

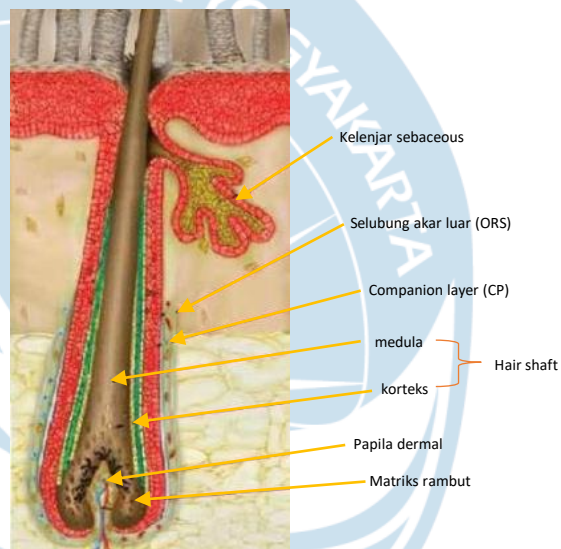
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Rambut

Rambut merupakan struktur kompleks dari sel epitel keratin yang berada di bagian tubuh paling luar yang memiliki fungsi sebagai perlindungan kulit kepala dari paparan sinar matahari dan hawa dingin. Rambut dapat mempengaruhi rasa percaya diri baik pada wanita maupun pria karena rambut merupakan mahkota yang dibanggakan dan dikagumi bagi semua orang. Memiliki rambut sehat yang subur, lebat, berkilau dan teratur merupakan dambaan semua orang. Ciri rambut rusak yaitu kusam, kusut atau sulit diatur, rambut berminyak, tumbuh uban, rambut bercabang, rambut mudah patah dan kerontokan (Beama dkk., 2021).

Rambut terdiri dari dua bagian yaitu batang dan akar rambut. Batang rambut merupakan bagian yang berada di atas permukaan kulit kepala, sedangkan akar rambut berada di bawahnya. Akar rambut menempel pada sebuah kelenjar sehingga terlihat seperti memiliki dua rangkap dalam kulit kepala. Folikel merupakan kantong kecil yang berada di permukaan kulit kepala yang menjadi awal pembentukan rambut. Folikel tersebar tidak merata dipermukaan kulit dimana ditemukan kelompok yang terdiri dari 2-5 folikel (Said, 2009). Folikel rambut merupakan organ makroskopis yang memiliki peran penting dalam fungsi dan regenerasi kulit dengan kapasitas untuk memperbarui diri dan mengalami siklus rambut berulang kali (Wang dkk., 2023).

Bagian ujung bawah folikel disebut papila yang berukuran kecil dan berbentuk seperti pegangan pintu. Papila rambut terdiri dari pembuluh darah dan saraf yang berfungsi untuk menyuplai nutrisi dari aliran darah ke rambut. Rambut akan bertambah panjang bila terjadi perbanyakan sel dalam papila sehingga mendesak sel keratin keluar dari folikel (Said, 2009). Struktur penampang rambut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Penampang Rambut (Said, 2009).

Rambut manusia dalam keadaan normal akan mengalami pertumbuhan sebesar 0,3-0,4 mm/hari atau sekitar 6 inci pertahun (Kristiningrum, 2018). Pertumbuhan rambut pada wanita akan lebih cepat daripada pria karena hormon estrogen pada wanita mampu memperpanjang fase anagen (Sari & Wibowo, 2016). Pertumbuhan rambut terjadi atas tiga fase yaitu fase anagen (pertumbuhan), fase katagen (regresi) dan fase telogen (istirahat) (Kristiningrum, 2018).

Folikel rambut mengalami siklus tersebut secara independen dan

masing-masing folikel akan mengalami siklus tersebut sepuluh sampai tiga puluh kali. Umumnya kulit kepala manusia memiliki sekitar 100.000 helai rambut. Sebagian dari rambut manusia berada dalam fase anagen, sementara yang lain berada dalam fase telogen atau eksogen, sehingga dalam kondisi sehat, kepadatan helai rambut di kulit kepala tetap pada jumlah yang stabil (Natarelli dkk., 2023). Siklus pertumbuhan rambut dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Siklus Pertumbuhan Rambut (Kristiningrum, 2018).

