

**SURAT KETERANGAN CEK PLAGIASI**

No:713/H5-05/12.01.2022

Yang bertanda tangan ini :  
Nama : Rina Handayani,S.IP., M.IP  
Jabatan : Kepala UPT Perpustakaan

Menerangkan Bahwa

Nama : Evita Susilowati  
NIM : 23175117A  
Fakultas /Prodi : Farmasi / S1 Farmasi  
Judul Tugas Akhir : Formulasi Dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Sirih (Piper Betle L.) Terhadap Penyembuhan Luka Pada Punggung Kelinci (Oryctolagus Cuniculus) Yang Diinfeksi Bakteri *Pseudomonas Sp*

Telah dilakukan cek plagiasi di UPT Perpustakaan Universitas Setia Budi Surakarta menggunakan aplikasi turnitin dengan prosentase *similarity* **26%**

Kesalahan tata tulis(*typo*) tidak bisa terdeteksi Turnitin dan bukan menjadi tanggung jawab UPT Perpustakaan.

Demikian surat keterangan ini kami buat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 12 Januari 2022

Ka.UPT Perpustakaan



Rina Handayani,S.IP.,MIP



Evita Susilowati\_2375117A..doc

Jan 13, 2022

10415 words / 62351 characters

Evita Susilowati\_2375117A..doc

# FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK ET...

## Sources Overview

# 26%

OVERALL SIMILARITY

Rank	Source	Similarity
1	repository.setiabudi.ac.id INTERNET	9%
2	www.scribd.com INTERNET	2%
3	ejournal.unsrat.ac.id INTERNET	2%
4	123dok.com INTERNET	1%
5	docplayer.info INTERNET	1%
6	repo.poltekkes-medan.ac.id INTERNET	<1%
7	eprints.undip.ac.id INTERNET	<1%
8	vdocuments.site INTERNET	<1%
9	repositori.usu.ac.id INTERNET	<1%
10	eprints.uns.ac.id INTERNET	<1%
11	repository.usd.ac.id INTERNET	<1%
12	docobook.com INTERNET	<1%
13	id.scribd.com INTERNET	<1%
14	text-id.123dok.com INTERNET	<1%
15	skripsi-dulrohman.blogspot.com INTERNET	<1%
16	digilib.uinsby.ac.id INTERNET	<1%

17	perpustakaan.unej.ac.id INTERNET	<1%
18	indonesia-inggris.terjemahan.id INTERNET	<1%
19	www.coursehero.com INTERNET	<1%
20	Dspace.Uii.Ac.Id INTERNET	<1%
21	www.slideshare.net INTERNET	<1%
22	repository2.unw.ac.id INTERNET	<1%
23	lib.ui.ac.id INTERNET	<1%
24	nizsk-pharmacy.blogspot.com INTERNET	<1%
25	eprints.poltektegal.ac.id INTERNET	<1%
26	pt.scribd.com INTERNET	<1%
27	repository.uinjkt.ac.id INTERNET	<1%
28	www.campusnesia.co.id INTERNET	<1%
29	es.scribd.com INTERNET	<1%
30	repository.ucb.ac.id INTERNET	<1%
31	eprints.umm.ac.id INTERNET	<1%
32	acikerisim.dicle.edu.tr:8080 INTERNET	<1%
33	www.researchgate.net INTERNET	<1%
34	repositori.uin-alauddin.ac.id INTERNET	<1%
35	repository.helvetia.ac.id INTERNET	<1%
36	www.journal.uim.ac.id INTERNET	<1%
37	journal.ubb.ac.id INTERNET	<1%
38	proceedings.ums.ac.id INTERNET	<1%
39	repository.poltekkes-tjk.ac.id INTERNET	<1%

40	repository.ump.ac.id	INTERNET	<1%
41	repository.unfari.ac.id	INTERNET	<1%
42	selfiamona.blogspot.com	INTERNET	<1%
43	thousands-passed.xyz	INTERNET	<1%
44	jurnal.untan.ac.id	INTERNET	<1%
45	adoc.pub	INTERNET	<1%
46	edoc.pub	INTERNET	<1%
47	en.dgip.go.id	INTERNET	<1%
48	journal.unpacti.ac.id	INTERNET	<1%
49	r2kn.litbang.kemkes.go.id	INTERNET	<1%
50	repo.poltekkesbandung.ac.id	INTERNET	<1%
51	de.scribd.com	INTERNET	<1%
52	ejurnal.setiabudi.ac.id	INTERNET	<1%
53	ejurnal.stikes-bth.ac.id	INTERNET	<1%
54	jurnal.kimia.fmipa.unmul.ac.id	INTERNET	<1%
55	librepo.stikesnas.ac.id	INTERNET	<1%
56	repository.radenintan.ac.id	INTERNET	<1%
57	vibdoc.com	INTERNET	<1%

**Excluded search repositories:**

Submitted Works

**Excluded from document:**

Bibliography

Quotes

Small Matches (less than 10 words)

**Excluded sources:**

None

**6** **FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle L.*) TERHADAP PENYEMBUHAN  
LUKA PADA PUNGGUNG KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas sp***



**Oleh:**

**Evita Susilowati**

**23175117A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2022**

**6** **FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK  
ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle L.*) TERHADAP PENYEMBUHAN  
LUKA PADA PUNGGUNG KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) YANG  
DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas sp***

**1** **SKRIPSI**

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai  
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)*

*Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi*

**Oleh:**  
**Evita Susilowati**  
**23175117A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2022**

## ABSTRAK

EVITA SUSILOWATI, 2022, UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle L.*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas sp* PADA KELINCI (*Orytolagus cuniculus*), PROPOSAL SKRIPSI, PROGRAM STUDI SI FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. Dibimbing oleh apt. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm. dan apt. Dra. Suhartinah, M.Sc.

Luka sayat merupakan jenis luka terbuka yang memiliki tiga fase penyembuhan yaitu fase inflamasi, fibroplasi, dan maturasi. *Pseudomonas sp* adalah bakteri multiresisten yang sering menginfeksi luka sayat, luka iris, luka bakar, dan luka lecet. Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih terhadap penyembuhan luka yang terinfeksi bakteri *pseudomonas sp* pada kelinci.

Ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi. Ekstrak yang diperoleh diformulasikan dalam bentuk sediaan gel dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, 7% basis carbopol. Sediaan gel diuji mutu fisik meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji viskositas, uji daya sebar, uji pH, dan uji stabilitas. Hasil mutu fisik sediaan gel dianalisis dengan uji statistik SPSS dengan menggunakan uji one way ANOVA yang dilihat normalitas dan homogenitas yang selanjutnya dilanjutkan dengan uji Post hoc test. Uji efektivitas penyembuhan luka dilakukan pada luka sayat punggung kelinci yang diinfeksi dengan bakteri *Pseudomonas sp* kemudian diuji dengan uji statistik SPSS one way ANOVA.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil gel ekstrak etanol memiliki mutu fisik yang bagus dan memiliki aktivitas penyembuhan luka sayat. Aktivitas penyembuhan luka sayat paling efektif terdapat pada formula 3 dengan presentase penyembuhan %, diikuti formula 2 dengan presentase penyembuhan %, dan formula 1 dengan presentase %.

---

Kata kunci : daun sirih (*Piper betle L.*), gel, luka sayat, *Pseudomonas sp*.

## ABSTRACT

SUSILOWATI, E. 2022, FORMULASI DAN UJI EFEKTIVITAS SEDIAAN GEL EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH (*Piper betle L.*) TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA PADA PUNGGUNG KELINCI (*Oryctolagus cuniculus*) YANG DIINFEKSI BAKTERI *Pseudomonas* sp, SKRIPSI, PROGRAM STUDI SI FARMASI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. Dibimbing oleh apt. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm. dan apt. Dra. Suhartinah, M.Sc.

An incision wound is a type of open wound that has three healing phases, namely the inflammatory phase, fibroplation, and maturation. *Pseudomonas* sp is a multiresistent bacterium that often infects cuts, iris wounds, burns, and abrasions. The study aimed to test the effectiveness of betel leaf ethanol extract gel preparations against healing wounds infected with *pseudomonas* sp bacteria in rabbits.

Extraction in this study uses a maceration method. The extract obtained is formulated in the form of gel preparations with a concentration variation of 3%, 5%, 7% basis carbopol. Gel preparations tested for physical quality include organoleptic tests, homogeneity tests, viscosity tests, scatter power tests, pH tests, and stability tests. The physical quality results of gel preparations are analyzed with SPSS statistical tests using ANOVA one way tests that are seen as normality and homogeneity which is then followed by a Post hoc test. A test of the effectiveness of wound healing is performed on the back of the rabbit infected.

he results showed that the results of ethanol extract gels have good physical quality and have wound healing activity. The most effective wound healing activity is found in formula 3 with a percentage of healing %, followed by formula 2 with a percentage of healing %, and formula 1 with a percentage%.

---

Keywords : daun sirih (*Piper betle L.*), gel, sores, *Pseudomonas* sp.



## BAB<sup>5</sup>

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang

Luka adalah serangkaian proses kerusakan yang timbul pada jaringan yang ditandai dengan hilangnya beberapa komponen penting pada jaringan (Kaplan dan Hentz, 1992). Jenis luka dapat dibedakan menjadi 2 jenis yakni luka terbuka dan luka tertutup. Luka terbuka seperti sayatan pada area tubuh sehingga jaringan mengalami robekan linier dibawahnya. Ciri-ciri luka sayat antara lain tidak ditemukan memar, dan tidak terdapat *bridging* jaringan memanjang dari suatu sisi kesisi lain, maka akan diikuti dengan regenerasi atau perbaikan jaringan yang merupakan respon fisiologis tubuh. Proses kesembuhan luka akan mengalami 3 fase yakni inflamasi, fase proliferasi, dan fase *remodeling* yang terjadi secara berkelanjutan (Wiksmann *et al.*, 2007).

Infeksi adalah suatu kondisi yang dapat disebabkan oleh adanya luka sayat. Hal ini terjadi karena masuknya bakteri patogen contohnya adalah *Pseudomonas sp.* Gejala infeksi akibat *Pseudomonas sp* ditunjukkan dengan timbulnya abses bernanah pada jaringan yang rusak (Jawetz MA, 2014). Luka sayat dapat disembuhkan dengan alternatif pengobatan menggunakan suatu sediaan yang mengandung zat aktif sebagai obat penyembuhan luka. Zat aktif tersebut dapat berasal dari bahan sintetis atau bahan alam. Pemanfaatan tanaman atau bahan alam untuk pengobatan relatif lebih aman karena efek samping dan toksisitas yang ditimbulkan cukup rendah. Daun sirih hijau (*Piper betle* L) memiliki potensi menjadi bahan obat luka.

Daun sirih merupakan tanaman obat berguna sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi. Selain itu, daun sirih juga dapat dimanfaatkan sebagai antiseptik dan membantu dalam penyembuhan luka. Kandungan senyawa kimia dalam daun sirih antara lain saponin, flavonoid, dan tanin merupakan senyawa berpotensi sebagai preparat antimikroba yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka dan epitelisasi (Putri, Z.F, 2010).

Gel merupakan salah satu sediaan semi solid tersusun atas suspensi partikel organik yang besar atau partikel anorganik kecil terpenetrasi pada suatu larutan. Sediaan gel memiliki kelebihan yaitu mudah mengering, memberikan sensasi sejuk pada kulit, dan mudah dicuci. Gel berguna sebagai pembawa obat terkhusus diaplikasikan pada bagian mukosa, gel juga mengandung basis gel yang baik yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik (Ansel, 2008).

Hasil penelitian Komang *et al.* (2014) menyebutkan ekstrak etanol daun sirih mampu mempercepat penyembuhan luka pada konsentrasi 20%. Penelitian lain oleh Fannani dan Nugroho (2014) ekstrak etanol daun sirih yang diformulasikan menjadi sediaan salep mampu membantu mempersingkat proses penyembuhan luka sayat pada tikus putih jantan. Berdasarkan uraian diatas maka dapat dilakukannya penelitian tentang pengaruh sediaan gel ekstrak daun sirih terhadap proses penyembuhan luka.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, maka disusun rumusan masalah sebagai berikut:

Pertama, apakah gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) mempunyai efek sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas* sp?

Kedua, pada konsentrasi berapakah gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) paling efektif sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas* sp?

Ketiga, apakah sediaan gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) yang dibuat memiliki mutu fisik dan stabilitas yang baik?

### <sup>1</sup>C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka disusun tujuan penelitian sebagai berikut:

Pertama, untuk mengetahui apakah gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) efektif sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas sp.*

Kedua, untuk mengetahui konsentrasi terbaik pada gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) yang mempunyai efektivitas sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas sp.*

Ketiga, untuk mengetahui mutu fisik dan stabilitas yang baik pada sediaan gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*)

### <sup>27</sup>D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pembuktian secara ilmiah mengenai efektivitas formulasi sediaan gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) sebagai penyembuh luka yang terinfeksi bakteri *pseudomonas sp* pada kelinci (*orytolagus cuniculus*) dan digunakan sebagai salah satu acuan untuk penelitian lebih lanjut. Dapat memberikan informasi bagi masyarakat mengenai manfaat daun sirih yang dapat digunakan sebagai penyembuhan luka sayat akibat bakteri *pseudomonas sp.*

## 50 BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Daun Sirih

##### 1. Sistematika tanaman sirih



Gambar 1. Tanaman Daun Sirih

Klasifikasi sirih (*Piper betle* L.) Menurut (Tjitrosoepomo, 1993) <sup>19</sup> adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub Divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper betle</i> L.

##### 2. Morfologi Sirih Hijau (*Piper betle* L.) <sup>43</sup>

Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) adalah tumbuhan rambat hidup dengan menumpang di batang pohon lain, memiliki tinggi 5-15 meter. Jenis daun tunggal memiliki bentuk yang beragam menyerupai jantung, tepi daun rata, tangkainya agak panjang, runcing pada <sup>28</sup> ujung daun, pangkal daun berlekuk, tulang daun menyirip, dan daging daun tipis. Permukaan daun berwarna hijau icin, dengan batang memiliki warna hijau kecoklatan serta memiliki tekstur kasar berbuku-buku (Damayanti dkk, 2006).

