

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi daun teh hijau

Langkah awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan uji determinasi tanaman teh hijau. Tujuan determinasi adalah untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta kemungkinan tercampurnya bahan dengan tumbuhan lain. Determinasi tanaman dilakukan di Universitas Setia Budi. Surat keterangan determinasi tumbuhan No: 148/DET/UPT-LAB/19/III/2019 menunjukkan bahwa daun yang digunakan adalah daun teh hijau (*Camelia sinensis O.K. var assamica* (Mast.)). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Hasil pengambilan bahan dan pengeringan

Daun teh hijau yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2019. Daun teh hijau yang masih segar dan berwarna hijau muda diambil kemudian dibersihkan menggunakan air bersih. Setelah itu ditiriskan dan dikeringkan dengan oven suhu 50°C sampai kering. Simplisia yang baik mempunyai ciri-ciri warna yang tidak jauh berbeda dengan warna sebelum dikeringkan dan apabila diremas sudah bisa hancur.

Pengeringan daun teh hijau harus dijaga agar suhu tetap konstan 50°C dalam oven, karena jika suhunya terlalu tinggi dapat merusak senyawa aktif dan bila suhu terlalu rendah dapat membuat hasil pengeringan menjadi tidak sempurna. Pengeringan bertujuan untuk mencegah terjadinya kerusakan zat aktif didalam tanaman, selain itu pengeringan juga dapat mengurangi kadar air, mencegah pertumbuhan jamur dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama. Pengeringan dapat mencegah kerusakan akibat peruraian zat aktif secara enzimatik seperti hidrolisis, oksidasi dan polimerisasi karena pada saat pengeringan maka kadar air yang terdapat dalam simplisia akan berkurang sampai pada titik tertentu yang menyebabkan enzim-enzim menjadi tidak aktif.

3. Hasil pembuatan serbuk daun teh hijau

Daun teh hijau yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Serbuk hasil ayakan inilah yang akan digunakan untuk penyarian. Tujuan dari pengayakan adalah agar partikel yang dihasilkan untuk pengekstraksian seragam sehingga dapat berlangsung efektif. Ayakan nomor 40 menghasilkan serbuk yang optimal dalam ekstraksi.

Hasil rendemen berat serbuk daun teh hijau terhadap berat daun kering yaitu dari daun teh hijau kering 2000 gram diperoleh berat serbuk kering daun teh hijau 1850 gram sehingga rendemennya 92,5%. Data selengkapnya dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen serbuk daun teh hijau terhadap daun teh hijau kering

Berat daun kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%)b/b
2000	1850	92,5

4. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau

Menimbang serbuk daun teh hijau sebanyak 2 gram, kemudian meratakan dan mengukur kandungan lembab dengan menggunakan alat *moisture balance*. Tujuan dari penetapan kadar kelembapan adalah untuk memberikan batas maksimal (rentang) besarnya senyawa yang hilang selama proses pengeringan. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau

Serbuk	Penimbangan	Kadar kelembapan (%)
Daun teh hijau	2,00 g	8
	2,00 g	8
	2,00 g	9
Rata-rata		8,3

Tabel 3 menunjukkan bahwa dari penetapan kadar kelembapan serbuk daun teh hijau yang ditimbang sebanyak ± 2 g, kemudian diukur dengan *moisture balance*. Persentase rata-rata susut pengeringan yang diperoleh adalah 8,3%. Hal ini menunjukkan bahwa kadar kelembapan serbuk daun teh hijau memenuhi syarat, yaitu tidak lebih dari 10% (Depkes RI 1979). Apabila kadar kelembapan melebihi 10% maka sangat mudah ditumbuhi jamur dan bakteri karena air merupakan media yang baik untuk pertumbuhan dan perkembangbiakkan jamur dan bakteri.