Fase anagen merupakan fase dimana sel akar rambut akan membelah diri secara aktif sehingga akan mendorong pembentukan rambut baru (Kristiningrum, 2018). Fase anagen merupakan fase terpanjang pada siklus rambut yang berlangsung sekitar 2-8 tahun. Fase anagen ditandai dengan terjadinya produksi batang rambut secara menyeluruh dari folikel. Panjang masa fase ini akan menurun seiring bertambahnya usia, sehingga rambut yang tumbuh akan semakin tipis dan lemah (Natarelli dkk., 2023).

Fase katagen merupakan fase transisi yang berlangsung selama 2-3 minggu, pada fase ini rambut akan berhenti bertumbuh, selubung akar bagian luar akan mengkerut dan menempel pada akar rambut (Kristiningrum, 2018). Fase katagen ditandai dengan regresi pada folikel rambut dan terlepas dari papila dermal yang menyebabkan apoptosis sel epitel pada selubung akar rambut. Setelah fase katagen, papila dermal akan bergerak menuju folikel rambut yang akan berakhir mengalami kerontokan apabila papila dermal tidak mencapai folikel rambut (Natarelli dkk., 2023).

Fase telogen merupakan fase istirahat yang akan berlangsung selama kurang lebih 100 hari, dimana umumnya sekitar 25-100 helai rambut akan terlepas setiap hari (Kristiningrum, 2018). Setiap saat, sekitar 9% dari seluruh rambut di kulit kepala berada dalam fase telogen, sedangkan 40-50% dari seluruh tubuh berada dalam fase telogen. Helaian rambut yang berada di fase telogen akan terdorong keluar sehingga akan rontok, karena rambut baru mulai tumbuh di pangkal folikel rambut. Saat fase anagen memasuki fase telogen sebelum waktunya, maka kerontokan dan penipisan rambut secara berlebihan akan terjadi. Rasio keseimbangan antara anagen terhadap telogen pada keadaan sehat yaitu sekitar 14:1 hingga 12:1 sehingga saat rasio folikel rambut yang berada dalam fase telogen dapat dikurangi maka kerontokan rambut mampu diatasi (Natarelli dkk., 2023).

Pertumbuhan anagen yang terhenti secara tidak normal akibat cedera atau rangsangan dari luar akan menyebabkan apoptosis pada sel rambut sehingga kerontokan rambut terjadi (Natarelli dkk., 2023). Apoptosis

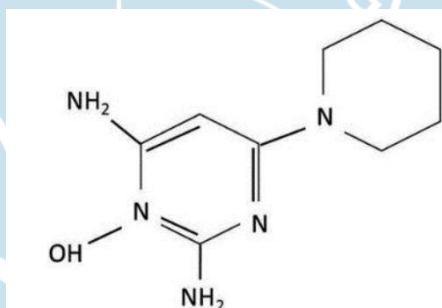
merupakan keadaan yang mengacu pada kematian sel secara alami guna membuang sel atau organel yang rusak dan tidak berfungsi. Apoptosis terjadi agar sel-sel dalam suatu organisme tetap pada keadaan seimbang sehingga perkembangan dan fungsi organ individu terlaksana dengan normal. Mekanisme kerontokan rambut belum sepenuhnya dimengerti, namun apoptosis menjadi salah satu hal yang cukup terlibat dalam proses kerontokan rambut (W. Wang dkk., 2023).

Kerontokan rambut adalah keadaan kehilangan rambut sekitar 120 helai per hari yang jika berlanjut akan menyebabkan kebotakan (Harris, 2021). Kelainan genetik, kondisi hormon, kelainan/penyakit sistemik, status gizi dan intoksikasi merupakan faktor internal penyebab kerontokan rambut. Faktor eksternal yang dapat mempengaruhi kerontokan adalah penggunaan kosmetik rambut yang tidak sesuai dengan kondisi kulit kepala dan stimulus dari lingkungan (Sari & Wibowo, 2016).

Kerontokan dapat terjadi karena adanya stres oksidatif akibat pengaruh lingkungan seperti paparan radikal bebas. Stres oksidatif dapat merubah keseimbangan dinamis yang ada pada folikel rambut. Stres oksidatif berlebih juga dapat menyebabkan kebotakan karena mempersingkat fase anagen dan mempercepat fase katagen, sehingga rambut yang rontok tidak dapat digantikan oleh rambut yang baru (Du dkk., 2024).