##### 3. Manfaat daun sirih

Daun sirih dikenal oleh masyarakat dan dimanfaatkan di Indonesia sudah sejak 600 M. Secara empiris daun sirih berguna sebagai obat kumur dan penyembuhan luka. Dari

penelitian terdahulu daun sirih digunakan sebagai bahan penyegar mulut, anti bakteri, anti jamur, dan antioksidan (Fannani dan Nugroho., 2014). Daun sirih memiliki kandungan tannin yang dapat digunakan untuk mengurangi cairan sekresi pada vagina, mencegah diare, dan melindungi fungsi hati. Daun sirih dapat bersifat analgesic serta dapat mematkan pertumbuhan *Candida albicans*, dan mencegah ejakulasi dini karena memiliki kandungan senyawa eugenol. Kandungan *arecoline* diseluruh bagian tanaman daun sirih juga dapat digunakan untuk meningkatkan gerakan peristaltik, menstimulasi SSP dan daya pikir (Damayanti R dan Mulyono, 2005).

#### 4. Kandungan kimia

Metabolit sekunder yang ditemukan dalam daun sirih seperti minyak atsiri dengan beberapa derivatnya yaitu eugenol, alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid, saponin, terpen, fenilpropan, tannin, cineol, *methyl eugenol*, *caryophyllen*, dan triterpen (Sastroamidjoyo, S.A, 2001). Daun sirih berumur muda maupun tua memiliki kandungan senyawa tannin yang sama, daun sirih muda juga memiliki kandungan *diastase* dan gula yang lebih banyak. Daun sirih juga memiliki kandungan prolin dan ornitin, glisin dalam bentuk gabungan, asparagine, dan mengandung asam amino kecuali lisin, histidin, dan arginine (Davis dan Darwis S.N, 1992).

### <sup>1</sup>B. Simplisia

#### 1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah suatu preparat alami berguna sebagai pengobatan alternatif yang belum melalui serangkaian proses pengolahan kecuali dalam bentuk keringnya. Pada penelitian ini digunakan bahan awal daun sirih yang merupakan jenis simplisia nabati. Simplisia nabati yakni simplisia dari sebagian atau seluruh bagian tumbuhan maupun eksudatnya (isi sel yang keluar tidak disengaja ataupun dengan cara tertentu dikeluarkan dari tanaman dan belum berupa zat kimia murni) (Depkes RI, 1979).

#### 2. Proses Pembuatan Simplisia

**2.1 Pengumpulan bahan baku.** Merupakan tahap utama pada proses pembuatan simplisia. Penentuan bahan baku juga dapat menentukan kualitas simplisia yang akan dihasilkan. Tanaman sirih diambil daunnya dalam kondisi segar dan terbebas dari hama.

**2.2 Sortasi basah.** Tujuan dari tahap ini yaitu memilah simplisia segar yang telah didapatkan dengan pengotor seperti batu, tanah, dan bagian tanaman lain yang tidak digunakan.

**2.3 Pencucian.** Tahap ini bertujuan membersihkan simplisia dari pengotor yang masih menempel dan hendaknya dicuci menggunakan air mengalir.

**2.4 Pengeringan.** Simplisia yang sudah mengalami tahap pencucian kemudian dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven. Tujuan dari pengeringan yaitu mengurangi kadar air dan menghentikan proses enzimatik yang mampu merusak kandungan aktif dari simplisia serta memperpanjang masa simpan simplisia dan memudahkan dalam tahapan berikutnya.

**2.5 Sortasi kering.** Seperti sortasi basah, tujuan dari proses sortasi kering yaitu memilah benda asing dan kotoran yang tidak diperlukan serta mampu menurunkan mutu simplisia yang telah dibuat.

### 3. Ekstraksi

Ekstraksi adalah serangkaian tahap penyarian senyawa aktif suatu simplisia dengan pelarut yang sesuai. Senyawa aktif pada simplisia padat digolongkan menjadi minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, dll. Dengan adanya penggolongan ke polaran metabolit sekunder maka akan memudahkan pemilihan *solvent* dan metode penyarian yang sesuai (Mukhrani, 2014).

Prinsip dari ekstraksi ialah mencapai tingkat kesetimbangan antara konsentrasi didalam sel simplisia dengan konsentrasi yang berada diluar. Adapun mekanisme ekstraksi antara lain, dinding sel akan membesar akibat dorongan dari luar (*solvent* mengisi dan memenuhi rongga dinding sel kemudian masuk kedalam sel). Metabolit sekunder akan larut sesuai dengan kelarutannya dan berdifusi keluar karena terdapat gaya yang diakibatkan oleh perbedaan konsentrasi zat terdispersi di dalam dan di luar sel. Menurut Ubay (2011) terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi proses dan ekstrak yang dihasilkan antara lain *solvent* yang digunakan, suhu, perbandingan jumlah simplisia dan *solvent* yang digunakan, ukuran partikel simplisia, pengadukan, dan durasi ekstraksi. Secara garis besar ekstraksi dibedakan kedalam cara panas dan cara dingin (Voigt, 1995). Berikut metode-metode ekstraksi :

**3.1 Maserasi.** Suatu metode ekstraksi cara dingin dan paling mudah untuk dilakukan karena tidak memerlukan alat khusus. Proses maserasi dimulai dengan perendaman serbuk simplisia menggunakan *solvent* yang sesuai dengan beberapa kali penggojokan dan dilakukan pada suhu ruang. Umumnya maserasi diikuti dengan proses remaserasi, yakni suatu mengulang proses maserasi dengan sekurang-kurangnya menggunakan setengah jumlah pelarut maserasi (Kemenkes RI, 2013)

**1.2 Perkolasi.** Metode penyarian cara dingin dengan *solvent* yang selalu baru dan alat perkolator. Perkolator berupa silinder sempit yang panjang dengan kedua ujungnya berbentuk kerucut terbuka. Perkolasi adalah salah satu teknik ekstraksi sempurna (Endarini, 2016).

**1.3 Refluks.** Refluks merupakan metode ekstraksi yang menggunakan jumlah pelarut terbatas yang relatif konsisten dengan pendinginbalik dalam jangka waktu tertentu serta membutuhkan pemanasan (Ditjen POM, 2000)

**1.4 Sokletasi.** *Soxhletasi* merupakan proses penyarian simplisia dengan cara panas sehingga pelarut akan menguap dan membasahi sampel serta menggunakan penyarian secara berulang (sirkulasi) (Rukmana, 2017).

**1.5 Infusa.** Infusa adalah proses penyarian senyawa kimia simplisia menggunakan pelarut air pada titik didihnya selama 15-20 menit (Depkes RI, 2007).

**1.6 Dekokta.** Dekokta merupakan proses ekstraksi simplisia yang menggunakan pelarut air dan larut dalam air selama 30 menit pada suhu 90-100°C (Depkes RI, 2007).

## 2. Pelarut

Pelarut adalah zat yang sangat diperlukan dalam proses ekstraksi, karena dengan adanya pemilihan dan penggunaan pelarut yang tepat akan berpengaruh terhadap jumlah senyawa aktif yang terekstrak. Pelarut yang sering dimanfaatkan untuk ekstraksi yaitu pelarut organik. Etanol merupakan pelarut universal yang akan digunakan pada penelitian ini (Arifianti *et al.*, 2014).

Alasan pemilihan etanol sebagai pelarut yaitu sifatnya non toxic, dapat dicampur dengan air dalam berbagai konsentrasi, memiliki range kelarutan yang tinggi, dan titik didih yang cukup rendah sehingga akan mempercepat proses ekstraksi serta pemekatan ekstrak (Gandjar dan Rohman, 2007). Etanol dapat melarutkan <sup>54</sup>senyawa flavonoid, saponin, tanin, antrakuinon, terpenoid, dan alkaloid (Harbone, 1987).

## C. Gel

### 1. Pengertian Gel

Gel merupakan sediaan semi solid tersusun atas suspensi partikel organik kecil maupun makromolekul organik dan terpenetrasi pada suatu larutan. Ditujukan untuk pemakaian luar dan salah satu sediaan semi padat yang mengandung air paling besar yang berfungsi untuk memberikan sensasi dingin pada kulit setelah aplikasi (Depkes RI, 1995). Menurut Farmakope Indonesia edisi IV gel dapat digolongkan menjadi 2 macam seperti berikut:

**1.1. Gel sistem satu fase.** Pada sediaan gel ini tidak terdapat ikatan antar molekul terdispersi pada cairan, karena tersusun atas makromolekul organik yang terdispersi dalam suatu cairan. Karbomer dan gom alam merupakan jenis sistem gel yang dapat dibuat dari

makromolekuler sintetik. Fase pembawa dalam sediaan gel dapat menggunakan minyak etanol dan air.

**1.2. Gel sistem dua fase.** Pada sistem dua fase, gel tersusun atas jaringan partikel kecil terpisah maupun partikel besar (magma). Gel dengan fase ini akan berubah menjadi cair apabila dilakukan pengocokan.

## 2. Uji sediaan gel

Untuk mengetahui sifat dan mutu fisik sediaan yang telah dibuat maka dilakukan serangkaian evaluasi diantaranya :

**2.1 Uji organoleptis.** Pemeriksaan mutu fisik sediaan gel dengan panca indera terdiri atas warna, bau, dan tekstur gel yang telah dibuat.

**2.2 Uji homogenitas.** Dilakukan untuk mengetahui pencampuran atau homogenitas bahan sediaan telah tercampur merata atau belum. Pemeriksaan dengan mengoleskan sejumlah gel pada permukaan objek gelas lalu ditutup menggunakan objek gelas lainnya. Hasil positif bila tidak ditemukan butiran dan gumpalan pada sediaan gel.

**2.3 Uji daya sebar.** Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan sebaran sediaan gel pada permukaan kulit. Pengujian dengan cara meletakkan sejumlah gel pada kaca bulat dengan silinder kemudian ditutup dengan penutupnya selanjutnya diberikan beban. Kemudian mencatat diameter daya sebar gel yang diperoleh.

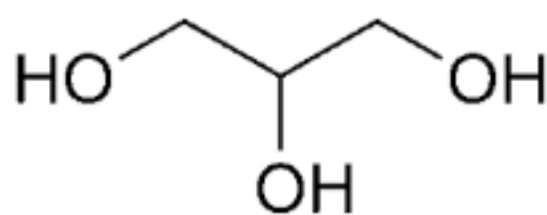
**2.4 Uji pengukuran pH.** Pemeriksaan pH menggunakan pH meter digital yang berguna untuk melihat sediaan gel telah sesuai dengan pH kulit. Pertama pH meter dikalibrasi terlebih dulu. Sediaan gel kemudian diletakkan pada suatu wadah dan dicelupkan dengan elektroda pH meter hingga menghasilkan nilai konstan.

**2.5 Uji viskositas.** Pemeriksaan viskositas berguna untuk menentukan kekentalan dari sediaan gel menggunakan *viscometer Brookfield*.

## 3. Monografi bahan sediaan gel

**3.1 Gliserin.** Gliserin mengandung  $\geq$  dari 95,0% dan  $\leq$  101,0% gliserol. Larut pada air dan etanol 95%. Gliserin berfungsi sebagai humektan (melembabkan kulit). Memiliki pemerian latutan kental transparan, tidak berbau dan rasanya manis. Kelebihan dari bahan ini adalah mudah dibersihkan menggunakan air (Arita *et al.*, 2009).





Gambar 2. Rumus struktur gliserin (Widianingsih., 2009).

**3.2 Carbopol.** Memiliki rumus molekul  $(C_3H_4O_2)_n$  dan BM 72 gr/mol. Memiliki pemerian warna putih dan berbentuk serbuk halus. Dengan viskositas yang baik, carbopol sering digunakan sebagai bahan pengental (Niazi, 2009).

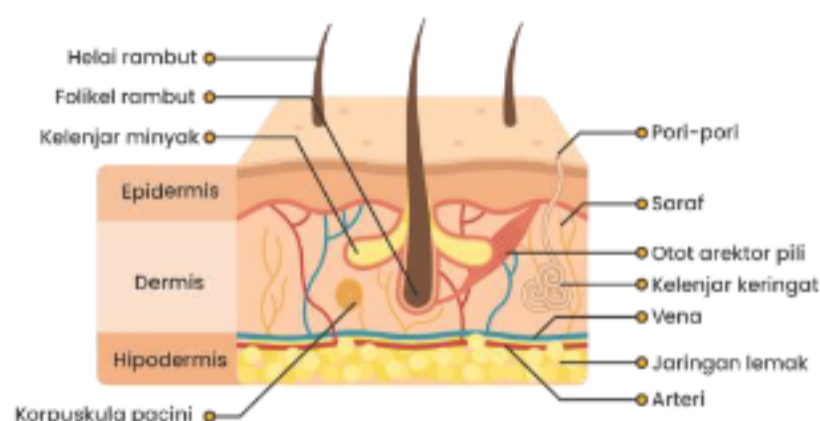
**3.3 Trietanolamin.** Memiliki viskositas 590 mPas dengan temperatur 30°C larutan transparan kental dan berbau ammonia. TEA tidak stabil dengan cahaya yang ditandai perubahan warna lautan. TEA akan bereaksi dengan asam mineral dengan membentuk garam kristal dan ester.

**3.4 Metil paraben.** Serbuk halus, putih, tidak berbau, tidak berasa, membakar diikuti rasa tebal. Larut dalam bagian air, aseton P, dan mudah larut dalam eter P, titik leleh 125-128°C dan pKa 8.4 pada suhu 22°C.

**3.5 Aquadest.** Air murni yang dapat diperoleh melalui suatu tahap penyulingan. Aquadest merupakan suatu air yang bebas terhadap kotoran maupun mikroba yang ada jika dibandingkan dengan air biasa. Pada sediaan yang mengandung air, air murni banyak digunakan tetapi tidak pada sediaan parenteral (Ansel, 1989). Pada sediaan farmasi aquadest dapat berfungsi sebagai pelarut maupun medium pendispersi.

## D. Kulit

### 1. Pengertian kulit



Gambar 5. Anatomi kulit

Kulit yaitu organ terluar tubuh dan berguna sebagai jaringan perlindungan terhadap rangsangan eksternal. Susunan kulit sangat kompleks, elastis dan sensitif, bervariasi pada keadaan iklim, umur, jenis kelamin, ras, dan juga bergantung pada lokasi tubuh. Kulit selain

sebagai perindung kulit memiliki fungsi penyerapan, indera perasa, dan fungsi pergetahan (Tanjung, 2015).

**1.1 Epidermis.** Lapisan terluar dari kulit yang tersusun atas stratum lusidum, s.korneum, s.stratum granulosum, s.spinosum dan s. basale. Epidermis mempunyai tebal 5% dari seluruh ketebalan kulit dengan lapisan tertebal terketak pada telapak tangan dan kaki (Perdanakusuma, 2007).

