

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman pegagan

Sebelum digunakan sebagai sampel dalam penelitian, tanaman pegagan dilakukan determinasi, tujuan dari determinasi tanaman yaitu untuk mengetahui kebenaran dari tanaman tersebut menghindari kemungkinan kesalahan tanaman dengan ciri-ciri morfologi tanaman pegagan sesuai dengan kepustakaan yang ada. Determinasi tanaman pegagan dilakukan di UPT-Laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan dinyatakan bahwa tanaman pegagan yang digunakan dalam penelitian benar adanya sesuai dengan kepustakaan. Hasil determinasi dapat dilihat di lampiran 1.

2. Hasil pengeringan daun pegagan

Daun pegagan yang diperoleh dari daerah Tawangmangu diambil daunnya, dicuci kemudian dikeringkan dengan cara diletakan dibawah sinar matahari kemudian ditutupi dengan kain berwarna hitam. Pengeringan sempurna ditandai dengan ketika diremas maka daun mudah hancur.

3. Hasil pembuatan serbuk daun pegagan

Daun pegagan yang telah dikeringkan kemudian dilakukan penyerbukan dengan menggunakan blender, serbuk yang diperoleh kemudian diayak menggunakan pengayak no 40. Tujuannya dilakukan penyerbukan untuk memperkecil ukuran bahan dan memperluas kontak bahan dengan pelarut yang digunakan sehingga ekstraksi dapat berlangsung efektif.

Berat serbuk daun pegagan 600 gram dari berat kering 3000 gram, dan diperoleh rendemen sebesar 20% dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rendemen berat daun kering terhadap berat serbuk

No	Berat Kering (g)	Berat Serbuk (g)	Rendemen (%) b/b
1.	3000	600	20

4. Hasil identifikasi serbuk daun pegagan

Identifikasi serbuk daun pegagan dilakukan secara organoleptis. Identifikasi organoleptis meliputi bentuk, warna, rasa dan bau. Identifikasi ini dilakukan untuk dapat mengetahui sifat fisik dari serbuk daun pegagan dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi serbuk daun pegagan

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk halus
Warna	Kehijauan
Rasa	Tidak berasa
Bau	Khas pegagan

5. Hasil pembuatan ekstrak daun pegagan

Sebanyak 600 gram serbuk daun pegagan, diekstraksi dengan metode maserasi. Serbuk simplisia dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 4,5 liter dengan perbandingan 1 : 9, maserasi dilakukan selama 3 hari selanjutnya disaring filtrat digunakan untuk remaserasi. Penguapan hasil ekstrak daun pegagan dilakukan menggunakan alat *Rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental dan bebas etanol. Hasil rendemen berat serbuk terhadap berat ekstrak kental dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Rendemen berat serbuk daun terhadap ekstrak kental

No	Serbuk daun (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (%)
1.	600	98	16,33

Hasil ekstraksi serbuk daun pegagan sebanyak 600 gram diperoleh ekstrak kental sebanyak 98 gram dan rendemen sebesar 16,33%. Semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan senyawa yang terekstraksi dengan pelarut yang digunakan semakin banyak.

6. Hasil identifikasi ekstrak kental daun pegagan

Identifikasi serbuk daun pegagan dilakukan secara organoleptis. Identifikasi organoleptis meliputi bentuk, warna, rasa dan bau. Identifikasi ini

dilakukan untuk dapat mengetahui sifat fisik dari serbuk daun pegagan dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi ekstrak kental daun pegagan

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Kental
Warna	Kehijauan
Rasa	Tidak berasa
Bau	Khas pegagan

7. Hasil identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun pegagan

Identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak daun pegagan menggunakan metode tabung tabel 8 menunjukkan hasil identifikasi dari senyawa ekstrak daun pegagan.

Tabel 8. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun pegagan

Senyawa	Hasil	Pustaka
Triterpenoid	+ (terbentuk warna merah)	Hasil positif terbentuk warna merah, merah jambu, ungu (Lukman 2016).
Flavonoid	+ (bewarna kekuningan)	Hasil positif jingga/merah/kuning (Lukman 2016).
Saponin	+ (berbusa)	Buih tidak hilang positif saponin (Lukman 2016).

Keterangan:

(+) = mengandung zat aktif

(-) = mengandung zat aktif

8. Hasil penetapan susut pengeringan daun pegagan

Penetapan susut pengeringan dilakukan menggunakan alat *moisture balance* dengan suhu 105°C dengan sebanyak 2 gram sampel ditimbang dan dimasukan kedalam alat. Kelembaban yang terlalu tinggi pada serbuk daun pegagan dapat mempermudah pertumbuhan bakteri dan jamur sehingga merusak sediaan, hasil susut pengeringan yang baik tidak melebihi 10%.