5. Hasil identifikasi serbuk daun teh hijau

Identifikasi serbuk daun teh hijau meliputi pemeriksaan organoleptis. Identifikasi organoleptis ini untuk mengetahui sifat fisik dari serbuk daun teh hijau. Sifat fisik yang diidentifikasi meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Hasil dan pemeriksaan organoleptis terhadap serbuk daun teh hijau dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk daun teh hijau

Keterangan	Organoleptis
Bentuk	Serbuk daun
Warna	Hijau
Bau	Khas teh
Rasa	Pahit sepat

Berdasarkan tabel 4 menunjukkan bahwa serbuk berwarna hijau, berbau khas teh dan memiliki rasa sepat.

6. Hasil pembuatan ekstrak metanol daun teh hijau

Serbuk daun teh hijau diekstraksi terlebih dahulu menggunakan metanol agar diperoleh ekstrak metanol daun teh hijau. Ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Metode yang digunakan yaitu metode maserasi karena menggunakan alat yang sederhana, mudah dilakukan dan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan.

Pemilihan pelarut harus selektif, pelarut yang digunakan adalah metanol karena metanol merupakan pelarut universal, sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa aktif yang ada pada simpilisia.

Wadah maserasi yang digunakan adalah wadah kaca gelap untuk menghindari sinar matahari secara langsung. Proses maserasi dilakukan dalam keadaan tertutup agar metanol tidak menguap. Setelah selesai dimaserasi, langsung dilakukan penyaringan untuk memisahkan cairan dan serbuk. Setelah disaring, dilakukan penguapan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai pekat dan bebas alkohol. Hasil rendemen ekstrak terhadap berat serbuk kering daun teh hijau dapat dilihat pada tabel.

Tabel 5. Hasil rendemen ekstrak metanol daun teh hijau

Serbuk daun teh hijau (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
400	253,69	55,92

7. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak metanol daun teh hijau

Pemeriksaan organoleptis ekstrak metanol daun teh hijau bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dari ekstrak metanol daun teh hijau yaitu meliputi bentuk, warna dan bau. Hasil dari pemeriksaan organoleptis dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak kental daun teh hijau

Keterangan	Organoleptis
Bentuk	Kental
Warna	Coklat
Bau	Khas ekstrak
Rasa	Pahit sepat

8. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun teh hijau

Pemeriksaan kandungan kimia ekstrak metanol daun teh hijau bertujuan untuk mengetahui zat aktif yang terkandung didalam daun teh hijau. Daun teh hijau memiliki kandungan alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin (Dewi 2008). Identifikasi dilakukan dengan menambahkan ekstrak metanol daun teh hijau dengan pereaksi yang sesuai dan dilihat perubahan warnanya. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak metanol daun teh hijau

Senyawa	Hasil	Pustaka
Alkaloid	+	Adanya warna orange dengan pereaksi dragendorff (Farnsworth 1966)
	(adanya warna orange)	
Flavanoid	+	Adanya warna merah jingga atau kuning jingga pada lapisan amil alkohol (Robinson 1995)
	(adanya warna merah jingga pada lapisan amil alkohol)	
Saponin	+	Terbentuk buih setinggi 1-10 cm, penambahan HCl buih tidak hilang (Robinson 1995)
	(terbentuk buih setinggi 2 cm, penambahan HCl buih tidak hilang)	
Tanin	+	Terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan (Mutiatikum <i>et al</i> 2010)
	(berwarna hijau kehitaman)	

Keterangan:

+ = positif mengandung zat aktif

- = negatif mengandung zat aktif

Dari hasil pemeriksaan kandungan kimia, disimpulkan ekstrak metanol daun teh hijau mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin.

9. Pengujian salep ekstrak metanol daun teh hijau

Uji sifat fisik salep bertujuan untuk mengetahui kualitas salep yang baik. Uji yang dilakukan adalah uji organoleptis, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat dan pH.

9.1 Hasil pengujian organoleptis salep. Pengujian organoleptis bertujuan untuk mendeskripsikan warna, bau dan konsistensi sediaan salep yang sudah dibuat. Hasil pengujian organoleptis dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil uji organoleptis salep ekstrak daun teh hijau

Formula	Bau	Warna	Konsistensi
FI	Khas ekstrak	Coklat	Cair
FII	Khas ekstrak	Coklat	Kental
FIII	Khas ekstrak	Coklat	Padat
K -	Khas vaselin	Putih	Padat

Salep dengan bahan aktif daun teh hijau menghasilkan bau ekstrak yang khas dan berwarna coklat. Perbedaan perbandingan basis vaselin dan parafin yang berbeda pada salep maka menghasilkan konsistensi yang berbeda pula. Semakin banyak vaselin maka semakin padat pula sediaan salep tersebut.