**1.2 Dermis.** Lapisan kulit terdiri atas beberapa susunan yang memiliki bentuk dan keadaan berbeda. Serabut kolagen pada dermis akan menebal sedangkan pembentukan kolagen pada dermis akan berkurang seiring dengan bertambahnya usia manusia. Lapisan dermis tersusun atas folikel rambut, kelenjar keringan, papilla rambut, saluran keringat, kelenjar sebacea, otot penegak rambut, ujung pembuluh darah dan ujung saraf, serta serabut lemak yang terdapat pada lapisan lemak bawah kulit (Tranggono dan Latifah, 2007).

**1.3 Lapisan subkutan.** Lapisan subkutan terdiri dari lapisan lemak yang terdapat pada lapisan bawah dermis (Perdanakusuma, 2007).

## E. Luka sayat

### 1. Pengertian luka

Luka merupakan keadaan kulit menjadi robek, terpotong, tertusuk, atau trauma benda tumpul yang menyebabkan kontusi. Macam luka dibagi menjadi 2 yakni luka terbuka dan tertutup. Luka terbuka dibedakan berdasarkan objek penyebab luka yaitu luka insisi, luka laserasi, luka abrasi, luka tusuk, luka penetrasi, dan luka tembak. Luka tertutup seperti kontusi, hematoma, dan luka tekan (Ryanto, 2017).

Derajat kedalaman luka sayat diklasifikasikan menjadi empat yaitu Stadium I, pada stadium I kulit masih intak namun terjadi perubahan suhu pada kulit, konsistensi jaringan, sensasi dan warna kulit disekitar luka. Stadium II, mengakibatkan lapisan epidermis dan sebagian dermis hilang. Stadium III mengakibatkan seluruh epidermis dan dermis hilang namun tidak terjadi fascia. Terakhir stadium IV luka terjadi pada seluruh jaringan kulit dan jaringan bawah kulit selain itu didapati nekrosis jaringan (Judd, 2007).

### Penyembuhan luka

Tahapan perbaikan luka terdapat 3 fase yakni pertama terjadinya fase inflamasi berlangsung ketika didapati luka hingga hari ke-5. Terjadi kelainan seperti perdarahan selanjutnya terjadi pembekuan darah karena adanya kontraksi otot polos pada dinding pembuluh darah yang terluka dan agregasi darah oleh trombin dan fibrin. Pada inflamasi

diikuti dengan keluarnya sel leukosit dan antibodi tubuh sehingga menyebabkan pelebaran pembuluh darah dan menimbulkan edema (Samudra, 2019).

Fase kedua adalah proliferasi yang terjadi mulai hari ke 6-3 minggu pasca jaringan terkena luka. Kemudian fibroblast akan berproliferasi. Pada fase ini akan diperoleh sejumlah jaringan granulasi yang tersusun atas sel fibroblast, serat kolagen, sel inflamasi, kapiler baru, dan hasil angiogenesis. Luka akan mengecil karena adanya kontraksi serat-serat kolagen memnggabungkan tepian luka. Setelah itu akan terjadi epitelisasi karena adanya migrasi dan mitosis sel-sel stratum basal dan keratinosit menuju ke bagian tengah luka. Seluruh proses berhenti saat semua permukaan luka tertutupi oleh epitel.

Fase terakhir yakni maturasi, ketika seluruh bentuk baru karena proses *repair* akan kembali mengecil dan matang. Proses ini berlangsung 2 bulan hingga 1 tahun. Beberapa ciri yang dapat dikenali ketika fase ini telah berakhir, saat peradang<sup>5</sup> hilang, pucat, tak ada rasa sakit, lemas tak ada indurasi, dan pembengkakan telah hilang (Bisono, 2002).

#### F. Bakteri uji *Pseudomonas* sp



Gambar 6. Bakteri *Pseudomonas* sp

##### 1. Morfologi

*Pseudomonas* adalah bakteri *bacill* lurus atau melengkung, memiliki ukuran<sup>21</sup> 0.5 - 0.11  $\mu\text{m}$  x 1.5 - 4.0  $\mu\text{m}$ , tidak membentuk spora dan merupakan bakteri Gram negatif, aerob, sumber energi berupa atom H atau C, mati dalam kondisi pH asam 4,5 (Holt *et al* 2000).

##### 2. Klasifikasi

Klasifikasi bakteri *Pseudomonas* menurut (Holt *et al.*, 1994) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas

Karakteristik bakteri *Pseudomonads sp* yang dapat dilihat yaitu menghasilkan pigmen *pyoverdin* atau *fenazin* dimedai *King's B* sehingga akan berpendar bila dilihat menggunakan sinar UV.

## G. Hewan Uji

Hewan uji merupakan hewan yang digunakan untuk pengembangan dan pembelajaran bidang-bidang ilmu dalam skala pengamatan laboratorium atau penelitian. Hewan uji digunakan sebagai penunjang dalam melakukan penelitian terhadap vaksin, obat, atau penelitian biologis. Hewan uji yang sering digunakan untuk penelitian adalah hewan yang memiliki sktruktur dan susunan sel yang mirip dengan manusia, hewan tersebut diantaranya tikus, mencit, hamster, dan kelinci (Hidayah, 2019).

Menurut Kartadisastra (2001) klasifikasi kelinci adalah sebagai berikut : Kingdom :

15	<b>Animalia</b>	
	<b>Filum</b>	: Chordata (mempunyai penyokong tubuh dalam)
	<b>Subfilum</b>	: Vertebrata (hewan bertulang balakang)
	<b>Kelas</b>	: Mammalia (mempunyai kelenjar susu)
	<b>Ordo</b>	: Lagomorpha (kaki depan pendek)
	<b>Famili</b>	: Leporidae (telinga panjang)
	<b>Genus</b>	: <i>Oryctolagus</i>
	<b>Spesies</b>	: <i>Oryctolagus cuniculus</i>

Kelinci lokal adalah hewan uji dalam penelitian ini dengan kriteria kelamin jantan, berusia 3 bulan, bobot  $\pm$  2 kg dalam keadaan sehat, tidak memiliki infeksi kulit dan belum pernah digunakan pada penelitian sebelumnya. Alasan digunakannya kelinci pada penelitian ini karena memiliki ukuran tubuh (punggung) yang besar dan digunakan sebagai area pengujian kulit yang sebelumnya bulu kelinci hendaklah dicukur, dan tidak mudah stress (Handayani *et al.*, 2009).

## H. Landasan teori

Luka merupakan hilangnya jaringan tubuh yang mengganggu sistem perlindungan tubuh. Luka dapat dibedakan menjadi 2 yakni terbuka dan luka tertutup. Luka sayat yaitu jenis luka terbuka dengan ciri timbulnya robekan lurus pada kulit, meradang, panjang luka lebih besar dari pada dalamnya luka (Pusponegoro, 2005). Luka ini umum disebabkan sayatan benda tajam seperti pembedahan (Berman, 2009).

Salah satu tumbuhan berpotensi untuk penyembuhan luka adalah sirih hijau (*Piper betle* L.). Daun sirih mempunyai kandungan metabolit sekunder seperti saponin, flavonoid, dan tanin berpotensi sebagai antimikroba yang dapat mempengaruhi penyembuhan luka dan epitelisasi (Putri, Z.F, 2010). Senyawa saponin memiliki kemampuan untuk mendukung sintesa kolagen (protein struktur berguna untuk mendukung penyembuhan luka), sedangkan senyawa tanin dan flavonoid menunjukkan aktivitas antibakteri dengan cara merusak dinding sel bakteri (Ayu, 2012).

Sediaan obat luka pada umumnya berbentuk setengah padat atau cair. Gel yaitu sediaan semi solid yang berbentuk suspensi yang mengandung partikel organik kecil atau makromolekul organik, serta terpenetrasi pada suatu larutan. Gel merupakan sediaan yang digunakan untuk obat luar. Bentuk sediaan gel paling sering digunakan sebagai obat penyembuhan luka karena praktis dalam pemakaiannya dan daya sebar yang lebih cepat dibanding sediaan semi solid lain (Halim, 2014).

Hasil penelitian Komang *et al.* (2014) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun sirih dapat mempersingkat waktu pemulihan luka pada konsentrasi 20%. Penelitian lain oleh Fannani dan Nugroho (2014) salep ekstrak etanol daun siri mampu mendukung dan mempersingkat proses pemulihan luka sayat pada tikus putih jantan. Berdasarkan uraian diatas maka dapat dilakukannya penelitian pengaruh sediaan gel ekstrak daun sirih terhadap proses penyembuhan luka.

## I. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori diatas didapatkan suatu hipotesis yaitu :

Pertama, gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) mempunyai efek sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas* sp.

Kedua, gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* L) dengan konsentrasi 7% mempunyai efektivitas sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas* sp.

Ketiga, sediaan gel ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) memiliki mutu fisik dan stabilitas yang baik.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan sampel**

Populasi merupakan objek sasaran yang diteliti pada suatu penelitian. Populasi dari penelitian ini yaitu tanaman sirih (*Piper betle L.*) yang diperoleh dari desa Wates, Wonogiri, Jawa Tengah.

Sampel merupakan bagian kecil populasi yang mewakili karakteristik dari suatu populasi dalam penelitian. Sampel dari penelitian ini yaitu daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*).

#### **B. Variabel penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dari penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dengan metode maserasi.

Variabel utama kedua dari penelitian ini yakni sediaan gel ekstrak etanol daun sirih hijau dengan varian konsentrasi dan pengujian stabilitas fisik sediaan gel dengan berbagai macam pengujian.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel bebas yaitu variabel utama yang nilainya sengaja diubah-ubah untuk dilihat pengaruh yang ditimbulkan terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dari penelitian ini yaitu variasi konsentrasi ekstrak daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dalam sediaan gel.

Variabel tergantung yaitu variabel yang berguna sebagai inti persoalan dan merupakan variabel terpengaruh oleh variabel bebas. Variabel tergantung dari penelitian ini yaitu efek penyembuhan luka sayat yang terinfeksi bakteri *Pseudomonas sp* dan mutu fisik sediaan gel yaitu uji organoleptik, homogenitas, viskositas, pH, daya sebar, daya lekat, dan stabilitas

Variabel terkendali yaitu variabel yang memiliki pengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel terkendali dari penelitian ini yaitu komposisi bahan sediaan gel, kondisi laboratorium penelitian, cara pembuatan sediaan gel, hewan uji, dan waktu pemberian perlakuan

##### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun sirih hijau (*Piper betle L.*) diambil di desa Wates, kecamatan Girimarto, kabupaten wonogiri, jawa tengah.

Kedua, serbuk daun sirih adalah serbuk simplisia dari tanaman sirih yang dibuat melalui proses pencucian, pengeringan, penggilingan, dan pengayakan menggunakan mesh 60.

Ketiga, ekstrak daun sirih merupakan hasil penyarian serbuk daun sirih dengan etanol 96 sebagai pelarut dan diperoleh menggunakan teknik maserasi kemudian dikentalkan pada *rotary evaporator* temperatur 40°C.

Keempat, formula sediaan gel ekstrak daun sirih yaitu formulasi ekstrak daun sirih yang dibuat dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, dan 7%

Kelima, uji mutu fisik sediaan gel yaitu pemeriksaan kualitas gel terhadap uji organoleptik, <sup>2</sup>nomogenitas, viskositas, pH, daya sebar, daya lekat, dan stabilitas.

### C. Alat da bahan

#### 1. Alat

Alat yang diperlukan dipenelitian ini yaitu neraca analitis, <sup>3</sup>ayakan *mesh 60*, batang pengaduk, blender, cawan petri, kandang, erlenmeyer, seperangkat alat gelas, kertas saring, *aluminium foil*, oven, *waterbath*, *magnetic stirer*, pot gel, kapas steril, stamfer dan mortir, *object glass* dan *deck glass*, *hot plate*, pisau bedah, LAF, bunsen, silet <sup>3</sup>bulu, penggaris, plat kaca, kamera, label, sarung tangan, masker, kaca arloji, autoklaf, jarum ose dan inkubator.

#### <sup>27</sup>2. Bahan

Bahan yang diperlukan di penelitian antara lain daun sirih hijau (*Piper betle L.*), Etanol 95%, NaCMC, Gliserin, PG, akuades, etanol 70%, salep betadine, asam sulfat,  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , NaCl 0,9%, nutrient agar (NA), kelinci dan bakteri *Pseudomonaas sp.*

### D. Jalannya penelitian

#### 1. Determinasi tumbuhan

Determinasi berguna untuk menghindari kesalahan dalam pemilihan bahan tumbuhan pada suatu penelitian. Determinasi tanaman dilakukan dengan mencocokkan kebenaran sampel daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) terkait karakteristik morfologis yang ada pada tanaman Sirih Hijau dibuktikan pada Laboratorium bahan alam Universitas Setia Budi.

#### 2. Pengambilan bahan dan pembuatan serbuk

Bagian dari Daun sirih hijau yang diambil adalah daunnya diperoleh dari desa Wates, Wonogiri, Jawa tengah. Daun sirih hijau yang sudah dikumpulkan kemudia di cuci bersih dengan menggunakan air mengalir untuk memisahkan dari kotoran berupa kerikil, tanaman lain, hama, maupun tanah yang menempel pada daun. Setelah dicuci dengan bersih kemudian daun ditimbang untuk mengetahui bobot awal, kemudian daun dikeringkan padat oven dengan suhu 50°C. Proses pengeringan digunakan untuk menghentikan proses enzimatis yang

masih berlangsung yang dapat berpengaruh zat aktif simplia, menjaga agar daun tidak mudah ditumbuhi oleh kapang dan jamur serta untuk mengurangi kadar air dalam tanaman tersebut. Hasil daun sirih yang sudah dikeringkan dengan menggunakan oven kemudian dilakukan proses penyerbukan dengan menggunakan alat penyerbuk dan diayak menggunakan mesh 60.

**2.1 Penetapan susut pengeringan serbuk.** Menimbang serbuk daun sirih sebanyak 2 g, memasukkannya kedalam alat *moisture balance* ± 30 menit dengan temperatur 150°C. Nilai susut pengeringan diperoleh ketika alat menunjukkan bunyi dan nilai konstan. *Moisture balance* merupakan alat ukur kelembaban dengan prinsip termogravimetri atau kehilangan pengeringan (LOD).

