC_{50}) RENTT optimal

Berdasarkan uji antioksidan DPPH, diperoleh hasil %inhibisi dan nilai IC_{50} (Gambar 1.) yang menandakan bahwa RENTT memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan. Aktivitas antioksidan pada tumbuhan dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder di dalamnya, misalnya golongan flavonoid. Secara struktural, aktivitas antioksidan flavonoid sangat bergantung pada jumlah dan posisi gugus hidroksil (-OH) dalam molekulnya, karena gugus tersebut berperan penting dalam menetralkan radikal bebas (Putri & Etika, 2025). Kemampuan flavonoid menekan radikal bebas juga berkaitan dengan kemampuannya mendonorkan elektron atau atom hidrogen kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat dinetralkan. Selain itu, flavonoid mampu mencegah proses oksidasi dengan mengkhelat (mengikat) ion logam transisi, sehingga pembentukan radikal bebas yang dipicu oleh ion logam dapat dihambat (Shintia et al., 2020). Setelah diperoleh nilai IC_{50} dari 27 kombinasi, kemudian dilakukan analisis taguchi dengan hasil pada Tabel 3 dan 4.

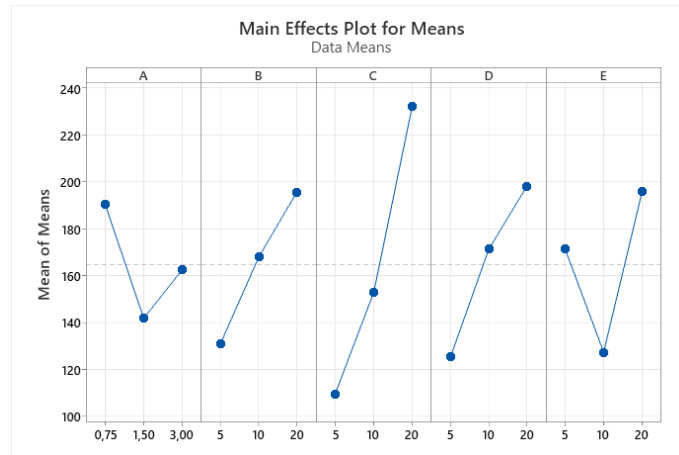
Tabel 3. Hasil Analisis respon *means*

Level	A	B	C	D	E
1	190,2	131,1	109,7	125,4	171,3
2	141,9	167,9	152,8	171,2	127,4
3	162,5	195,6	232,1	198,0	195,9
Delta	48,4	64,5	122,3	72,7	68,5
Rank	5	4	1	2	3

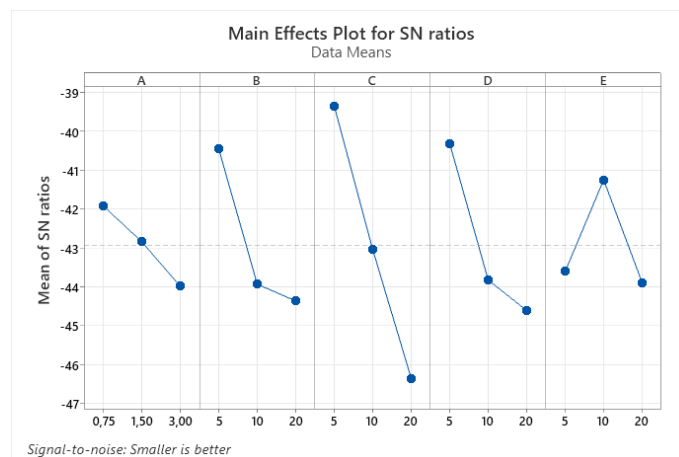
Tabel 4. Hasil Analisis respon SN ratio

Level	A	B	C	D	E
1	-41,93	-40,46	-39,36	-40,32	-43,61
2	-42,85	-43,94	-43,05	-43,83	-41,26
3	-43,99	-44,37	-46,36	-44,62	-43,90
Delta	2,06	3,91	7,00	4,29	2,64
Rank	5	3	1	2	4

Berdasarkan metode Taguchi, penentuan faktor terbaik ditentukan berdasarkan nilai delta (Δ). Δ didefinisikan sebagai selisih antara nilai tertinggi dan terendah dari hasil rata-rata respons (*means*) maupun *signal-to-noise ratio* (SN ratio) pada setiap faktor. Selain data, hasil analisis taguchi juga menghasilkan grafik means dan S/N ratio (Gambar 2 dan 3.).