9.2 Hasil pengujian homogenitas salep. Pengujian homogenitas untuk mengetahui kualitas sediaan salep sehingga zat aktif harus dapat tercampur secara homogen agar dapat memberikan efek secara maksimal. Uji homogenitas dilakukan secara visual dengan mengoleskan salep pada obyek glass secara merata. Homogenitas mencerminkan tidak terbentuk partikel-partikel yang memisah. Hasil pemeriksaan homogenitas dapat dilihat pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil uji homogenitas salep daun teh hijau

Formula	Homogenitas
FI	Kurang homogen
FII	Homogen
FIII	Homogen
K -	Homogen

Hasil pengujian menunjukkan bahwa salep ekstrak metanol daun teh hijau dengan konsentrasi basis yang berbeda dapat tercampur dengan sempurna sehingga menghasilkan produk yang homogen kecuali pada FI dengan perbandingan basis 50:50, hal ini dapat disebabkan karena pada basis 50:50 menghasilkan sediaan salep yang agak cair dibandingkan sediaan yang lain sehingga tidak dapat tercampur dengan sempurna.

9.3 Hasil pengujian viskositas salep. Suatu sediaan harus memiliki viskositas yang baik, karena jika suatu sediaan terlalu encer atau terlalu kental dapat mengganggu efektifitas penghantaran zat aktifnya menjadi bekerja tidak maksimal. Hasil pemeriksaan viskositas dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Pemeriksaan viskositas salep ekstrak daun teh hijau

Formula	Viskositas (dPas)
FI	22,67
FII	36,33
FIII	283,33
K -	246,67

Pada hasil uji viskositas, konsentrasi basis yang terkandung dalam formula salep tersebut memberikan pengaruh pada konsistensinya. Semakin besar konsentrasi vaselin pada basis maka semakin tinggi viskositasnya, begitu pula sebaliknya. Semakin tinggi viskositas suatu sediaan salep maka semakin lama pula salep tersebut melekat pada kulit sehingga dapat melepaskan zat aktif yang terkandung didalamnya untuk memberikan efek. Dari hasil uji viskositas dapat disimpulkan bahwa FIII memiliki viskositas yang paling baik.

9.4 Hasil pengujian daya sebar salep. Pengukuran daya sebar menunjukkan kemampuan salep untuk menyebar pada lokasi pemakaian dan seberapa lunaknya salep apabila dioleskan pada kulit sehingga memberi kenyamanan pada saat pemakaian. Semakin besar diameter daya sebar maka salep akan menyebar dengan cepat dan kontak antara zat aktif dengan kulit semakin bagus. Hasil pengukuran daya sebar dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Pemeriksaan daya sebar salep ekstrak daun teh hijau

Formula	Daya sebar (cm)
FI	4,30
FII	3,67
FIII	3,35
K -	2,94

Hasil dari pengujian daya sebar pada tabel diatas menunjukkan bahwa salep mengalami penurunan daya sebar dengan meningkatnya perbandingan vaselin dan parafin pada salep, hal ini dipengaruhi oleh peningkatan viskositas karena konsistensi semakin padat. Apabila viskositas suatu sediaan meningkat, maka salep akan mudah menyebar. Dari hasil uji viskositas dapat disimpulkan bahwa FIII memiliki daya sebar yang paling baik.

9.5 Hasil pengujian daya lekat salep. Pemeriksaan daya lekat digunakan untuk mengetahui kemampuan melekatnya salep pada daerah pemakaiannya. Semakin lama salep melekat pada kulit maka kemungkinan obat untuk diabsorpsi dari kulit akan bekerja secara maksimal. Hasil pemeriksaan daya lekat dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Pemeriksaan daya lekat salep ekstrak daun teh hijau

Formula	Daya lekat (detik)
FI	1
FII	2
FIII	4
K -	4

Hasil pengukuran daya lekat salep menunjukkan bahwa semakin tinggi perbandingan basis maka semakin tinggi pula daya lekat salep. Peningkatan daya lekat salep disebabkan karena konsistensi salep yang semakin padat dan viskositas salep yang semakin meningkat pula. Dari hasil uji daya lekat dapat disimpulkan bahwa FIII memiliki daya lekat yang paling baik.