Permasalahan kerontokan rambut dapat diatasi dan dicegah dengan menerapkan gaya hidup sehat dan/atau menggunakan kosmetik yang dikhususkan untuk rambut. Usaha yang bisa dilakukan untuk mengurangi

kerontokan rambut yaitu mengurangi aktivitas *styling* rambut dengan suhu panas, memperhatikan pola makan dan nutrisi makanan, penggunaan sisir dengan jarak sapu yang tepat, mengurangi stress, dan dapat menggunakan kosmetik seperti *shampoo*, *hair oil* dan *hair tonic*. Kosmetik untuk merawat rambut rontok umumnya berasal dari bahan kimia sintetis seperti senyawa minoksidil (Sahira & Darusman, 2021). Struktur kimia senyawa minoksidil dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Minoksidil (Suchonwanit dkk., 2019).

Minoksidil merupakan obat pertama yang diakui FDA yang mampu menumbuhkan rambut dan meningkatkan kesehatan rambut. Minoksidil mampu memperpanjang fase anagen, menstimulai pertumbuhan folikel rambut, serta memiliki efek antiapoptosis sehingga mampu mengurangi kerontokan (Kesika dkk., 2023). Minoksidil merupakan senyawa kimia yang umum digunakan untuk menumbuhkan rambut karena dapat memperlebar pembuluh darah dan membuka jalur kalium sehingga folikel rambut tersalurkan lebih banyak oksigen, darah dan nutrisi (Kuncari dkk., 2014).

Senyawa minoksidil mampu menstimulasi dan memperpanjang fase anagen dengan memicu pelepasan rambut pada fase telogen sehingga folikel rambut dengan cepat memasuki fase anagen kembali (Breitkopf dkk., 2013).

Mekanisme kerja minoksidil dalam memulihkan pertumbuhan rambut yaitu dengan memperlebar mikrovaskular folikel rambut dan membuka jalur kalium sehingga lebih banyak oksigen, darah dan nutrisi yang tersalurkan ke folikel rambut untuk meningkatkan konsentrasi faktor pertumbuhan (Kuncari dkk., 2014; W. Wang dkk., 2023). Dibalik manfaatnya, senyawa minoksidil memiliki efek samping seperti alergi kulit, edema, hipotensi, dermatitis, gatal-gatal dan eritema (Widodo & Purba, 2020). Pemakaian minoksidil juga sering dikaitkan dengan resiko ketergantungan obat karena efek penumbuh rambut akan hilang setelah berhenti menggunakan minoksidil dan kondisi kulit kepala akan kembali pada kondisi kebotakan yang terjadi sebelum mulai pengobatan (Sinclair, 2018). Kekurangan lain dalam pengobatan menggunakan minoksidil adalah biaya atau harga minoksidil yang relatif mahal (Nussbaum dkk., 2022).

Bahan herbal untuk mengatasi rambut rontok telah banyak digunakan dilakukan sejak lama. Kosmetika dari sediaan herbal memiliki keunggulan seperti lebih murah dan dapat digunakan secara luas tanpa efek samping yang mengkhawatirkan (Nisar dkk., 2018). Bahan alam lain yang berpotensi untuk digunakan sebagai obat herbal untuk mengatasi kerontokan, namun belum diteliti lebih lanjut adalah daun harendong bulu (*Miconia crenata*).

B. Harendong Bulu (*Miconia crenata*)

Tumbuhan harendong bulu merupakan tumbuhan semak yang berasal dari Amerika Selatan dan tersebar di berbagai negara Asia Pasifik seperti di

Indonesia. Tumbuhan ini sudah banyak untuk digunakan mengobati berbagai penyakit, seperti masyarakat di Malaysia menggunakan daun harendong bulu yang ditumbuk dan dicampur dengan air liur untuk menghentikan pendarahan pada luka luar. Harendong bulu juga dimanfaatkan untuk mengatasi infeksi kulit *Leishmanisa braziliensis* di Brazil. Masyarakat di Guyana, Perancis menggunakan tumbuhan harendong bulu sebagai sabun karena terbukti memiliki senyawa antimikroba (Lopez dkk., 2016).

Harendong bulu (*Miconia crenata*) merupakan tumbuhan semak-semak berbatang kayu, bercabang simpodial yang memiliki tinggi 0,5 hingga 2 meter. Tumbuhan liar ini memiliki bulu trikoma yang cukup padat di sekujur batang dan daun. Daun harendong bulu berbentuk menyerupai telur, bagian tepi berberigi, bagian ujung dan pangkal daun meruncing, memiliki panjang 5 hingga 7 cm, dan lebar antara 3 hingga 5 cm. Bunga harendong bulu merupakan bunga majemuk sekitar 7 hingga 10 bunga, terletak pada ketiak daun, berwarna putih yang memiliki 5 kelopak bunga. Buah beri dari harendong bulu memiliki bentuk oval, permukaan yang berbulu, dan berwarna ungu kehitaman atau coklat kehitaman (Yuniati dkk., 2023).