### 3. <sup>11</sup> Pembuatan ekstrak daun sirih

Pembuatan ekstrak etanol daun sirih yaitu menggunakan metode maserasi. Dilakukan perendaman 1 g serbuk daun sirih hijau menggunakan pelarut etanol 95% sebanyak 1000 mL, dibiarkan selama 3 hari sambil diaduk pada 6 jam pertama <sup>37</sup> kemudian dibiarkan selama 18 jam. Hasil maserasi disaring dengan kertas saring sehingga diperoleh filtrat 1. Kemudian dilakukan remaserasi pada ampas filtrat 1 dimaserasi kembali menggunakan pelarut setengah kali pelarut penyarian pertama dibiarkan selama 2 hari, kemudian disaring sehingga diperoleh 2. Digabungkan kedua filtrat (filtrat 1 dan 2) diuapkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental daun sirih hijau. Setelah diperoleh ekstrak kental, hendaknya dihitung rendemen ekstrak menggunakan rumus hitung sebagai berikut :

$$\text{Persen rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

**3.1 <sup>4</sup> Penetapan kadar air.** Pemeriksaan kadar air dilakukan dengan metode destilasi *Sterling-bidwell*. Pelarut yang digunakan adalah toluen jenuh air. Menimbang ekstrak sebesar 10 g kemudian dimasukkan pada labu alas bulat ditambah dengan toluen jenuh dengan air 200 mL. Destilasi dilakukan ± dipanaskan 15 menit.

Setelah seluruh air tersuling kemudian dipanaskan lagi selama 5 menit. Tabung yang digunakan untuk menampung dibiarkan dingin. <sup>1</sup> Volume air dibaca setelah toluen dan air memisah sempurna. Melakukan replikasi sebanyak 3 kali dan dihitung persentase kadar air b/v. Syarat kadar air simplisia ≤ 10%.

### 4. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun sirih

Sebanyak 1 g ekstrak daun sirih dilarutkan pada 10 ml air panas lalu melakukan filtrasi. Hasil penyaringan dibagi menjadi 6 bagian dan dimasukkan pada tabung reaksi yang berbeda.



**4.1 Flavonoid.** Identifikasi flavonoid dilakukan dengan filtrat ditambah dengan 1 mL HCl pekat, 0,1 g Mg, dan 1 mL amil alkohol lalu larutan dikocok. Hasil positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Prameswari *et al.*, 2014).

**4.2 Saponin.** Identifikasi saponin yaitu filtrat dikocok selama 10 detik hingga terbentuk busa (Farnwort, 19966).

**4.3 Alkaloid.** Identifikasi alkaloid yaitu filtrat ditambahkan HCL 2N, lalu ditambah reagen pereaksi sebanyak 2 tetes yaitu Mayer, *Bauchardat*, dan *Dragendroff*, kemudian diamati perubahannya. Hasil positif alkaloid apabila terbentuk endapan warna jingga pada pereaksi *Bauchardat*, endapan warna kuning pada pereaksi *Dragendroff*, dan endapan warna coklat pada preaksi Mayer (Harborne, 1987).

**4.4 Tanin.** Identifikasi tanin yaitu filtrat ditetesi 2 tetes pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%. Terdapatnya senyawa tanin dalam sampel ditandai dengan adanya perubahan warna biru kehitaman atau hijau (Komeng *et al.*, 2016).

**4.5 Sterioid dan triterpenoid.** Identifikasi steroid dan terpenoid yaitu filtrat ditambahkan sebanyak 3 tetes (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub> dan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Terdapatnya senyawa steroid ditandai dengan perubahan larutan berwarna hijau atau biru, sedangkan hasil positif senyawa triterpenoid ditandai dengan adanya perubahan warna merah atau merah ungu (Komeng *et al.*, 2016).

## 5. Formulasi gel ekstrak daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Tabel 1. Rancangan formula gel ekstrak daun sirih (Ulfiana *et al.*, 2016)

Bahan	Formula (%b/b)			
	F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun sirih	-	3	5	7
Carbophol	2	2	2	2
Trietanolamin	2	2	2	2
Gliserin	10	10	10	10
Metil paraben	0,2	0,2	0,2	0,2
Aquadest ad	100	100	100	100

### Keterangan

F0 : Formula gel ekstrak daun sirih tanpa ekstrak (kontrol negatif)

F1 : Formula gel ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 3%

F2 : Formula gel ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 5%

F3 : Formula gel ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 7%

## 6. Pembuatan sediaan gel

Menyiapkan seluruh alat dan bahan yang digunakan. Menimbang bahan-bahan sesuai dengan perhitungan. Ditaburkan carbopol kedalam mortir yang sudah berisi aquades panas dan diaduk secara cepat hingga mengembang dan ditambahkan trietanolamin sedikit demi sedikit sampai membentuk massa gel. Kemudian ekstrak daun sirih dan gliserin dimasukkan dalam mortir dan aduk hingga homogen. Dicampurkan metil paraben dengan aquades

secukupnya kemudian dimasukkan dalam mortar aduk hingga homogen, lalu masukkan dalam wadah yang sesuai. (Hamzah, 2006).

## 7. Pengujian sifat fisik sediaan gel

**7.1 Uji organoleptik.** Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan panca indera meliputi bentuk, warna, dan bau dari sediaan gel yang telah dibuat (Juwita, 2013).

**7.2 Uji homogenitas.** Pemeriksaan homogenitas gel dilakukan dengan mengoleskan sejumlah gel diatas kaca transparan setelah itu diamati apakah sediaan gel menunjukkan susunan yang homogen dengan ditandai tidak adanya butiran kasar maupun gumpalan (Saraung, 2018).

**7.3 Uji pH.** Penentuan pH sediaan dilakukan dengan alat pH meter. Gel diwadahi dalam suatu wadah kemudian diclupkan pada pH meter yang sebelumnya telah dikalibrasi sebelumnya. Pengujian pH berguna untuk menentukan nilai pH gel, apakah masuk kedalam range pH kulit yakni 5-6,5 (Voigt, 1994).

**7.4 Uji viskositas.** Pemeriksaan kekentalan gel menggunakan alat viskometer. Pengujian ini berguna untuk menentukan nilai kekentalan suatu zat. Semakin tinggi nilai viskositasnya maka semakin tinggi tingkat kekentalan zat tersebut. Pengujian dilakukan dengan memasukan gel dalam wadah kemudian diukur menggunakan viskometer dan spindel tertentu, pengukuran dihentikan ketika jarum viskometer menunjukkan angka yang konstan (Martin *et al.*, 1993).

**7.5 Uji daya sebar.** Pemeriksaan ini bertujuan untuk menentukan gel tersebar merata saat digunakan. Meletakkan sebanyak 0,5 g gel pada bagian tengah kaca bulat berskala. Ditunggalkan menggunakan kaca bulat lain diatasnya kemudian ditambahkan beban 150 didiamkan selama 60 detik. Mencatat diameter penyebaran gel. Gel dinilai memiliki daya sebar baik bila diperoleh diameter 5-7 cm (Garg *et al.*, 2002).

**7.6 Uji stabilitas.** Pengujian ini yang dilakukan dengan metode *cycling test*. Gel disimpan pada suhu 4°C dalam waktu 24 jam. Selanjutnya sampel dipindahkan pada oven temperatur 40°C dalam waktu 24 jam (1 siklus). Percobaan dilakukan sampai 6 siklus, setiap siklus dilakukan pengamatan pada perubahan warna, pH, viskositas, dan bau (Kamil dan Rusli, 2018)

## 8. Identifikasi bakteri

**8.1. Pewarnaan gram.** Tahap pertama membuat apusan suspensi sel bakteri dari biakan murni diatas objek <sup>1</sup> glass kemudian dilakukan fiksasi. Tahapan kedua dilakukan pewarnaan Gram A yang berisi (kristal violet dalam alkohol) diteteskan kemudian didiamkan selama 1 menit setelah dicuci larutan Gram B (larutan I<sub>2</sub> dalam KI) diteteskan pada fiksatif dan dibiarkan selama 1 menit. Tahap ketiga preparat dicuci dengan cara meneteskan <sup>1</sup> Gram C (etanol) sebagai peluntur, dibiarkan kontak selama 30 detik, kemudian dicuci dengan aquadest. Tahap terakhir preparat dtetesi dengan larutan Gram D (safranin) dibiarkan selama 1 menit kemudian dicuci dan dikeringkan, setelah kering preparat diamati menggunakan mikroskop dengan perbesaran kuat 1.000 kali (menggunakan *immersion oil*). <sup>31</sup> Bakteri dikelompokkan sebagai Gram positif apabila selnya terwarnai keunguan, dan Gram negatif apabila selnya terwarnai merah (Lutfiah, 2015).

**8.2. Uji katalase.** Pemeriksaan ini dilakukan dengan menggoreskan biakan bakteri diatas *object glass*, kemudian ditambahkan dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1 tetes. Melakukan pengamatan terhadap timbulnya gas atau gelembung yang terbentuk (Lutfiah, 2015).

## 9. Penyiapan hewan uji Dan pembuatan luka

Digunakan kelinci sebagai hewan uji sebanyak 5 ekor memiliki kriteria bobot 2,5-3 Kg. Sebelum perlakuan, hendaknya dilakukan aklimatisasi. Sehari sebelum pembuatan luka sayat, kelinci dicukur bulunya pada area punggung hingga licin. Sebelum pembuatan luka pada bagian punggung harus dibersihkan menggunakan alkohol 70%. Luka sayatan dibuat dengan panjang 1,5 cm <sup>3</sup> menggunakan *surgical blade sterile* hingga bagian subkutan. Kemudian ditambahkan suspensi bakteri *pseudomonas sp* sebanyak 0,2 mL pada tiap lokasi. Kulit kelinci yang telah terinfeksi diolesi dengan 0,3 g sediaan gel ekstrak daun sirih.

## 10. Uji aktifitas penyembuhan luka

<sup>51</sup> Perlakuan dan pengamatan pada penelitian ini ialah sebagai berikut :

- a. <sup>3</sup> Masing-masing kelinci diberi perlakuan sebagai berikut :
  - 1) Perlakuan A : Luka diberi basis Gel (Kontrol negatif)
  - 2) Perlakuan B : Luka diberi betadine salep (Kontrol positif)
  - 3) Perlakuan C : Luka diberi Gel ekstrak daun sirih hijau 3%
  - 4) <sup>3</sup> Perlakuan D : Luka diberi Gel ekstrak daun sirih hijau 5%
  - 5) Perlakuan E : Luka diberi Gel ekstrak daun sirih hijau 7%
- b. Kemudian dilakukan pengamatan setiap hari selama 8 hari, ukur panjang penutupan luka.
- c. Sediaan Gel diberikan dengan cara mengoleskan secara merata pada daerah luka 3 kali sehari.

- d. Pengamatan pada luka sebelum pemberian dan sesudah perlakuan sampai menunjukkan adanya tanda-tanda kesembuhan dengan cara mengukur panjang luka dengan menggunakan penggaris skala cm.

## 11. Pengukuran presentase penyembuhan luka

Pengukuran presentase penyembuhan luka dilakukan dengan mengukur diameter luka sayat menggunakan penggaris. Pengukuran dilakukan setiap hari dimulai pada hari ke-2 hingga hari ke-8. Hasil pengukuran diameter luka kemudian dibuat dalam bentuk grafik.

Pengukuran presentase penyembuhan luka sayat pada kelinci *New Zealand* dihitung dengan rumus :

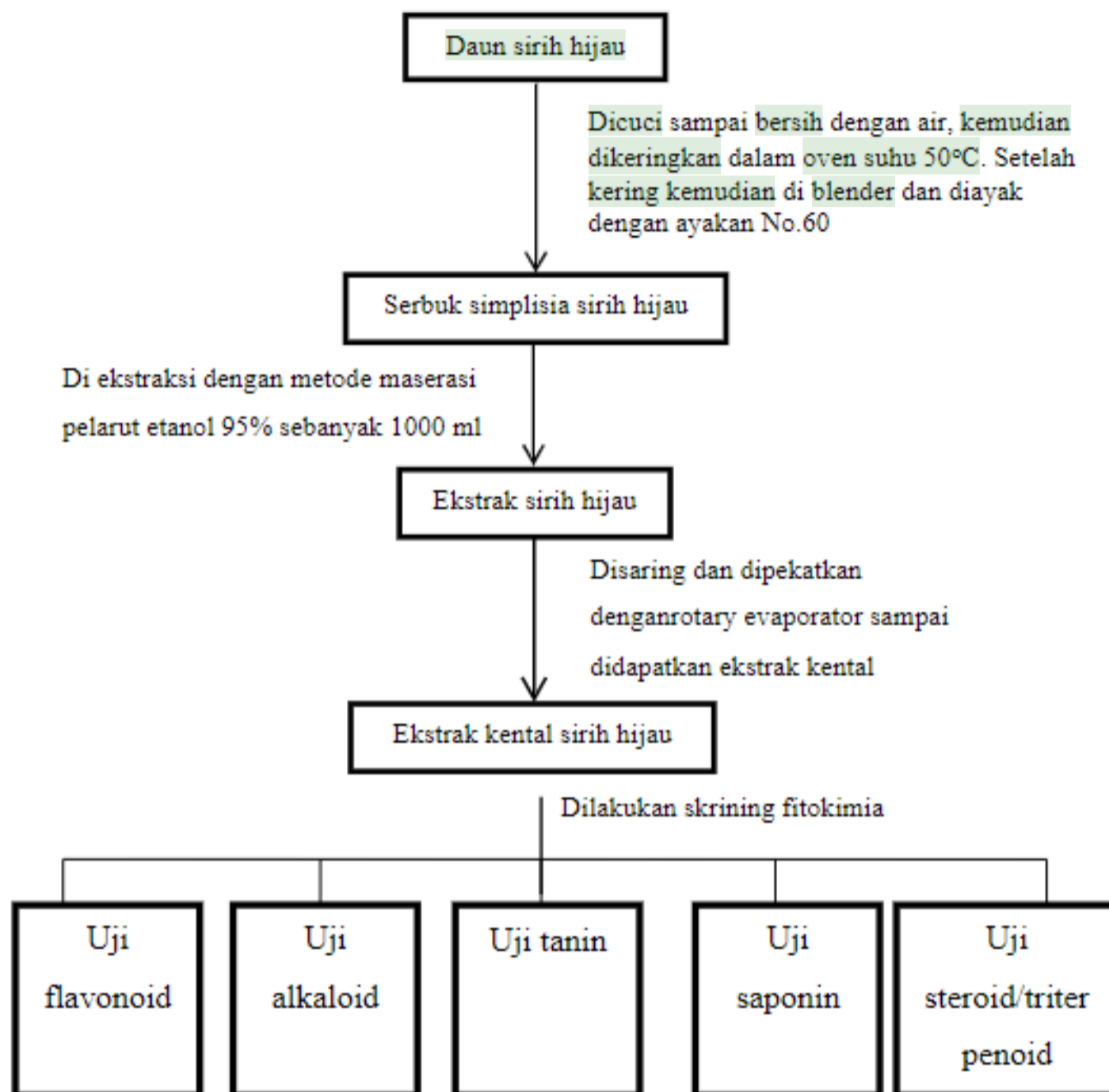
$$\text{Wound closure} : \frac{\text{luka pada hari ke 0} - \text{luka pada hari ke N}}{\text{luka pada hari ke 0}}$$

### E. Analisis hasil

Pengamatan hasil aktivitas sebagai penyembuhan luka sayat gel ekstrak daun sirih dilakukan dengan mengamati terbentuknya luka kering dan mengukur diameter luka. Data hasil yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan SPSS. Dilakukan uji *Saphiro Wilk* untuk menentukan distribusi data. Bila data memiliki distribusi normal maka dilakukan analisis parametrik menggunakan *one way ANOVA (Analysis of Variant)*. Jika terdapat perbedaan signifikan  $p < 0,05$  maka analisis dilanjutkan dengan *Post hoc test*. Bila data tidak terdistribusi normal  $p < 0,05$ , dilakukan analisis non parametrik *Kruskal-Wallis* dan uji *Mann Whitney*.