9.6 Hasil pengujian pH salep. Pemeriksaan pH dilakukan untuk melihat derajat keasaman suatu salep, yang harus sesuai dengan pH sediaan kulit. Hasil pemeriksaan pH dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Pemeriksaan pH salep ekstrak daun teh hijau

Formula	pH
FI	5,18
FII	5,2
FIII	5,3
K -	5,0

Dari hasil pengujian pH salep daun teh hijau menunjukkan bahwa basis mengalami peningkatan pH saat ditambahkan dengan ekstrak daun teh hijau. Dimana pH yang aman untuk kulit yaitu berkisar 4,5-6,5, sehingga salep ekstrak metanol daun teh hijau masih aman digunakan pada kulit karena pH yang terlalu asam dapat mengiritasi kulit sedangkan pH yang terlalu basa dapat membuat kulit bersisik.

10. Hasil uji farmakologi anti luka bakar salep ekstrak metanol daun teh hijau.

Hasil persentase rata – rata penyembuhan luka bakar selama 14 hari terhadap kulit punggung kelinci putih *New Zealand* dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Persentase rata-rata penyembuhan luka bakar

Hari ke-	Kontrol negatif	FI	FII	FIII	Kontrol positif
1	0	0	0	0	0
2	-3,74	-3,2	0,72	0	2,39
3	-5,25	3,15	1,44	-2,19	-1,61
4	-12,2	0,79	0	-6,65	-3,24
5	-21,82	-23,45	-2,18	-13,52	-12,41
6	-35,25	-30,61	-7,38	-11,21	-14,98
7	-33,53	-20,82	-14,24	-11,97	-11,56
8	-32,68	-30,61	-15,02	-5,15	-4,88
9	-25,11	-21,7	-9,6	0	3,18
10	2,94	-10,58	3,59	7,4	7,1
11	11,5	-0,8	14,64	25,1	24,75
12	24,89	17,42	23,75	38,31	44,2
13	37,18	34,47	41,55	57,16	57,67
14	43,47	41,34	55,55	64,43*	70,6*

Keterangan :

* : ada perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif

Proses penyembuhan luka bakar terdiri dari 3 fase yaitu fase inflamasi, fase proliferasi, dan fase maturasi. Fase inflamasi yang ditandai dengan adanya pembengkakan, fase proliferasi ditandai dengan adanya pembentukan eksudat dan fibroblas yang terlihat seperti kerak pada bagian atas luka bakar dan fase maturasi yang ditandai dengan terbentuknya jaringan baru yang berarti luka bakar sudah mengecil atau sudah sembuh.

Proses inflamasi terjadi hingga 3 hari setelah terjadinya luka, tanpa adanya inflamasi tidak akan terjadi proses penyembuhan luka. Luka akan tetap menjadi sumber nyeri sehingga proses inflamasi dan penyembuhan luka akan cenderung menimbulkan nyeri. Inflamasi berfungsi untuk mengontrol perdarahan, mencegah masuknya bakteri, menghilangkan kotoran dari jaringan yang luka dan mempersiapkan proses penyembuhan lanjutan. Tahap proliferasi ditandai dengan pembentukan jaringan granulasi pada luka. Apabila tidak ada kontaminasi atau infeksi yang bermakna, fase inflamasi berlangsung pendek. Setelah luka berhasil melewati proses inflamasi dimulailah fase proliferasi.