Gambar 4. Tumbuhan Harendong Bulu (*Miconia crenata*) (Ardi, 2014).

Tumbuhan harendong bulu mengandung senyawa bermanfaat seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, triterpenoid, saponin dan steroid (Rahmawati dkk., 2023). Kadar senyawa fenolik pada ekstrak daun harendong bulu yaitu sebesar 534,99 mg GAE/g ekstrak dan kadar senyawa flavonoid sebesar 507,92 mg QE/g ekstrak (Ismail dkk., 2021). Pengukuran kadar senyawa fitokimia ekstrak etanol daun harendong bulu yang lain menunjukkan kadar fenolik sebesar 251,02 mg GAE/g ekstrak, flavonoid sebesar 43,73 mg QE/g ekstrak, dan tanin sebesar 73,42 mg TAE/g ekstrak (Junedi dkk., 2023).

Berdasarkan penelitian (Gontijo dkk., 2019) diketahui bahwa kadar senyawa fenolik ekstrak etanol daun harendong bulu yaitu sebesar 150,48 mg TAE/g ekstrak sedangkan senyawa tanin sebesar 82,89 mg TAE/g ekstrak. Senyawa fenolik dan flavonoid pada daun harendong bulu yang sangat banyak juga menjadi potensi besar untuk memanfaatkan sifat antioksidannya (Lopez dkk., 2016). Tumbuhan ini memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat yaitu IC_{50} sebesar 1,04 ppm dan 2,55 ppm sehingga memiliki bioaktivitas yang mampu menangkal radikal bebas (Junedi dkk., 2023; Nurwijayanto dkk., 2020).

Ekstrak etanol daun harendong bulu dapat membantu menumbuhkan rambut karena memiliki senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang bersinergi untuk menumbuhkan rambut. Senyawa alkaloid mampu memperbesar tangkai rambut sehingga nutrisi pada rambut dapat terdistribusi lebih baik untuk mendukung pertumbuhan rambut. Senyawa

fenolik, saponin dan flavonoid mampu merangsang pertumbuhan rambut dengan menginisiasi pertumbuhan papila rambut pada fase anagen (Priatna dkk., 2022). Senyawa flavonoid mampu memperkuat dinding kapiler pembuluh darah yang menyuplai folikel rambut sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan rambut (Febriani dkk., 2016).

Flavonoid memiliki aktivitas sebagai bakterisid yang mampu merusak dinding sel bakteri dan menekan pertumbuhan bakteri sehingga mempercepat pertumbuhan rambut dan mencegah kebotakan. Senyawa saponin mampu membentuk busa untuk membersihkan kulit dari kotoran dan bersifat sebagai *counter iritan* sehingga mampu meningkatkan sirkulasi darah perifer sehingga meningkatkan pertumbuhan rambut. Tanin merupakan antioksidan biologis dan penutrisi rambut yang berperan sebagai pelindung rambut dari senyawa prooksidan (H. M. Wijaya & Nisyak, 2020). Klasifikasi tumbuhan harendong bulu menurut (GBIF, 2017) adalah sebagai berikut.

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Myrtales
Famili	: Melastomataceae
Genus	: <i>Miconia</i>
Spesies	: <i>Miconia crenata</i> (Vahl) Michelang.

C. Radikal Bebas dan Daya Antioksidan

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang bersifat labil, reaktif, dan memiliki elektron yang tidak berpasangan pada lintasan orbit terluarnya. Radikal bebas merupakan suatu molekul seringkali dikaitkan dengan kerusakan jaringan dan proses patologi pada organisme. Kadar oksidan yang tinggi, saat

masuk dalam tubuh akan menyebabkan kerusakan sel sehingga diperlukan antioksidan yang mampu mengimbangi oksidan (A. N. Pratama & Busman, 2020).

ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan salah satu jenis radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipid, protein, asam nukleat dan asam lemak tak jenuh dalam sel hidup sehingga menjadi penyebab berkembangnya banyak penyakit kronis. Stres oksidatif merupakan keadaan dimana jumlah ROS dan pertahanan antioksidan yang tidak seimbang. Produksi ROS yang lebih banyak daripada antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif yang menghambat fungsi normal lipid, protein, DNA, dan RNA (Gulcin, 2020). Stres oksidatif akibat radikal bebas juga menjadi alasan kematian sel papila dermal pada lokasi pertumbuhan rambut sehingga dapat menyebabkan kerontokan (Fakhrizal & Saputra, 2020).