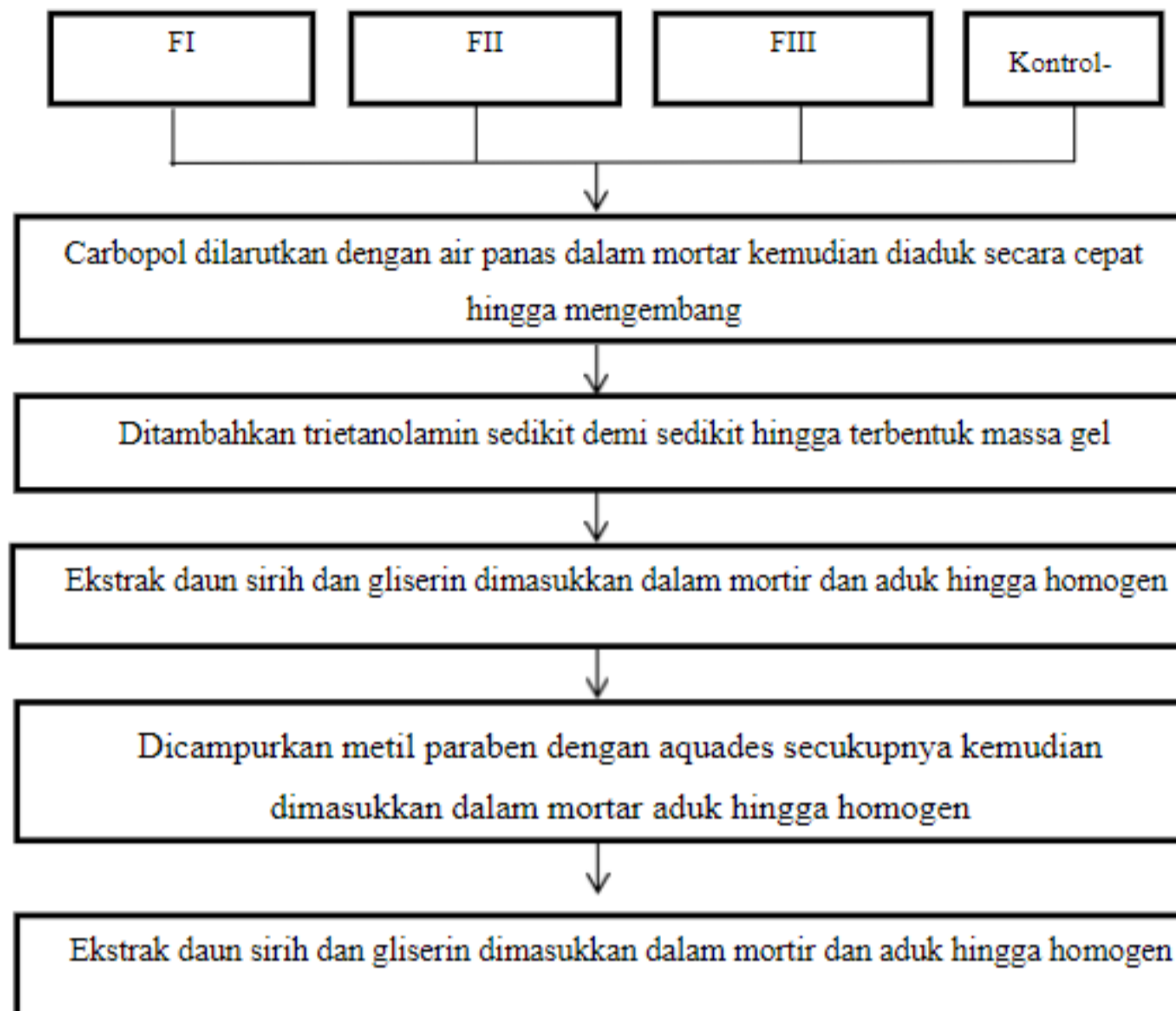
## F. Skema penelitian

### 1. <sup>4</sup> Pembuatan ekstrak daun sirih hijau (*piper betle L.*)



<sup>16</sup> Gambar 7. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*)

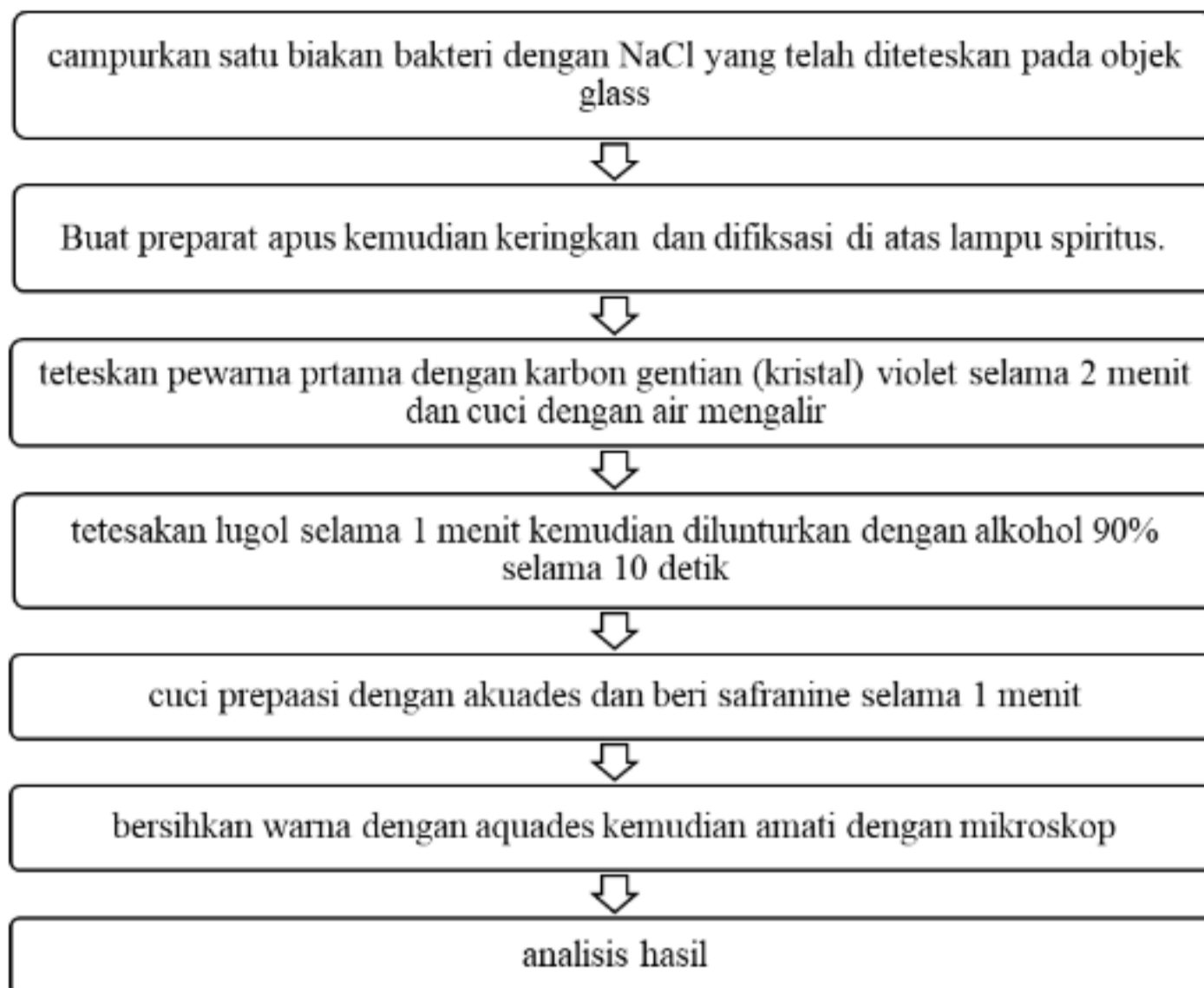
## 2. Pembuatan gel ekstrak daun sirih hijau



Gambar 8. Pembuatan gel ekstrak daun sirih hijau

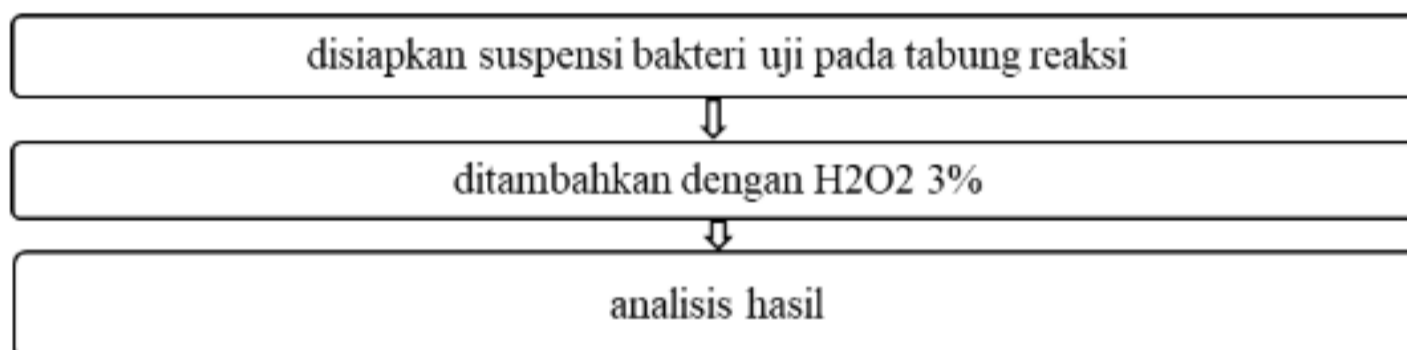
### 3. Identifikasi bakteri

#### a. Pewarnaan gram



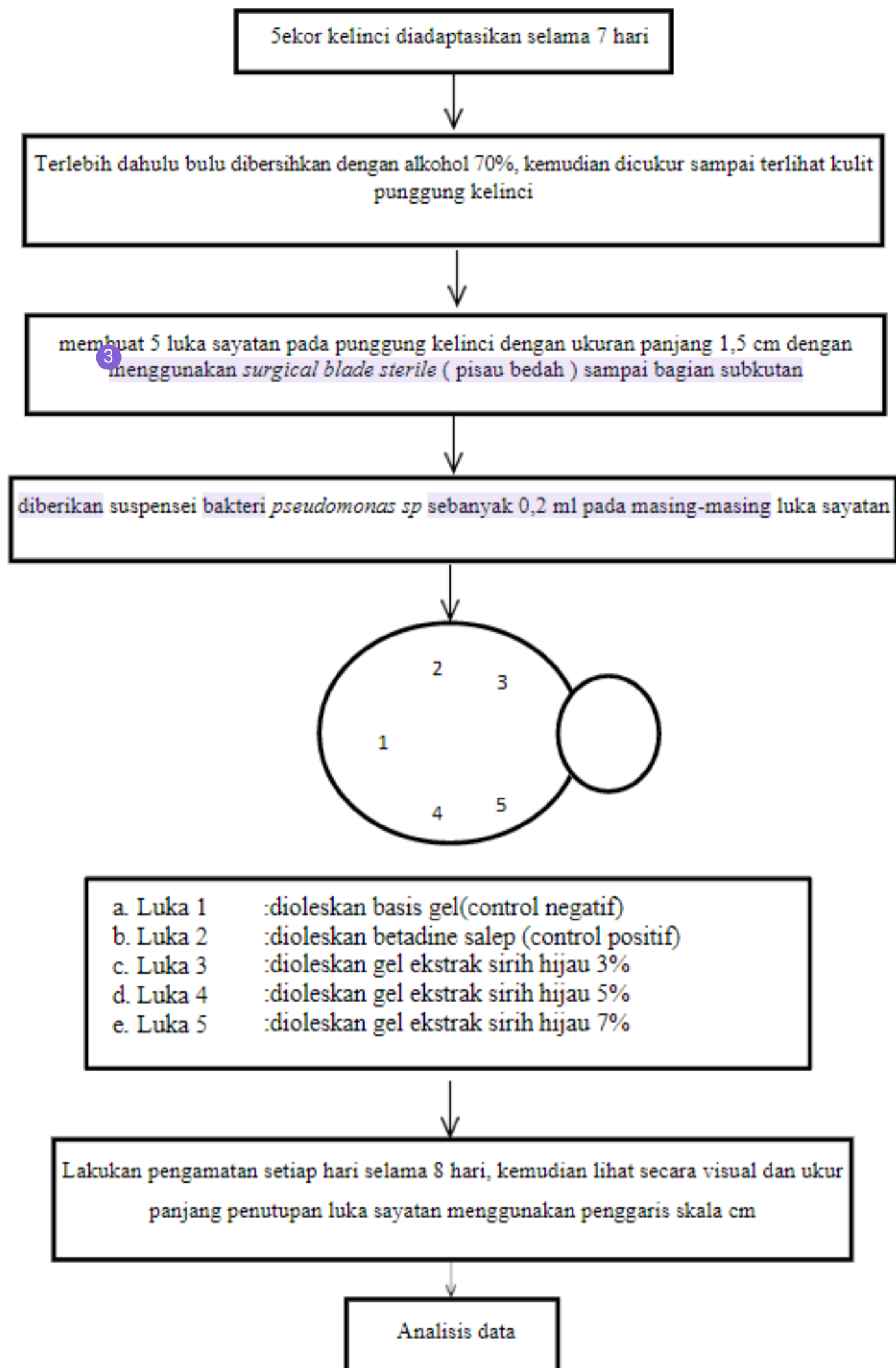
Gambar 9. Pewarnaan gram

#### b. Uji katalase



Gambar 10. Uji katalase

#### 4. Pengujian gel ekstrak sirih hijau pada punggung kelinci



Gambar 11. Pengujian gel ekstrak sirih hijau pada punggung kelinci



## G. Jadwal penelitian

Tabel 2. <sup>29</sup>Jadwal Kegiatan Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Tahun 2021									
		Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Agt	Sep	Okt	Nov	Des
1	Studi Pustaka	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
2	Penyusunan Proposal		■	■	■						
3	Persiapan Penelitian					■					
4	Pengambilan bahan						■				
5	Pembelian bahan-bahan						■				
6	Penelitian laboratorium							■	■		
	a. ekstraksi dan formulasi sediaan serum							■	■		
	b. Evaluasi sifat fisik dan pengujian aktivitas								■	■	
7	Pengumpulan dan analisis data								■	■	
8	Penyusunan laporan akhir										■

## 4 **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi Tanaman**

Penelitian ini menggunakan tanaman daun sirih yang masih segar, berwarna hijau, dan terhindar dari kontaminasi hama yang berasal dari Desa Wates kecamatan Girimarto Kabupaten Wonogiri. Berdasarkan hasil determinasi yang dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman Sirih dengan nama latin *Piper betle* L. Hasil determinasi tanaman Sirih adalah sebagai berikut, untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada lampiran 1.