Gambar 2. Grafik hasil perhitungan respon Taguchi orthogonal arrays berdasarkan nilai means



Gambar 3 Grafik hasil perhitungan respon Taguchi orthogonal arrays berdasarkan nilai SN ratio

Analisis Taguchi menunjukkan bahwa faktor C memiliki pengaruh paling besar terhadap respons (Δ mean = 122,3), diikuti oleh D (72,7), E (68,5), B (64,5), dan A (48,4). Berdasarkan kriteria *smaller is better*, level dengan nilai mean terendah adalah C1 (109,7), D1 (125,4), E1 (171,3), B2 (167,9), dan A1 (190,2). Hasil ini konsisten dengan analisis S/N ratio (*larger is better*) yang kembali menempatkan C sebagai dominan (Δ S/N = 7,00), diikuti oleh D (4,29), B (3,91), E (2,64), dan A (2,06). Level dengan nilai S/N ratio terbaik adalah

C1 (-39,36), D1 (-40,32), B3 (-40,46), E2 (-41,26), dan A1 (-41,93). Plot efek utama memperlihatkan kemiringan paling curam pada C (level 1→3), sedangkan D/E meningkat moderat, B naik lebih landai, dan A relatif datar. Mengintegrasikan bukti dari mean, S/N, dan grafik, serta keluaran uji DPPH, kombinasi optimal ditetapkan pada C1–D1–B1–E2–A1, menegaskan C sebagai penentu utama peningkatan respons sekaligus penurunan variasi.

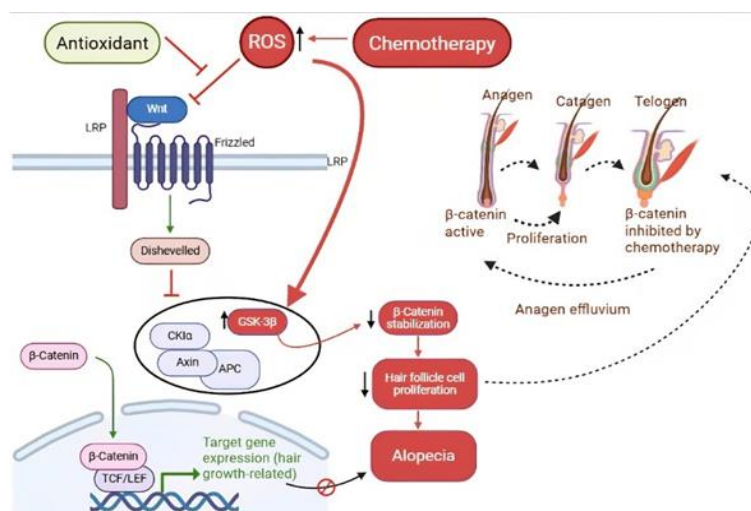
Uji Persen Kepadatan Rambut Mencit

Kepadatan rambut penting dalam menginterpretasikan pertumbuhan rambut karena merupakan indikator langsung dari kondisi folikel rambut. Tingkat kepadatan mencerminkan aktivitas folikel rambut dalam menghasilkan rambut baru dan menggambarkan keseimbangan antara rambut yang tumbuh, berhenti, atau rontok (Lee *et al.*, 2022). Hasil uji kepadatan rambut disajikan sebagai berikut.