Stress oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas dapat diminimalisir dengan adanya senyawa antioksidan karena mampu menetralkan aktivitas radikal bebas dalam tubuh sehingga dapat menjadi benteng pertahanan kesehatan tubuh (Safnowandi, 2022). Antioksidan merupakan suatu substansi yang dapat menghambat kerusakan sel karena mampu memperlambat proses oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul yang kecil namun efektif dalam mencegah terbentuknya radikal (Cahyadi dkk., 2018). Antioksidan dapat mengurangi efek buruk pada serat rambut dengan mengganggu proses pembentukan rantai radikal, membantu memperbaiki sistem pembentukan

rambut, melindungi dari ROS dan menghambat oksidasi lipid sehingga meningkatkan elastisitas rambut (Fernández dkk., 2012). Antioksidan untuk menangkal radikal bebas telah diproduksi secara kontinu oleh tubuh manusia, contohnya *superoxide dismutase* (SOD), katalase (CAT), dan *glutathione peroxidase* (GPx) (Cahyadi dkk., 2018).

Berdasarkan pertahanan dalam tubuh, antioksidan dibagi menjadi antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan radikal bebas baru dengan mengubah radikal bebas yang sudah ada menjadi molekul yang kurang reaktif. Antioksidan primer terdiri atas enzim SOD, CAT, GPx, beberapa mineral seperti Se, Mn, Cu, dan Zn (Cahyadi dkk., 2018).

Antioksidan sekunder seperti *glutathione* (GSH), vitamin C, asam urat, albumin, bilirubin, vitamin E, karotenoid dan flavonoid akan bekerja dengan mengkelat logam yang bertindak sebagai prooksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Antioksidan tersier merupakan golongan enzim yang bekerja untuk memperbaiki kerusakan pada DNA, protein, oksidasi lemak, oksidasi peroksida dan menghentikan rantai propagasi pada peroksid lipid. Enzim yang termasuk antioksidan tersier yaitu lipase, protease, transferase dan *methionine sulfoxide reductase* (Cahyadi dkk., 2018).

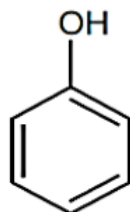
Antioksidan bisa didapatkan dari hasil sintesis reaksi kimia (antioksidan sintetis) dan hasil ekstraksi bahan alami (antioksidan alami). Beberapa contoh dari antioksidan sintetis adalah *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated*

hydroxytoluene (BHT), *propyl gallate* (PG), *tert-butylhydroquinone* (TBHQ), dan lain-lain. Senyawa yang termasuk antioksidan alami antara lain fenol, polifenol, flavonoid, α -tokoferol, karotenoid, asam fenolik (Cahyadi dkk., 2018).

Antioksidan bekerja dalam dua sistem yaitu enzimatik dan non-enzimatik. Beberapa enzim yang termasuk dalam antioksidan enzimatik yaitu SOD, CAT, proksidase (POX), asam askorbat peroksidase (APX), glutathione reduktase (GR), dan polifenol oksidase (PPO). Antioksidan non-enzimatik terdiri dari beberapa senyawa seperti asam askorbat, senyawa fenolik, karoten, dan α -tokoferol (Maesaroh dkk., 2018).

1. Fenolik

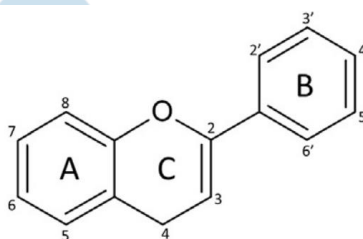
Senyawa fenolik merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan dalam tanaman. Fenolik memiliki kemampuan untuk memberi perlindungan terhadap stres oksidatif, sebagai senyawa antikarsinogenik, antimikroba, dan lainnya (Diniyah & Lee, 2020). Senyawa fenolik juga mampu merangsang pertumbuhan rambut dengan menginisiasi pertumbuhan papila rambut pada fase anagen yang merupakan fase awal pembentukan rambut (Priatna dkk., 2022). Struktur kimia senyawa fenolik dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Kimia Senyawa Fenol (Yu, 2008).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan sehingga mampu mengobati gangguan hati, antivirus, antifungi, antiinflamasi dan antidiuretik (Tarakanita dkk., 2019). Flavonoid memiliki potensi sebagai tabir surya karena memiliki gugus kromofor yang mampu menyerap sinar matahari pada kisaran panjang gelombang UVA dan UVB (Ashari dkk., 2020). Flavonoid juga mampu memperkuat dinding kapiler pembuluh darah yang menyuplai folikel rambut sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan rambut (Febriani dkk., 2016). Struktur kimia senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 6.