Species	: <i>Piper betle</i> L.
Famili	: Piperaceae
Sinonim	: <i>Chavica betle</i> (L.) Miq.; <i>Piperi betlim</i> (L.) St.-Lag

#### **B. Pembuatan Serbuk Simplisia Daun Sirih**

Daun sirih segar yang sudah didapatkan kemudian dikeringkan dan dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling. Daun sirih segar yang digunakan sebanyak 5,6 kg dan hasil dari daun sirih yang sudah dikeringkan adalah 1,419 kg. Daun sirih yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dan diayak dengan menggunakan mesh No.40 agar didapatkan serbuk dengan ukuran yang seragam. Hasil daun sirih yang sudah dibuat serbuk adalah 1,370 kg dan dihitung rendemen terhadap daun sirih kering, rendemen serbuk daun sirih yaitu 96,55 %. Hasil pembuatan simplisia daun kelor dan perhitungan rendemen serbuk simplisia tabel 3 dan lampiran 2.

Tabel 3. Hasil pembuatan simplisia daun sirih

No	Jenis	Hasil	Rendemen
1	Daun sirih segar	5,6 kg	-
2	Daun sirih kering	1,419 kg	-
3	Serbuk daun sirih	1,370 kg	96,55%

##### **1. Penetapan kelembapan serbuk daun sirih**

Penetapan kelembapan serbuk daun sirih dilakukan sebanyak 3 kali dengan suhu 105°C menggunakan alat *moisture balance*. Hasil rata-rata kelembapan serbuk daun sirih

sebesar 9,6% sehingga dapat dikatakan memenuhi syarat kelembapan tidak lebih dari 10%. Hasil penetapan kelembapan serbuk daun sirih dapat dilihat pada tabel 4 dan lampiran 3.

Tabel 4. Hasil penetapan kelembapan serbuk simplisia daun sirih

Replikasi	Hasil Susut Pengerinan	Rata-rata	Pustaka
I	10,0 %		Tidak lebih dari
II	9,5 %	9,6 %	10% (Kemenkes
III	9,5 %		RI, 2017)

### C. Pembuatan ekstrak etanol daun sirih

Serbuk daun sirih diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 liter. Penggunaan metode maserasi dikarenakan tidak tahan terhadap panas, mudah dilakukan dan peralatan yang digunakan tidak mahal. Pelarut etanol 96% dipilih karena dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar. Hasil maserasi serbuk daun sirih sebanyak 1 kg dihasilkan ekstrak kental sebanyak 205 gram. Semakin besar nilai rendemen ekstrak yang dihasilkan maka nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak juga (Permawati, 2008). Hasil ekstraksi daun sirih dan perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 5 dan lampiran 4.

Tabel 5. Hasil ekstraksi serbuk daun sirih

No	Jenis	Hasil	Rendemen
1	Serbuk daun sirih yang diekstraksi	1 kg	-
2	Ekstrak kental etanol 96% daun sirih	205 g	20,5 %

#### 1. Penetapan kadar air ekstrak daun sirih

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui jumlah kandungan air yang masih terdapat di dalam ekstrak. Penetapan kadar air perlu dilakukan karena kandungan air dalam ekstrak dapat menyebabkan pertumbuhan mikroba, jamur, serangga, dan dapat terjadi reaksi enzimatik, serta terjadi hidrolisis atau reaksi kimia terhadap kandungan kimia. Metode yang digunakan dalam penetapan kadar air ekstrak daun kelor ini yaitu metode gravimetri. Metode ini dipilih karena untuk meminimalkan kerusakan alat jika kadar air dilakukan dengan metode sterling bidwel. Kadar air ekstrak daun kelor yang didapatkan yaitu sebesar 9,81% di mana hal ini sudah sesuai dengan literatur yaitu kadar air ekstrak kental daun kelor tidak lebih dari 10,0%. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kelor dapat dilihat pada tabel 6 dan lampiran 5.

Tabel 6. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun sirih

Replikasi	Hasil Kadar Air	Rata-rata	Pustaka
I	9,45%		Tidak lebih dari 10,0 % (FHI ed II, 2017)
II	9,16%	9,81%	
III	10,84%		

## 2. <sup>11</sup> Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih

Identifikasi kandungan kimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa didalam ekstrak daun sirih. Berdasarkan hasil identifikasi pada penelitian ini <sup>16</sup> ekstrak daun sirih positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan steroid sedangkan pada uji senyawa triterpenoid menunjukkan hasil negatif. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih menunjukkan hasil sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Fitriyani *et. al* (2011). Sedangkan menurut Parfati dan Windono (2016) daun sirih memiliki kandungan flavonoid, alkaloid, dan minyak atsiri. <sup>1</sup> Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih dapat dilihat pada tabel 7 lampiran 6.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak simplisia daun sirih

No	Identifikasi	Hasil pengamatan	Pustaka	Keterangan
1	Flavonoid	Terbentuk cincin kuning	berwarna jingga-merah (Prameswari <i>et al.</i> , 2014)	+
2	Alkaloid			
	- Mayer	terbentuk endapan kuning	terbentuk endapan putih-kuning (Utami <i>et al.</i> , 2016)	+
	- Bouchardat	terbentuk endapan hitam	terbentuk endapan jingga (Utami <i>et al.</i> , 2016)	+
	- Dragendorff	terbentuk endapan kuning	terbentuk endapan kuning (Utami <i>et al.</i> , 2016)	+
3	Tanin	Hitam kehijauan	berwarna biru kehitaman (Komang <i>et al.</i> , 2016)	+
4	Saponin	terbentuk buih stabil	terbentuk busa stabil (Komang <i>et al.</i> , 2016)	+
5	Steroid	berwarna hijau	berwarna hijau-biru (Komang <i>et al.</i> , 2016)	+
6	Triterpenoid	Berwarna kuning	berwarna merah atau merah ungu (Komang <i>et al.</i> , 2016)	-

### D. Uji mutu fisik sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Pada penelitian ini sediaan gel ekstrak etanol diuji sifat fisiknya dengan menggunakan parameter <sup>36</sup> uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar dan uji stabilitas.

## 1. Hasil uji organoleptik.

Uji organoleptik bertujuan untuk membedakan warna, bau, serta konsistensi dari sediaan gel. Hasil uji organoleptis pada sediaan gel ekstrak daun sirih yaitu pada basis gel yang digunakan sebagai kontrol negatif didapatkan hasil berwarna bening, tidak berbau dan memiliki konsistensi yang kental, sedangkan pada formula 1, 2, dan 3 memiliki warna hitam kecoklatan, berbau khas daun sirih, dan memiliki konsistensi yang kental. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada tabel 8 lampiran 6.

Tabel 8. Hasil uji fisik organoleptik sediaan gel ekstrak daun sirih

Formula	Minggu	Organoleptic		
		Warna	Bau	Konsistensi
Basis gel (-)	Ke-1	Bening	Tidak berbau	Kental
	Ke-2	Bening	Tidak berbau	Kental
	Ke-3	Bening	Tidak berbau	Kental
	Ke-4	Bening	Tidak berbau	Kental
1	Ke-1	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-2	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-3	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-4	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
2	Ke-1	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-2	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-3	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-4	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
3	Ke-1	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-2	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-3	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
	Ke-4	Kecoklatan	Khas daun sirih	Kental

Pengamatan organoleptis sediaan gel ekstrak daun sirih dilakukan selama 1 bulan pada minggu ke 1, 2, 3, dan 4. Pengamatan yang telah dilakukan menunjukkan hasil bahwa semua sediaan gel ekstrak daun sirih tidak memiliki perubahan warna, bau, dan konsistensi sehingga dapat dikatakan bahwa sediaan ekstrak daun sirih pada pengamatan segi fisik memiliki hasil yang stabil.

## 2. Hasil uji homogenitas.

Uji homogenitas merupakan salah satu parameter yang penting dalam sediaan gel karena dengan uji homogenitas kita bisa mengetahui sediaan gel kita telah terdistribusi secara merata dan tercampur secara homogen. Uji homogenitas sangat penting dilakukan karena dapat mempengaruhi efektivitas sediaan gel terhadap penyembuhan luka. Uji homogenitas dilakukan dengan cara mengoleskan sampel pada objec glass kemudian direkatkan dengan objec glass yang lain dan diamatai apakah sediaan gel sudah homogen dengan ditandai tidak

adanya butiran- butiran kasar pada sediaan gel. Hasil pengamatan uji homogenitas sediaan gel dapat dilihat pada tabel 9 dan lampiran 8.

Tabel 9. Hasil uji homigenitas gel ekstrak daun sirih

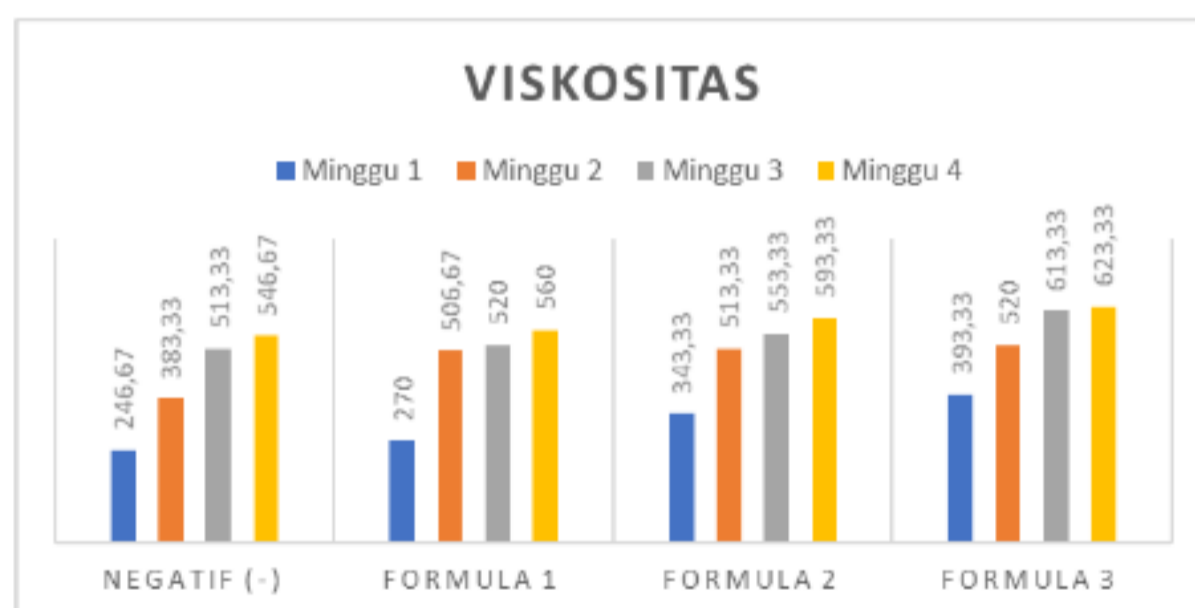
Formula	Homogenitas			
	Minggu ke-1	Minggu ke-2	Minggu ke-3	Minggu ke-4
(-)	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
1	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
2	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
3	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
(+)				

### 3. Hasil uji viskositas.

Viskositas gel yang terlalu encer akan menyebabkan waktu lekat dari basis sebentar sehingga efektifitas penghantaran zat aktif menjadi rendah, jika viskositas sediaan terlalu kental dapat memberikan rasa ketidaknyamanan pada saat digunakan. Viskositas berbanding terbalik dengan daya sebar. Semakin tinggi nilai viskositas, maka semakin rendah nilai daya sebar. Nilai viskositas sediaan gel yang baik yaitu 50 – 1000 dPas (Handiwianta, 2017). Hasil pengamatan uji viskositas gel dapat dilihat pada tabel 10 lampiran 9.