Tabel 5. Hasil dan rerata %kepadatan rambut mencit bagian dorsum dengan 5 LP

Kelompok	Rata-rata Kepadatan	SD
K-	36,63	5,08
K+	35,37	5,33
KN1	33,36	6,45
KN2	46,27	6,93
RENTT	49,45	4,70

Berdasarkan hasil yang diperoleh, rerata kepadatan folikel rambut pada bagian dorsum menunjukkan variasi antar kelompok. RENTT memberikan nilai tertinggi, yakni $49,45 \pm 4,70$, diikuti KN2 sebesar $46,27 \pm 6,93$. Tiga kelompok lainnya mencatat nilai yang lebih rendah: K- $36,63 \pm 5,08$, K+ (Minoksidil) $35,37 \pm 5,33$, dan KN1 $33,36 \pm 6,45$. kelompok RENTT optimal menunjukkan persentase kepadatan rambut tertinggi, sedangkan kelompok minoksidil justru memberikan nilai yang lebih rendah. Kondisi ini dapat dijelaskan oleh sifat dasar model alopecia yang digunakan, karena croton oil memicu inflamasi akut melalui aktivasi protein kinase C (PKC) yang menyebabkan pelepasan sitokin proinflamasi, vasodilatasi, edema, dan stres oksidatif (Rossi *et al.*, 2020). Inflamasi jenis ini terbukti menghambat fase anagen dengan meningkatkan apoptosis sel papila dermal serta mempercepat transisi anagen–katagen (Suen *et al.*, 2020). Minoksidil, meskipun efektif sebagai pemanjang fase anagen, tidak memiliki aktivitas antiinflamasi dan tidak mampu menekan respons inflamasi yang diinduksi croton oil (Messenger & Rundegren, 2004). minoksidil cenderung kurang efektif pada kondisi folikel yang mengalami dermatitis atau inflamasi aktif, bahkan aplikasi topikalnya dapat memperberat iritasi pada kulit sensitif (Shadi, 2023). Sebaliknya, formula RENTT yang kaya flavonoid dan polifenol berpotensi mereduksi stres oksidatif dan menekan mediator inflamasi, sehingga lingkungan folikel lebih cepat pulih dan dapat kembali memasuki fase anagen. Hal ini menjelaskan perbedaan respons biologis antara minoksidil dan RENTT pada model inflamasi akut berbasis croton oil.



Gambar 4. Mekanisme Jalur Wnt/ β -catenin dan Peran Antioksidan

Kehadiran senyawa-senyawa flavonoid pada RENTT berperan penting sebagai antioksidan yang melindungi folikel rambut dari stres oksidatif, di mana stres oksidatif dapat menghambat fase anagen dan mempercepat apoptosis sel papila dermal. Adanya flavonoid yang memiliki sifat antioksidan yang diduga dapat mengaktifkan jalur Wnt, enzim GSK-3 β terhambat sehingga β -catenin menjadi stabil dan menumpuk di sitoplasma. β -catenin lalu masuk ke inti sel dan berikatan dengan faktor transkripsi TCF/LEF, menyalakan gen-gen kunci seperti *Cyclin D1*, *c-Myc*, dan *Lef1*. Aktivasi gen ini mendorong pembelahan dan pematangan sel punca folikel rambut (HFSCs), sehingga siklus rambut berpindah dari telogen (istirahat) ke anagen (tumbuh). Hasil akhirnya, pertumbuhan rambut baru terinduksi dan regenerasi folikel meningkat (Silibinin *et al.*, 2019; Shin, 2022).

Penelitian ini memiliki beberapa batasan yang wajar untuk studi eksploratif awal. Penapisan fitokimia kuantitatif belum dilakukan sehingga proporsi relatif antar senyawa bioaktif masih perlu dipetakan lebih lanjut. Evaluasi keamanan kulit dan toksisitas topikal juga belum termasuk ruang lingkup penelitian ini, sehingga aspek tersebut menjadi peluang untuk pendalaman pada studi berikutnya. Model alopecia berbasis croton oil yang digunakan terutama merepresentasikan kondisi inflamasi akut, sehingga dapat menjadi tahap awal sebelum diuji pada model lain yang lebih spesifik terhadap chemotherapy-induced alopecia. Meskipun demikian, temuan yang diperoleh memberikan dasar ilmiah yang kuat bahwa RENTT memiliki potensi sebagai kandidat kosmeseutikal berbahan alam. Penelitian lanjutan dapat diarahkan pada standarisasi fitokimia, uji stabilitas formulasi, evaluasi keamanan topikal, validasi mekanisme molekuler, serta uji praklinik lanjutan hingga kajian klinis awal untuk memperkuat bukti efektivitas dan keamanan pada manusia.