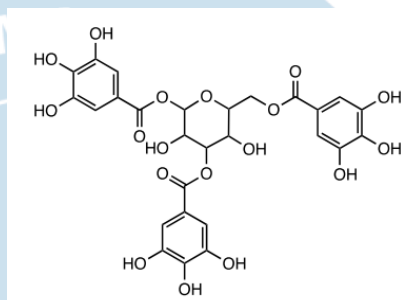


Gambar 6. Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (de la Rosa dkk., 2019).

3. Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa yang masuk dalam golongan fenol yang memiliki aktivitas antioksidan (Romadanu dkk., 2014). Senyawa tanin bagi manusia dapat digunakan sebagai antiinflamasi, pencegah

kanker, antibakteri dan potensial untuk mengobati penyakit pneumonia (Anggraeni dkk., 2020). Tanin mampu menutrisi rambut dengan menghelat ion logam potensial, agen pengendap protein dan antioksidan biologis (Priatna dkk., 2022). Struktur kimia senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Struktur Kimia Senyawa Tanin (Gulcin, 2020).

D. Ekstraksi Maserasi

Metode ekstraksi maserasi merupakan metode ekstraksi cara dingin sederhana dengan memasukkan dan merendam simplisia dalam cairan pelarut ke wadah *inert* yang tertutup rapat pada suhu ruang. Prinsip kerja maserasi adalah cairan pelarut akan menembus dinding sel tumbuhan dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut keluar sel. Kelebihan metode maserasi adalah dapat menghindari rusaknya senyawa termolabil karena tidak melewati proses pemanasan. Kekurangan maserasi adalah memerlukan waktu yang cukup lama, pelarut yang digunakan cukup banyak, beberapa senyawa sulit diekstraksi pada suhu kamar, dan memiliki kemungkinan terjadinya kehilangan beberapa senyawa (Hasby dkk., 2022).

E. Pelarut Etanol

Salah satu faktor yang mempengaruhi proses ekstraksi adalah jenis dan konsentrasi pelarut yang digunakan, karena akan mempengaruhi perolehan kadar senyawa zat aktif. Pelarut yang digunakan harus sesuai dengan sifat senyawa yang akan diekstraksi, yaitu prinsip *like dissolves like*. Senyawa polar seperti fenolik menggunakan pelarut polar seperti etanol, metanol, etil asetat, aseton, air dan isopropanol. Pelarut etanol lebih banyak digunakan karena memiliki kemampuan menyari senyawa kimia yang lebih baik dan lebih banyak dibandingkan air dan metanol (Riwanti dkk., 2020).

Rumus molekul etanol adalah C_2H_5OH , sifat gugus C_2H_5 yaitu non-polar sedangkan gugus OH bersifat polar. Etanol memiliki 2 sifat kepolaran pada gugus-gugusnya sehingga pelarut etanol mampu mengikat senyawa yang bersifat polar dan non-polar (Jati dkk., 2019). Etanol memiliki konstanta dielektrik yang cukup tinggi yaitu sebesar 24,3 sehingga etanol dinilai memiliki tingkat kepolaran yang baik pula (Widodo dkk., 2021). Senyawa target yaitu flavonoid, fenol dan tanin merupakan senyawa yang bersifat polar (Kusuma dkk., 2022; Simbolon dkk., 2021) sehingga dapat disari dengan sangat baik oleh pelarut polar juga karena prinsip *like dissolve like* (S. Wahyuni & Marpaung, 2020).

Pelarut etanol juga merupakan pelarut yang aman digunakan untuk melakukan ekstraksi (Jati dkk., 2019). Etanol ditetapkan yang diberikan oleh *Food and Drug Administration* (FDA) menjadi salah satu pelarut yang termasuk dalam *Generally Recognized as Safe* (GRAS) (Molino dkk., 2019). GRAS

merupakan kategori mengenai jumlah dan kualitas bahan untuk menetapkan keamanan suatu zat dalam suatu makanan dan/atau obat. Senyawa atau zat yang telah diberi status GRAS mengartikan bahwa zat telah secara umum diakui memenuhi syarat mutu dan keamanan bahan sesuai dengan penggunaan yang dilakukan, sehingga tidak memerlukan persetujuan lembaga pengawas keamanan untuk digunakan (Gad & Sullivan, 2014).