Tabel 10. Hasil uji viskositas gel daun sirih

Minggu	Viskositas (dPas)			
	(-)	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ke-1	246,67	270,00	343,33	393,33
Ke-2	383,33	506,67	513,33	520,00
Ke-3	513,33	520,00	553,33	613,33
Ke-4	546,67	560,00	593,33	623,33



Dari tabel 10 menunjukkan bahwa viskositas paling besar terdapat pada formula 1 dan viskositas paling kecil pada formula 3. Meningkatnya jumlah ekstrak akan menyebabkan sediaan bersifat lebih asam yang menyebabkan jumlah gugus karbosilat yang terionkan

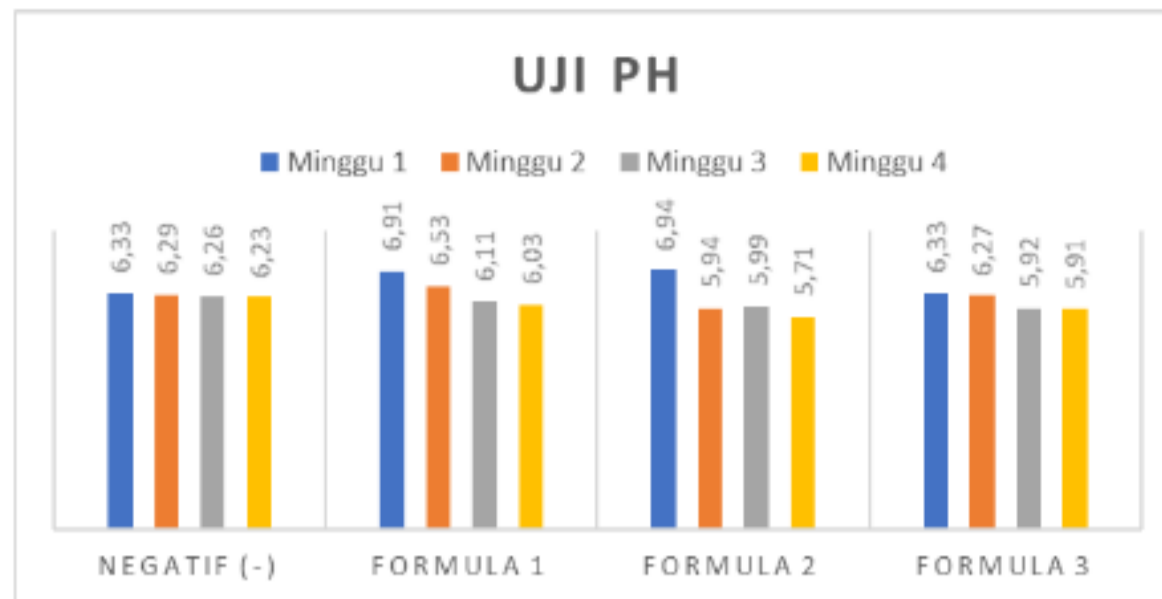
berkurang sehingga tolak menolak antar gugus hidroksil yang menyebabkan pengembangan struktur gelling agent menurun, hal ini yang menyebabkan penurunan viskositas gel dengan meningkatnya jumlah ekstrak (Sari dan Isadiartuti, 2006). Hasil uji viskositas dianalisis dengan uji statistik menggunakan SPSS dengan uji Shapiro-Wilk menunjukkan hasil nilai signifikansi (sig.)  $> 0,05$  yang menunjukkan data yang didapatkan terdistribusi normal. Kemudian dilanjut dengan uji *Paired samples t-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan formula dengan pengujian tiap minggunya. Hasil menunjukkan nilai signifikansi (sig.)  $< 0,05$  yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif, formula 1, formula 2, dan formula 3. Dari hasil uji *Paired samples t-test* kemudian dilanjutkan dengan uji Post hoc test untuk melihat adanya pengaruh formulasi dan waktu (minggu) terhadap viskositas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih. Data statistik menunjukkan nilai signifikansi (sig.)  $> 0,05$  yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

#### 4. Hasil uji pH.

Uji pH dilakukan untuk mengetahui sediaan gel yang telah dibuat bersifat asam, basa atau netral karena sediaan yang bersifat terlalu asam maupun terlalu basa dapat mengiritasi kulit, pH kulit manusia normal yaitu 4,5 – 6,5 (Naibaho, 2013). Sediaan gel yang memiliki pH terlalu basa akan menyebabkan kulit menjadi kering dan bersisik sedangkan sediaan gel yang terlalu asam akan menyebabkan kulit iritasi. Hasil pengamatan uji pH gel dapat dilihat pada tabel 11 lampiran 10.

Tabel 11. Hasil uji pH gel ekstrak daun sirih

Minggu	pH			
	(-)	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ke-1	6,91	6,91	6,94	6,33
Ke-2	6,	6,53	5,94	6,27
Ke-3	6,26	6,11	5,99	5,92
Ke-4	6,23	6,03	5,71	5,91



Pada tabel menunjukkan hasil bahwa formula 1 dan 2 pada pengujian minggu ke-1 memiliki pH diatas range batas pH. Hal ini dikarenakan adanya pengaruh dari faktor suhu, cuaca, dan penyimpanan. Pada pengujian selama 4 minggu didapatkan hasil pH gel mengalami perubahan yang signifikan dimana pH gel mengalami penurunan tetapi masih dalam range pH kulit normal. Hal ini dikarenakan sifat asam dari carbopol dapat dinetralisasi dengan TEA, dimana TEA ini memiliki mekanisme kerja sebagai alkalizing agent serta dapat mempercepat ionisasi dari carbopol sehingga pengembangannya lebih sempurna.

Hasil uji pH dianalisis menggunakan uji statistik SPSS. Pada tes Shapiro-Wilk menunjukkan hasil signifikansi (sig.) > 0,05 maka data terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan uji *Paired samples t-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan pH formula dengan pengujian tiap minggunya, didapatkan hasil signifikansi (sig.) < 0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif, formula 1, formula 2, dan formula 3. Dari hasil uji *Paired samples t-test* kemudian dilanjutkan dengan uji *Post hoc test* untuk melihat adanya pengaruh formulasi dan waktu (minggu) terhadap viskositas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih. Data statistik menunjukkan nilai signifikansi (sig.) > 0,05 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini dikarenakan adanya pengaruh dalam penambahan ekstrak, semakin banyak ekstrak yang ditambahkan semakin turun nilai pH pada sediaan tersebut.

##### 5. Hasil uji daya sebar.

Penyebaran gel pada permukaan kulit dapat menentukan adsorbsinya pada tempat pemakaian, semakin baik daya sebar maka distribusi sediaan dan zat aktif akan semakin rata sehingga efektivitas penyembuhan luka akan semakin baik. Pengukuran daya sebar dilakukan dengan menggunakan alat kaca bundar berskala (extensometer) dengan menggunakan beban 50 gram, 100 gram, 150 gram, dan 200 gram dengan waktu masing-masing beban selama 1 menit. Hasil pengamatan uji daya sebar gel dapat dilihat pada tabel 12 lampiran 11.



Tabel 12. Hasil uji daya sebar gel daun sirih

Minggu	Daya sebar				
	Beban	(-)	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Ke-1	50 g	4,9	4,6	4,6	4,6
	100 g	4,7	4,5	4,5	4,5
	150 g	4,63	4,5	4,4	4,4
	200 g	4,57	4,4	4,3	4,3
Ke-2	50 g	4,4	4,3	4,3	4,2
	100 g	4,2	4,1	4,1	4,1
	150 g	4,2	4,1	4,1	4
	200 g	4,2	4,1	4	3,9
Ke-3	50 g	4	4	4	3,8
	100 g	4	4	4	3,7
	150 g	4	3,9	3,9	3,7
	200 g	3,9	3,9	3,9	3,6
Ke-4	50 g	3,8	3,8	3,8	3,6
	100 g	3,8	3,8	3,7	3,5
	150 g	3,8	3,7	3,7	3,4
	200 g	3,7	3,7	3,6	3,4

Data uji daya sebar menunjukkan hasil bahwa keempat formula mengalami penurunan daya sebar <sup>1</sup> selama penyimpanan, hal ini dikarenakan daya sebar dipengaruhi oleh viskositas gel yang semakin kental selama penyimpanan. Seperti yang kita ketahui bahwa viskositas sediaan gel ini berbanding terbalik dengan daya sebar, semakin tinggi viskositas maka semakin turun daya sebar, begitu pula sebaliknya. Dari data tersebut dapat kita lihat bahwa adanya variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sirih yang digunakan berpengaruh dengan daya sebar. Hasil uji daya sebar dianalisis menggunakan uji statistik SPSS. Pada tes Shapiro-Wilk menunjukkan hasil signifikansi (sig.) > 0,05 maka <sup>10</sup> data terdistribusi normal, selanjutnya dianalisis dengan uji *Paired samples t-test* dengan taraf kepercayaan 95% untuk membandingkan pH formula dengan pengujian tiap minggunya, didapatkan hasil signifikansi (sig.) < <sup>17</sup> 0,05 yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif, formula 1, formula 2, dan formula 3. Dari hasil uji *Paired samples t-test* kemudian <sup>1</sup> dilanjutkan dengan uji *Post hoc test* untuk melihat adanya pengaruh formulasi dan waktu (minggu) terhadap viskositas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih. Data statistik menunjukkan nilai signifikansi <sup>49</sup> (sig.) > 0,05 yang artinya tidak terdapat perbedaan yang signifikan, hal ini menyatakan bahwa korelasi daya sebar pada minggu pertama, minggu kedua, minggu ketiga, dan minggu ke empat tidak berhubungan secara nyata.

Pada minggu ke satu hingga minggu ke empat konsentrasi kontrol negatif memiliki daya sebar yang paling besar dibandingkan dengan formul 1, formula 2, dan formula 3,

sedangkan <sup>1</sup> daya sebar yang paling kecil terdapat pada formula 3. Hal ini dikarenakan adanya pengaruh dari penambahan ekstrak etanol daun sirih, sehingga <sup>1</sup> dapat disimpulkan bahwa semakin banyak konsentrasi ekstrak etanol daun sirih yang diberikan maka semakin kecil luas penyebaran sediaan gel tersebut.

## 6. Hasil uji stabilitas.

Uji stabilitas dilakukan dengan menggunakan <sup>23</sup> metode cycling test dimana sediaan gel akan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam kemudian dipindahkan pada tempat yang bersuhu 40°C selama 24 jam juga, pengujian dilakukan selama 6 replikasi. Parameter yang digunakan dalam pengujian stabilitas ini yaitu organoleptik, homogenitas, pH, viskositas, dan daya sebar.

**6.1 Uji organoleptik.** Uji organoleptik setelah uji stabilitas menunjukkan hasil yaitu sediaan gel ekstrak daun sirih tidak mengalami perubahan warna, bau, dan konsistensi, hal ini dapat dikatakan bahwa <sup>57</sup> sediaan gel ekstrak daun sirih memiliki sifat fisik yang stabil pada penyimpanan suhu rendah yaitu 4°C dan suhu tinggi yaitu 40°C. <sup>4</sup> Hasil uji organoleptik stabilitas dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Uji organoleptik stabilitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Formula	Organoleptik		
	Warna	Bau	Konsistensi
Kontrol negatif	Bening	Tidak ada bau	Kental
Formula 1	Hitam kecoklatan	<sup>2</sup> Khas daun sirih	Kental
Formula 2	Hitam kecoklatan	Khas daun sirih	Kental
Formula 3	Hitam kecoklatan	Khas daun sirih	kental

**6.2 Uji homogenitas.** Setelah dilakukan uji stabilitas gel, homogenitas gel ekstrak daun sirih menunjukkan hasil bahwa semua formula telah tercampur secara homogen dan tidak ada perubahan pada penyimpanan suhu rendah yaitu 4°C dan suhu tinggi 40°C. <sup>1</sup> Hasil uji homogenitas stabilitas dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Uji homogenitas stabilitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Formula	Homogenitas
Kontrol negatif	Homogen
Formula 1	Homogen
Formula 2	Homogen
Formula 3	homogen

**6.3 Uji pH.** Dilakukan uji pH setelah uji stabilitas guna <sup>1</sup> untuk mengetahui apakah sediaan gel terdapat perubahan pH pada waktu sebelum dan sesudah pengujian. Hasil uji pH stabilitas yang dilakukan <sup>1</sup> dengan metode cycling test dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Uji pHs stabilitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Formula	Uji pH
Kontrol negatif	6,05
Formula 1	6,76
Formula 2	6,33
Formula 3	6,29

**6.4 Uji viskositas.** Hasil uji stabilitas gel ekstrak daun sirih menunjukkan hasil dimana semua formula mengalami kenaikan, hal ini dapat disebabkan karena adanya pengaruh suhu selama penyimpanan. hal ini dikarenakan sediaan gel terakhir uji stabilitas pada suhu 4°C dimana ketika sediaan disimpan pada suhu yang rendah maka viskositas sediaan juga semakin meningkat, lah ini dikarenakan jika sediaan dalam penyimpanan suhu rendah maka jarak antar atom semakin diperkecil sehingga gaya antar atom meningkat, lalu jarak menjadi rapat sehingga viskositasnya meningkat. Hasil uji stabilitas viskositas dapat dilihat pada tabel 16.

Tabel 16. Uji viskositas stabilitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Formula	Uji viskositas (dPas)
Kontrol negatif	550
Formula 1	580
Formula 2	600
Formula 3	650

**6.5 Uji daya sebar.** Uji daya sebar stabilitas menunjukkan hasil bahwa sediaan gel ekstrak etanol daun sirih setelah dilakukan penyimpanan pada suhu rendah dan suhu tinggi mengalami penurunan. Hal ini dapat dikarenakan adanya vaktor dari perubahan suhu pada saat penyimpanan. Pada suhu rendah sediaan gel akan mengalami penguapan air sehingga menyebabkan sediaan menjadi semakin kental sehingga daya sebar nya semakin turun. Hasil uji daya sebar stabilitas dapat dilihat pada tabel 17.

Tabel 17. Uji daya sebar stabilitas sediaan gel ekstrak etanol daun sirih

Beban( gram)	Uji daya sebar (cm)			
	Kontrol negatif	Formula 1	Formula 2	Formula 3
50	4,6	4,4	4,3	4
100	4,5	4,3	4,1	3,8
150	4,1	4	3,7	3,7
200	3,9	3,8	3,6	3,4

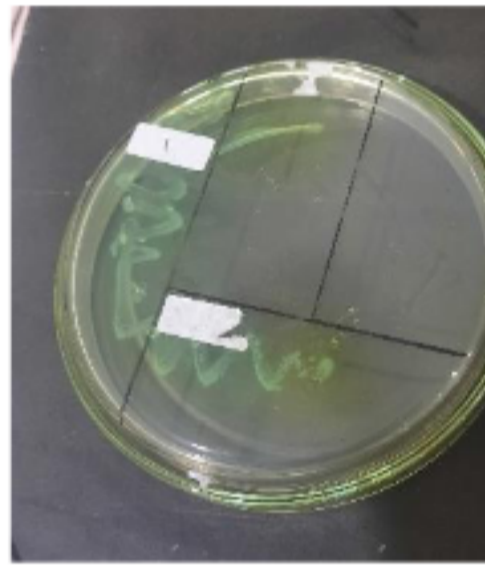
### E. Identifikasi bakteri *Pseudomonas* sp

Bakteri *pseudomonas* sp merupakan bakteri piogenik yang dapat menyebabkan infeksi dengan ditandai terjadinya peradangan, hal ini menyebabkan leukosit mati dan akumulasi agen infeksius (sharma et al., 2015). Ekstrak etanol daun sirih mengandung

senyawa alkaloid yang berguna sebagai antibakteri karena dapat mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Cowan., 1999). Bakteri pseudomonas merupakan bakteri gram negatif, sedangkan untuk kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah salep betadine dengan kandungan *Povidone iodine* 10%. Cara *Povidone iodine* untuk membunuh mikroba yaitu melalui iodinasi asam amino, adanya iodin ini akan meracuni sehingga tidak dapat membentuk protein dan akan mengakibatkan mikroorganisme hancur (Fredrick.,2003).