Analisis Data

Analisis data dilakukan setelah diperoleh hasil penghitungan kepadatan folikel rambut (%) pada kulit dorsum mencit berdasarkan pengamatan H&E pada 5 LP per preparat. Pengolahan statistik menggunakan IBM SPSS Statistics 20 dengan uji *one way* ANOVA pada taraf signifikansi 0,05 dan tingkat kepercayaan 95%. Uji *one way* ANOVA dapat digunakan apabila seluruh data yang digunakan telah memiliki syarat-syarat uji parametrik yaitu nilai normalitas dan homogenitas memiliki *p-value* > 0,05. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji Shapiro-wilk, sedangkan uji homogenitas dilakukan menggunakan *Levene's test*, dengan hasil berikut.

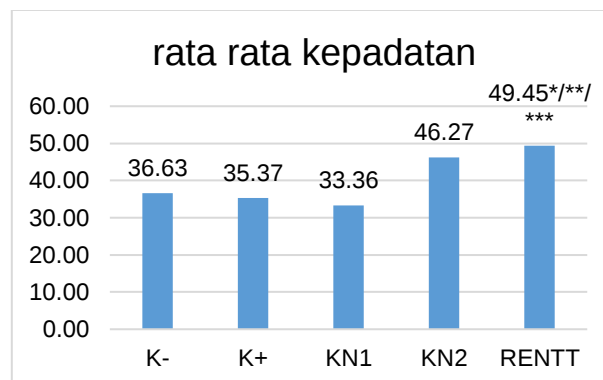
Tabel 6. *p-value* uji normalitas, homogenitas, dan *One Way* ANOVA kepadatan rambut

Perlakuan	<i>p-value</i> uji normalitas	<i>p-value</i> uji homogenitas	<i>p-value</i> ANOVA <i>One-way</i>
K-	0,609*		
K+	0,47*		
KN1	0,141*	0,443*	0,002
KN2	0,26*		
RENTT optimal	0,37*		

Keterangan: **p-value* uji normalitas dan homogenitas (>0,05), *p-value* ANOVA (<0,05)

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa data dari kelima kelompok memiliki distribusi normal (*p* > 0,05) dan varian yang homogen berdasarkan uji Levene (*p* > 0,05). Karena memenuhi kedua asumsi tersebut, analisis dilanjutkan dengan uji *one-way* ANOVA, yang menghasilkan nilai *p* < 0,05. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan terhadap bobot testis mencit

jantan. Uji lanjut *Least Significant Difference* (LSD) kemudian dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok yang berbeda nyata, dengan kriteria signifikansi $p < 0,05$ sebagaimana ditampilkan pada Gambar 5.



Keterangan: *=K- berbeda signifikan dengan RENTT, **=K+ berbeda signifikan dengan RENTT, ***= Kn1 berbeda signifikan dengan RENTT

Gambar 5. Grafik rerata persentase kepadatan rambut

Berdasarkan hasil yang diperoleh bahwa kelompok perlakuan kontrol positif, negatif, KN2, dan RENTT optimal memiliki kepadatan rambut yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, sehingga dapat diketahui bahwa terapi dengan ekstrak RENTT optimal. Berdasarkan uji LSD yang ditampilkan pada Gambar 5., dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kontrol negatif, kontrol positif, dan KN1 dengan kelompok perlakuan RENTT optimal.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penelitian ini berhasil mengoptimasi Ramuan Etnomedisin Nusa Tenggara Timur (RENTT) menggunakan pendekatan Taguchi–Orthogonal Stimulus Response Method dan membuktikan efektivitasnya melalui uji in vitro dan in vivo. Aktivitas antioksidan yang sangat kuat dari kombinasi optimal, ditunjukkan oleh nilai IC_{50} terendah, konsisten dengan hasil uji biologis yang memperlihatkan peningkatan persentase kepadatan rambut tertinggi pada model alopecia inflamasi, sehingga menguatkan hubungan antara kapasitas antioksidan dan pemulihan fungsi folikel rambut. Nilai kebaruan penelitian ini terletak pada penerapan desain Taguchi–OSRM untuk mengembangkan formula etnomedisin penumbuh rambut berbasis tanaman lokal NTT, sebuah pendekatan yang belum pernah digunakan sebelumnya dan menghasilkan formulasi yang lebih efisien, terstandarisasi, serta memiliki potensi translasi sebagai kosmeseutikal berbahan alam.