F. Pengujian Daya Antioksidan dengan metode Peredaman DPPH

Radikal bebas merupakan suatu atom atau molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada orbit terluar sehingga menjadi sangat reaktif. Radikal bebas yang sangat umum digunakan dalam pengujian peredaman radikal bebas adalah DPPH (2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)-hydrazyl). Radikal DPPH merupakan senyawa organik yang memiliki nitrogen tidak stabil, berwarna ungu gelap, absorbansi kuat pada panjang gelombang 517 nm (Karim dkk., 2015).

Radikal bebas merupakan suatu molekul seringkali dikaitkan dengan kerusakan jaringan dan proses patologi pada organisme (A. N. Pratama & Busman, 2020). ROS (*Reactive Oxygen Species*) merupakan salah satu jenis radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan oksidatif pada lipid, protein, asam nukleat dan asam lemak tak jenuh dalam sel hidup sehingga menjadi penyebab berkembangnya banyak penyakit kronis. Stres oksidatif merupakan keadaan dimana jumlah ROS dan pertahanan antioksidan yang tidak seimbang. Produksi ROS yang lebih banyak daripada antioksidan akan menyebabkan stres oksidatif

yang menghambat fungsi normal lipid, protein, DNA, dan RNA (Gulcin, 2020). Stres oksidatif akibat radikal bebas juga menjadi alasan kematian sel papila dermal pada lokasi pertumbuhan rambut sehingga dapat menyebabkan kerontokan (Fakhrizal & Saputra, 2020).

Antioksidan merupakan suatu substansi yang dapat menghambat kerusakan sel karena mampu memperlambat proses oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul yang kecil namun efektif dalam mencegah terbentuknya radikal (Cahyadi dkk., 2018). Antioksidan dapat mengurangi efek buruk pada serat rambut dengan mengganggu proses pembentukan rantai radikal, membantu memperbaiki sistem pembentukan rambut, melindungi dari ROS dan menghambat oksidasi lipid (Fernández dkk., 2012).

Uji DPPH (*2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitophenyl)-hydrazyl*) merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari suatu sampel (Sirivibulkovit dkk., 2018). Metode uji DPPH dilakukan dengan prinsip yaitu penurunan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm yang ditandai dengan warna violet. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm dimana warna ungu akan berubah menjadi kuning setelah inkubasi yang menunjukkan bahwa masing-masing konsentrasi menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas (Membri dkk., 2021).

Keunggulan metode DPPH yaitu metode analisisnya yang bersifat sederhana, cepat, mudah dan sensitif terhadap sampel dengan konsentrasi yang

kecil. Pengujian antioksidan dengan metode DPPH akan sulit dilakukan untuk senyawa yang bersifat hidrofilik karena DPPH hanya dapat dilarutkan dalam pelarut organik (Wulansari, 2018). Kekurangan lain dari metode DPPH yaitu membutuhkan volume larutan DPPH yang banyak dan penyimpanan stok DPPH harus pada suhu rendah namun memiliki resiko larutan menjadi tidak stabil (Sirivibulkovit dkk., 2018).

Kemampuan suatu bahan dalam menghambat radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan yang diuji disebut dengan persen inhibisi (Muktisari & Hartati, 2018). Persen inhibisi dari suatu antioksidan penting untuk mengetahui kemampuan antioksidan untuk menghambat stress oksidatif yang dihasilkan oleh radikal bebas (Sirivibulkovit dkk., 2018). IC_{50} merupakan parameter konsentrasi inhibisi larutan uji terhadap kemampuannya menurunkan aktivitas radikal bebas sebesar 50% (Wulansari, 2018).

Nilai IC_{50} yang semakin kecil menunjukkan aktivitas antioksidan pada bahan yang diuji semakin kuat (Muktisari & Hartati, 2018). Kategori kekuatan aktivitas antioksidan ditentukan dari nilai IC_{50} suatu sampel. Antioksidan dikategorikan sangat aktif saat nilai $IC_{50} < 50$ ppm, antioksidan aktif saat nilai IC_{50} 50-100 ppm, antioksidan sedang saat nilai IC_{50} 101-150 ppm, antioksidan lemah saat nilai IC_{50} 151-200 ppm, antioksidan sangat lemah saat nilai $IC_{50} > 200$ ppm (Pangestu dkk., 2017).