#### 1. Penanaman media PSA.

Media PSA (*Potato Sucrose Agar*) merupakan media agar yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri gram negatif dan memilah bakteri yang dapat memfermentasikan laktosa. Hasil yang diperoleh pada penanaman di media PSA dapat dilihat pada gambar 14.

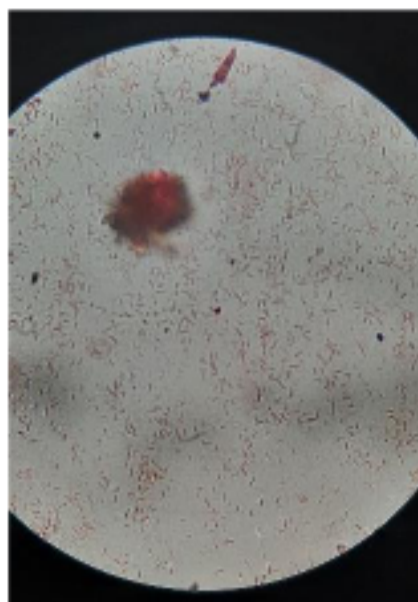


Gambar 14. Hasil penanaman bakteri media PSA

Pada gambar 14 menunjukkan hasil bahwa bakteri pseudomonas sp tumbuh pada media PSA ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna hijau. Isolasi dilakukan selama 24 jam dalam suhu 37C, + 48 jam dalam suhu kamar.

#### 2. Hasil uji pewarnaan gram.

Salah satu teknik pewarnaan adalah pewarnaan diferensial dimana prosedur pewarnaan ini menampilkan perbedaan diantara sel-sel mikroba. Pewarnaan diferensial yang paling luas digunakan adalah pewarnaan gram. Hasil uji pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 15.



Gambar 15. Hasil uji pewarnaan gram

2 Pada sampel bakteri dilakukan pewarnaan gram dan diamati dengan menggunakan mikroskop. Ketika olesan bakteri pada objek glass dikenai larutan ungu kristal sel akan berwarna ungu. Melalui fiksasi warna dengan iodium sel tetap berwarna ungu. Selanjutnya ditambahkan larutan alkohol untuk 2 melunturkan atau memucatkan zat warna ungu sehingga sel menjadi tak berwarna. Kemudian diberikan pewarna 2 safranin sehingga menyebabkan sel menyerap zat pewarnaan ini dan menjadi merah, maka dapat disimpulkan bahwa mikroorganisme termasuk bakteri gram negatif.

### 3. Hasil uji katalase.

Uji katalase digunakan untuk mengetahui sifat bakteri dalam menentukan sifat bakteri dalam mengkasilkan enzim katalase, 2 dimana *Pseudomonas* sp memberikan hasil yang positif karena bakteri ini merupakan bakteri aerob. Pada uji katalase bakteri dipindahkan pada 2 ose ke permukaan objek glass yang sudah didisinfeksi kemudian diteteskan 1 tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% yang secara cepat akan membentuk gelembung yang cukup banyak yang menandakan bakteri tersebut memiliki enzim katalase. Hasil uji pewarnaan gram 8 dapat dilihat pada gambar 17.



Gambar 17. Hasil uji katalase

## F. Uji aktivitas penyembuhan luka

Pada uji penyembuhan luka ini menggunakan parameter pengecilan diameter penyembuhan luka dengan menggunakan skala cm. Pengamatan efektivitas penyembuhan luka tikus dilakukan secara visual dimana proses penyembuhan berlangsung secara normal, pengamatan dilakukan selama 8 hari dan pada setiap harinya dilakukan pengukuran presentase penyembuhan luka dengan menggunakan penggaris. Data hasil rata-rata presentase pengukuran diameter luka dapat dilihat pada tabel 18 lampiran 12.

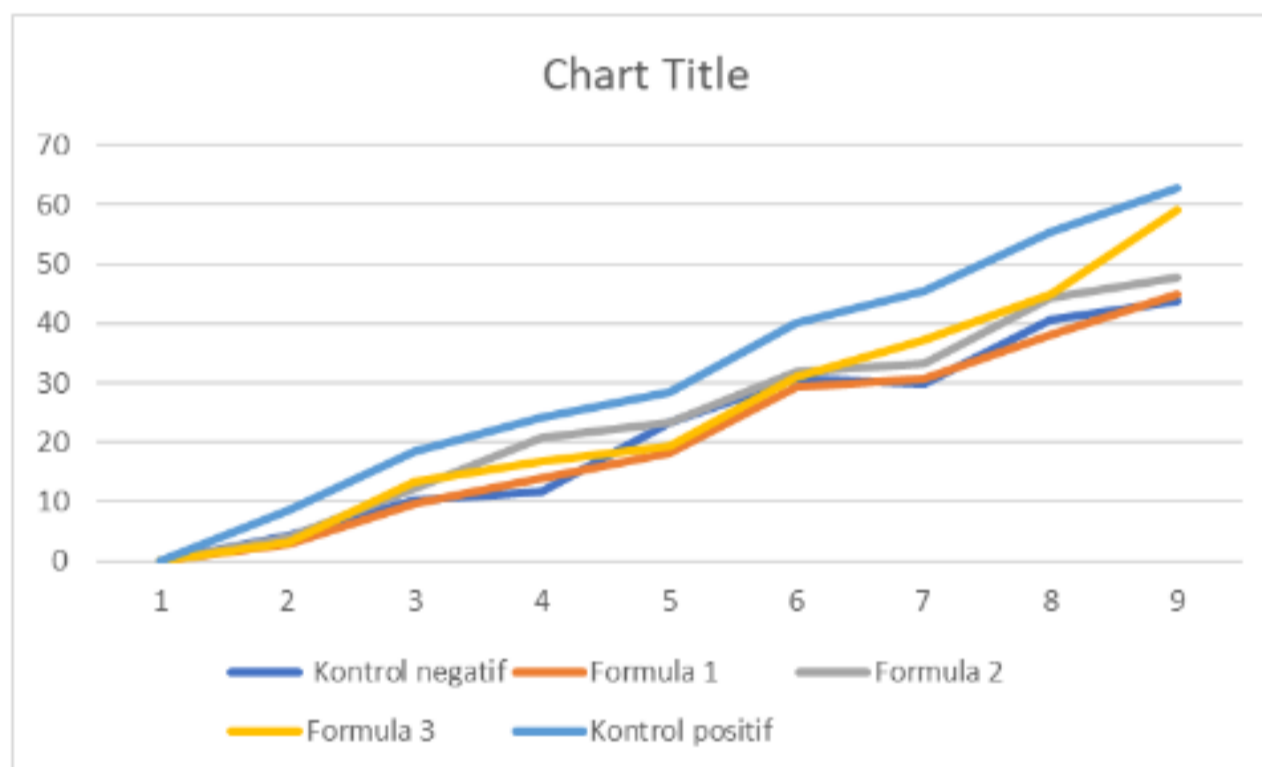
1 Hari	Rata-rata persen pengecilan diameter luka sayat (%) ± SD				
	Kontrol negatif	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Kontrol positif
Ke-0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Ke-1	4,28 ± 6,38	2,85 ± 3,91	4 ± 5,96	3,09 ± 4,25	8,48 ± 2,71
Ke-2	10,21 ± 9,71	9,71 ± 9,16	12,28 ± 7,04	13,51 ± 6,51	18,51 ± 7,79
Ke-3	11,64 ± 8,25	13,80 ± 12,41	20,66 ± 7,79	16,69 ± 3,59	24,23 ± 3,23
Ke-4	23,29 ± 7,22	18,17 ± 9,86	23,42 ± 7,07	19,44 ± 4,28	28,53 ± 4,43
Ke-5	30,61 ± 13,24	29,42 ± 6,67	31,90 ± 7,82	31,05 ± 12,02	39,97 ± 7,76
Ke-6	29,75 ± 6,20	30,85 ± 5,11	33,23 ± 8,65	37,21 ± 9,63	45,59 ± 4,96
Ke-7	40,79 ± 11,77	37,99 ± 6,02	44,28 ± 11,69	45,05 ± 10,39	55,31 ± 11,45
Ke-8	43,65 ± 7,79	45,05 ± 5,96	47,9 ± 10,84	59,14 ± 9,81	62,85 ± 9,44

Tabel 18. Data hasil rata-rata presentase pengukuran diameter luka

Pada penelitian ini menggunakan sediaan berupa gel karena gel merupakan sediaan semi pada yang terdiri dari suspensi yang dibuat dari partikel anorganik kecil atau molekul besar yang terpenetrasi oleh suatu cairan. Sediaan gel ditujukan untuk pemakaian luar karena dapat memberikan sensasi dingin pada kulit setelah pengaplikasiannya (Depkes RI, 1995). Hasil pengamatan terhadap presentase penyembuhan luka dikatakan bagus karena penutupan luka pada punggung kelinci semakin berkurang dan semakin sembuh. Pada hari ke-0 kulit punggung kelinci di lukai dengan cara di sayat sepanjang kurang lebih 15 cm dan diolesi dengan suspensi bakteri *Pseudomonas sp*, dibiarkan selama 24 jam kemudian diamati dan didapatkan hasil kelinci mengalami peradangan pada bagian sekitar luka, hal ini menandakan bahwa kelinci positif terinfeksi oleh bakteri *Pseudomonas sp*. Kemudian pada hari ke-1 hingga hari ke-8 diberi perlakuan dengan mengoleskan kontrol positif, formula 1, formula 2, formula 3, dan kontrol negatif pada masing-masing luka. Pada penelitian ini kontrol positif yang digunakan adalah salep betadine yang mengandung Povidone iodine 10%. Pemilihan kontrol positif salep betadine karena kandungan Povidon iodine dapat mengoksidase enzim melalui iodinasi asam amino. Povidone iodine juga memiliki efek samping menimbulkan iritasi, reaksi toksik dari iodine, kulit terbakar dan perubahan warna kulit karena zat warna yang ada dalam Povidone iodine. Povidone iodine 10% juga memiliki kemampuan

antimikroba dengan mengoksidase enzim respirasi dari bakteri seperti tyrosin. Cara lain povidone iodine untuk membunuh mikroba yaitu melalui iodinasi asam amino, adanya iodin ini akan meracuni sehingga tidak dapat membentuk protein dan akan mengakibatkan mikroorganisme hancur (Fredrick.,2003).

Berdasarkan presentase penyembuhan luka dapat dilihat bahwa presentase pengurangan luka pengamatan hari ke- 8 pada kelompok kontrol positif mengalami peningkatan yang cukup cepat hingga 65,85%, dilanjut dengan formula 3 dengan konsentrasi 3% didapatkan presentase penyembuhan 59,14%, formula 2 dengan konsentrasi 5% didapatkan presentase penyembuhan 47,9%, formula 1 dengan konsentrasi 7% didapatkan presentase penyembuhan 45,05%, dan yang paling lambat penyembuhan pada kontrol negatif dengan nilai presentase 43,65%. dari hasil presentase yang telah didapatkan menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki presentase penyembuhan luka yang berangsur cepat karena pada kontrol positif digunakan salep betadine. Grafik presentase aktivitas penyembuhan luka sayat dapat dilihat pada gambar 18.



Gambar 18. Grafik aktivitas penyembuhan luka sayat

Pada grafik presentase penyembuhan luka didapatkan hasil bahwa formula 1, formula 2, dan formula 3 memiliki nilai presentase yang berbeda, hal ini dikarenakan adanya variasi dalam penambahan ekstrak dimana pada formula 1 dengan ekstrak 3%, formula 2 dengan ekstrak 5%, dan formula 3 dengan ekstrak 7%. Hal ini dapat dikatakan bahwa penambahan ekstrak dalam sediaan gel berpengaruh terhadap presentase penyembuhan luka sayat karena kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak akan semakin banyak sehingga semakin cepat presentase penyembuhan luka. Pada penelitian ini dapat dikatakan bahwa sediaan gel paling bagus dan paling memiliki efek pada penyembuhan luka sayat yaitu

sediaan gel formula 3 dengan konsentrasi ekstrak 7% yang artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka kemampuan penyembuhan luka akan semakin efektif.

Uji statistik penyembuhan luka menggunakan data presentasi penyembuhan pada hari terakhir yaitu hari ke-8, karena semua formula dari masing-masing kelompok perlakuan memiliki efek yang sama yaitu dapat menyembuhkan luka sayat. Pengujian dilakukan dengan menggunakan uji statistik dimana hasil data normalitas menunjukkan signifikansi  $> 0,05$  yang dapat diartikan bahwa data tersebut terdistribusi normal. Kemudian uji dilanjutkan dengan uji homogenitas dan didapatkan hasil signifikansi  $> 0,05$  yang dapat diartikan bahwa semua data terdistribusi homogen, dilanjut dengan uji statistik One Way ANOVA dimana hasil menunjukkan nilai signifikansi  $< 0,05$  yang berarti data rata-rata berbeda secara signifikansi kemudian dilanjut dengan uji Post hoc test. Hasil dari uji Post hoc test yaitu pada kontrol negatif dan formula 1 memiliki perbedaan yang nyata dengan formula 2 dan formula 3 ditandai dengan subset yang berbeda, sedangkan pada formula 2 memiliki perbedaan yang nyata dengan formula 3 dan kontrol positif karena berada pada subset yang berbeda pula. Tetapi pada formula 3 dan kontrol positif terdapat pada subset yang sama sehingga dapat dikatakan antara formula 3 dan kontrol positif tidak terdapat perbedaan bermakna. Hasil analisis data penyembuhan luka dapat dilihat pada lampiran 16.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan bahwa :

Pertama, gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) mempunyai efek sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas sp.*

Kedua, gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) yang paling efektif sebagai obat luka sayat pada punggung kelinci yang diinfeksi bakteri *Pseudomonas sp* adalah formula 3.

Ketiga, sediaan gel ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle L.*) memiliki mutu fisik dan stabilitas yang baik.

#### B. Saran

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan dibuat bentuk sediaan yang lain

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas penyembuhan luka dengan menggunakan metode lain

Ketiga, perlu dilakukan uji aktivitas penyembuhan luka terhadap infeksi bakteri lain seperti staphylococcus, streotococcus.