REKOMENDASI

Penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan isolasi dan karakterisasi senyawa aktif utama, terutama golongan flavonoid, guna mengonfirmasi kontribusi molekuler spesifik terhadap aktivitas antioksidan dan stimulasi folikel rambut. Studi toksisitas subkronis dan uji keamanan kulit juga perlu dilakukan untuk memastikan keamanan penggunaan jangka panjang. Selain itu, pengembangan formulasi sediaan topikal dalam bentuk serum atau *hair tonic* dengan uji stabilitas fisikokimia dan efektivitas klinis akan memperkuat potensi komersialisasi RENTT sebagai produk kosmeseutikal berbasis bahan alam Indonesia.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Universitas Katolik Widya Mandira Kupang atas dukungan fasilitas penelitian serta pendanaan yang memungkinkan terlaksananya riset ini. Ucapan terima kasih juga ditujukan kepada seluruh tim laboratorium Farmasi dan Kimia yang telah berkontribusi dalam proses ekstraksi, analisis, serta pengujian hewan coba.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayouaz, S., Fibri, D. L., Arab, R., Mouhoubi, K., & Madani, K. (2023). Phytochemistry and Biological- Pharmacological Profile of *Aleurites moluccanus*: A Critical Review. *Biomedical Research*, 4(2). <https://doi.org/10.37871/jbres1677>
- Fajriani, N., Kurniawan, H., & Nugraha, F. (2022). Situasi Penyakit Kanker Indonesia. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*, 4(3), 671–678. <http://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr%0Ahttps://ejurnal.ung.ac.id/index.php/jsscr/article/view/15392>
- Fakhrizal, M. A., & Saputra, K. H. (2020). Potensi Daun Katuk dalam Mencegah Kerontokan Rambut. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*, 2(2), 193–200. <https://doi.org/10.37287/jppp.v2i2.107>
- Globocan. (2022). Cancer statistics for the year 2022: An overview. In *International Agency for Research on Cancer*. <https://doi.org/10.1002/ijc.33588>
- Ladeska, V., Elya, B., & Hanafi, M. (2022). Antioxidants , Total Phenolic and Flavonoid Content and Toxicity Assay of Ampelas (*Tetracera macrophylla* Wall . Ex Hook . F. & Thoms) From Kalimantan-Indonesia. *Pharmacogn Journal*, 14(5), 642–648.
- Lee, Y. I., Ham, S., Lee, S. G., Jung, I., Suk, J., Yoo, J., Choi, S. Y., & Lee, J. H. (2022). An Exploratory In Vivo Study on the Effect of Annurca Apple Extract on Hair Growth in Mice. *Current Issues in Molecular Biology*, 44(12), 6280–6289. <https://doi.org/10.3390/cimb44120428>
- Melani, R., Darmawan, E., & Raharjo, B. (2020). Gambaran Hubungan Regimen Dosis Danefek Samping Kemoterapi pada Pasien Kanker di RSUD Prof Dr. Margono Soekarjo Purwokerto Periode Bulan Januari-Februari Tahun 2019. *Majalah Farmaseutik*, 15(2), 113. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v15i2.47664>
- Perez, A. M., Haberland, N. I., Miteva, M., & Wikramanayake, T. C. (2024). Chemotherapy-Induced Alopecia by Docetaxel: Prevalence, Treatment and Prevention. *Current Oncology*, 31(9), 5709–5721. <https://doi.org/10.3390/curroncol31090423>
- Pertami, S. B., Yunitasari, E., Budiono, B., & Yulifah, R. (2024). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Greek-style Yoghurt Infused with Shield *Aralia* Leaves. *Natural and Life Sciences Communications*, 23(3), 1–11.
- Putri, D. R., & Etika, S. B. (2025). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Ekstrak Kubis Ungu (*Brassica oleracea*). *M A S A L I Q Jurnal Pendidikan Dan Sains*, 5(November 2025), 2880–2891.
- Rossi, A., Caro, G., Fortuna, M. C., Pigliacelli, F., D'Arino, A., & Carlesimo, M. (2020). Prevention and Treatment of Chemotherapy-Induced Alopecia. *Dermatology Practical & Conceptual*, 10(3), e2020074. <https://doi.org/10.5826/dpc.1003a74>
- Saha, R., Manipal, V., Sandhuja, M., & Mittal, C. (2025). A comprehensive overview of *Hibiscus-rosa-sinensis* and its uses : A review. *International Journal of Advanced Biochemistry*, 9(5), 644–647.
- Saraswat, N., Chopra, A., Sood, A., Kamboj, P., & Kumar, S. (2020). A Descriptive Study to Analyze Chemotherapy-Induced Hair Loss and its Psychosocial Impact