Pada penelitian ini diperkirakan fase proliferasi dimulai pada hari ke-4 dimana semua kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol telah memulai

proses penyembuhan luka yang ditandai dengan adanya fibroblas, setelah hari ke-1 sampai ke-3 diperkirakan mengalami fase inflamasi. Fibroblas muncul pertama kali pada hari ke-4 dan mencapai puncak pada hari ke-8 untuk kontrol positif, FIII (90:10) dan FII (70:30) sedangkan pada kontrol negatif dan FI (50:50) mencapai puncak pada hari ke-10. Sehingga pada hari ke-9, kontrol positif, FIII (90:10) dan FII (70:30) mengalami penyembuhan yang signifikan. Kontrol negatif dan FI (50:50) mengalami penyembuhan yang signifikan pada hari ke-11.

Pada hari ke-9, fibroblas pada kelompok FIII (90:10) dan FII (70:30) mulai terlepas dari kulit yang menunjukkan bahwa kelompok tersebut telah mencapai puncak fase proliferasi. Kedua formula ini memiliki kecepatan penyembuhan luka yang tercepat dan mendekati kontrol positif, karena memiliki daya lekat paling lama sehingga obat dalam salep lebih lama menempel kemudian terserap kedalam kulit lebih banyak. Sehingga dapat dinyatakan bahwa waktu kontak sediaan dengan kulit berpengaruh pada absorpsi obat kedalam kulit. Semakin besar waktu kontak obat pada kulit maka semakin meningkat konsentrasi obat yang diabsorpsi oleh kulit. Berdasarkan hasil penelitian formula yang paling efektif adalah FIII (90:10) dimana pada hari ke-14 persentase penyembuhan lukanya sudah mencapai 64,43% mendekati kontrol positif 70,6%. Hal ini dikarenakan FIII (90:10) memiliki sifat mutu fisik yang lebih baik dibandingkan formula yang lain.

Fase ketiga dan terakhir adalah fase maturasi. Fase ini merupakan fase terakhir dan terpanjang pada proses penyembuhan luka. Terjadi proses kontraksi luka dan pematangan parut. Selama fase ini jaringan baru yang terbentuk akan disusun sedemikian rupa seperti jaringan asalnya. Pada hari ke-10 menunjukkan bahwa untuk kelompok FIII (90:10) dan kontrol positif sudah memasuki tahap maturasi. Adapun proses pematangan ini tiap luka berbeda-beda tergantung pada efek sediaan yang telah diformulasi dan juga keadaan fisiologi hewan uji. Pada penelitian ini, setiap salep menunjukkan waktu penyembuhan yang berbeda-beda, yang berarti setiap fase juga berlangsung dalam waktu yang berbeda. FIII sembuh 100% pada hari ke-32 mendekati kontrol positif yang sembuh pada hari ke-31, FII

pada hari ke-33 serta FI dan kontrol negatif sembuh pada hari yang sama yaitu hari ke-34. Berdasarkan analisa data statistik onset dimulai pada hari ke-14.

Dari hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai $p > 0,05$ sehingga data terdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji *Levene* untuk melihat homogenitas diperoleh nilai $p > 0,05$ sehingga data homogen. Dilanjutkan dengan uji analisis *LSD*, dari hasil statistik dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan bermakna antara kontrol positif dan FIII terhadap kontrol negatif dimana nilai $p < 0,05$.

Pada fase inflamasi, agregat trombosit akan mengeluarkan mediator inflamasi *Transforming Growth Factor beta 1* (TGF $\beta 1$) yang juga dikeluarkan oleh makrofag. Adanya TGF $\beta 1$ akan mengaktivasi fibroblas untuk mensintesis kolagen. Daun teh hijau mengandung flavanoid, flavanoid utama dalam teh hijau adalah *catechin*, *epigallocatechin-3-gallat* (EGCG), *epigallocatechin* (EGC), *epicatechin-3-gallat* (ECG) dan *epicatechin* (EC). Sebagai senyawa polifenol utama, EGCG mempunyai efek anti inflamasi, antioksidan dan meningkatkan penyembuhan luka dan pembentukan jaringan scar melalui peningkatan kerja *Transforming Growth Factor-beta 1* (TGF). TGF-beta 1 merupakan faktor utama untuk merangsang proliferasi fibroblast, produksi kolagen dan diferensiasi fibroblast menjadi miofibroblas yang meningkatkan kontraksi luka (*Klass et al* 2010).