G. Uji Efektivitas Pertumbuhan Rambut Menggunakan Model Hewan Uji

Tikus (*Rattus norvegicus*)

Uji efektivitas pertumbuhan rambut merupakan uji pembuktian bahwa suatu bahan mampu menumbuhkan rambut menggunakan suatu subjek uji. Prinsip kerja uji efektivitas pertumbuhan rambut adalah dengan pengolesan sampel uji secara topikal kepada hewan uji yang sudah dicukur bulunya. Parameter uji efektivitas pertumbuhan rambut adalah panjang dan bobot rambut yang berhasil tumbuh (Beama dkk., 2021). Berdasarkan pengujian efektivitas pertumbuhan rambut yang dilakukan oleh (Musdalipah & Karmilah, 2018) menggunakan ekstrak daun cabai rawit, didapatkan bahwa hasil terbaik dimiliki oleh perlakuan ekstrak dengan konsentrasi tertinggi yaitu 20%.

Uji efektivitas menggunakan kelinci telah umum digunakan, namun penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih karena perbedaan jangka waktu pertumbuhan rambut antar kedua hewan tersebut. Kelinci memiliki siklus pertumbuhan rambut yang lebih lama daripada tikus, sehingga tikus lebih tepat digunakan untuk mengamati pertumbuhan rambut dalam durasi pengamatan yang lebih singkat (Ding dkk., 2020). Pengamatan pertumbuhan rambut dilakukan pada model hewan uji tikus putih galur *Sprague-Dawley* yang dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Tikus Putih Galur *Sprague-Dawley* (Estina, 2010).

Tikus putih merupakan hewan nokturnal yang banyak digunakan untuk mempelajari dan memahami tentang respon atau penyakit pada manusia karena memiliki karakteristik genetik yang mirip dengan manusia (Angria, 2019). Tikus putih galur *Sprague-Dawley* merupakan salah satu tikus yang dikembangkan dari tikus galur Wistar. Karakter tikus *Sprague-Dawley* lebih tenang daripada tikus Wistar sehingga akan lebih mudah dalam penelitian topikal (Swastini, 2022). Tikus jantan digunakan dalam penelitian ini karena memiliki hormon yang lebih stabil daripada betina sehingga tikus jantan lebih memberikan efek dari perlakuan terisolasi. Tikus jantan juga digunakan karena kebotakan umum terjadi pada laki-laki yang memiliki hormon androgen lebih banyak daripada perempuan (H. Singh & Naidu, 2023). Klasifikasi tikus putih galur *Sprague-Dawley* menurut (GBIF, 2025) adalah sebagai berikut.

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

Penggunaan hewan dalam penelitian biomedis, konservasi, dan biologi memerlukan pengawasan dan persetujuan dari Komisi Etik Penggunaan Hewan atau komisi etik yang relevan (Nasution, 2022). Penelitian ini telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta (Lampiran 2). Prinsip yang mendasari pada uji menggunakan hewan uji adalah 3R dan 5F dimana keduanya menjunjung kesejahteraan hewan selama menjadi subjek uji (Mutiarahmi dkk., 2021).

Prinsip 3R terdiri dari *replacement*, *reduction*, dan *refinement*. Prinsip 5F merupakan prinsip yang menjunjung hak-hak yang perlu dipenuhi kepada hewan, termasuk hewan uji untuk penelitian. Hak yang perlu dipenuhi yaitu bebas dari rasa lapar dan haus, bebas dari rasa tidak nyaman, bebas dari rasa sakit, bebas mengekspresikan tingkah laku alami, serta bebas dari rasa takut. Jika hak-hak ini tidak dipenuhi, maka akan berdampak pada tingkah laku, kesehatan, dan kesejahteraan (Nasution, 2022).

H. Hipotesis

1. Konsentrasi senyawa fitokimia fenolik yang dimiliki ekstrak etanol daun harendong bulu (*Miconia crenata*) sebesar $251 < x < 534$ mg GAE/g ekstrak, konsentrasi flavonoid sebesar $35 < x < 507$ mg QE/g ekstrak, sedangkan konsentrasi tanin sebesar $73 < x < 82$ mg TAE/g ekstrak.
2. Kategori daya antioksidan yang dimiliki ekstrak etanol daun harendong bulu (*Miconia crenata*) adalah sangat kuat yaitu nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm.

3. Konsentrasi terbaik ekstrak etanol daun harendong bulu (*Miconia crenata*) yang memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan rambut tikus (*R. norvegicus*) adalah konsentrasi terbesar yaitu 5%.