- in Adults: Our Experience from a Tertiary Care Hospital Abstract. *Indian Dermatology Online Journal*, 10(4), 481–485. <https://doi.org/10.4103/idoj.IDOJ>
- Shadi, Z. (2023). Compliance to Topical Minoxidil and Reasons for Discontinuation among Patients with Androgenetic Alopecia. *Dermatology and Therapy*, 13(5), 1157–1169. <https://doi.org/10.1007/s13555-023-00919-x>
- Shin, D. W. (2022). The Molecular Mechanism of Natural Products Activating Wnt / β -Catenin Signaling Pathway for Improving Hair Loss. *Life*, 12.
- Shintia, I., Wahyuni, S., Sukmawaty, E., & Alfriani, N. (2020). Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Cendawan Endofit *Aspergillus* sp. *Jurnal Biotik*, 8(2), 218–231. <https://doi.org/10.22373/biotik.v8i2.8194>
- Silibinin, F., Property, I. H., & Akt, V. (2019). Flavonoid Silibinin Increases Hair-Inductive Property Via Akt and Wnt/ β -Catenin Signaling Activation in 3-Dimensional-Spheroid Cultured Human Dermal Papilla Cells. *Microbiology and Biotechnology Journal*, 29(2), 321–329.
- Sindura, S., & Jain, V. (2018). Challenges in Formulating Herbal Cosmetics. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 10(6), 47–53. <https://doi.org/10.22159/ijap.2018v10i6.27377>
- Suen, W., Li, S., & Yang, L. (2020). Hes1 regulates anagen initiation and hair follicle regeneration through modulation of hedgehog signaling. *Stem Cells International*, March 2019, 301–314. <https://doi.org/10.1002/stem.3117>
- Upa, M. S. M. P., Bessi, M. I. T., Korassa, Y. B., & I.M. Indrawati, M. (2023). Ethnopharmacology Study of Traditional Herbs as Anti-dandruff and Anti-baldness in Amarasi District, Kupang Regency. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 9(2), 180–188. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2023.v9.i2.16119>
- Widayanti, E., Mar'ah Qonita, J., Ikayanti, R., & Sabila, N. (2023). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Kadar Flavonoid Total pada Daun Jinten (*Coleus amboinicus* Lour). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2), 219–225. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19787>
- Yarmolinsky, L., Huleihel, M., Zaccai, M., & Ben-shabat, S. (2012). Fitoterapia Potent antiviral flavone glycosides from *Ficus benjamina* leaves. *Fitoterapia*, 83(2), 362–367. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.014>
- Zhang, G., & Li, Y. (2013). Orthogonal experimental design method used in particle swarm optimization for multimodal problems. *2013 6th International Conference on Advanced Computational Intelligence, ICACI 2013 - Proceedings*, 183–188. <https://doi.org/10.1109/ICACI.2013.6748498>