Tabel 9. Penetapan susut pengeringan

Simplisia	Penimbangan (g)	Susut pengeringan (%)
Serbuk daun pegagan	2,0	8
	2,0	6
	2,0	7,5
Rata-rata		7,167

Waktu yang diperlukan dalam penetapan susut pengeringan serbuk daun pegagan adalah ± 5 menit untuk setiap pengukuran. Persentase hasil yang diperoleh adalah 7,167%. Hasil ini menunjukkan bahwa kelembapan daun pegagan memenuhi persyaratan, yaitu tidak melebihi 10% (Depkes RI 1979), hal ini erat kaitannya terhadap mutu serbuk daun pegagan, jika kadar kelembapan melebihi 10% akan mengakibatkan mutu simplisia serbuk daun pegagan turun, diakibatkan mudahnya tumbuh mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, sebab air adalah media yang cocok untuk tumbuhnya mikroorganisme.

9. Hasil uji mutu fisik sediaan salep

Uji mutu fisik sediaan salep meliputi organoleptis, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, dan uji homogenitas.

9.1 Uji organoleptis. Uji organoleptis mengamati sediaan meliputi bentuk, warna, dan bau hasil uji organoleptis dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Uji organoleptis sediaan salep

Organoleptis	F I	F II	F III	Konrol negatif
Bentuk	Cair	Semi padat	Padat	Semi padat
Warna	Hijau tua	Hijau tua	Hijau tua	Putih
Bau	Khas pegagan	Khas pegagan	Khas pegagan	Tidak berbau

9.2 Uji pH. Pengukuran uji pH dilakukan menggunakan alat pH meter, dimana alat dimasukan kedalam salep dan dibaca hasil pengukuran, hasil pengukuran dapat dilihat ditabel 11.

Tabel 11. Hasil uji pH

F I	F II	F III	Kontrol negatif
5,18	5,18	5,36	6,5

Hasil uji pH yang diperoleh mendekati dengan pH kulit manusia yaitu 5-7,5 sehingga sediaan dapat digunakan dan tidak menyebabkan iritasi pada kulit ketika diaplikasikan. Jika pH sediaan < 5 atau asam, maka menyebabkan iritasi dibagian kulit yang dioleskan sediaan salep, namun jika pH sediaan $> 7,5$ atau lebih basa dari pH kulit, akan menyebabkan kulit menjadi bersisik, kasar ketika disentuh, dan menjadi lebih sensitif.

9.3 Uji viskositas. Pengujian viskositas menggunakan alat *Rion Rotor Viskotester* VT-04, dengan melihat skala pada alat setelah mencapai nilai konstan. Hasil dari uji viskositas dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji viskositas sediaan salep

F I (d.Pas)	F II (d.Pas)	F III (d.Pas)	Kontrol negatif (d.Pas)
23	35	300	30

Pengujian viskositas erat kaitannya dengan kemudahan suatu sediaan diaplikasikan pada kulit, semakin tinggi viskositas suatu sediaan maka akan semakin sulit suatu sediaan diaplikasikan, daya sebar kecil namun memiliki daya lekat pada kulit lebih kuat atau lama serta memberikan rasa tidak nyaman ketika diaplikasikan. Hasil uji viskositas, formula III memiliki viskositas paling kental dibandingkan dengan formula yang lainnya dan daya sebar yang paling kecil dibandingkan dengan formula lainnya, namun memiliki daya lekat yang paling lama. Sedangkan untuk formula I memiliki viskositas yang rendah dari formula lainnya, dan memiliki daya sebar yang lebih efektif diantara formula II, III dan basis namun memiliki daya lekat yang tidak lama. Vaseline album memiliki tekstur yang padat, sedangkan paraffin yang digunakan adalah paraffin cair. Penggunaan vaselin yang banyak dalam sediaan semi padat akan menyebabkan bentuk dari sediaan menjadi lebih keras dan kering, sedangkan jika fase air yang ditambahkan lebih banyak maka bentuk dari sediaan akan menjadi lebih cair atau kurang padat.

9.4 Uji daya lekat. Tujuan pengujian daya lekat untuk mengetahui kemampuan dari salep ekstrak daun pegagan melekat dipermukaan kulit. Semakin besar nilai daya lekat yang diperoleh maka akan semakin lama sediaan tersebut melekat pada permukaan kulit dan absorpsi obat kedalam kulit akan semakin besar dengan begitu basis dapat melepaskan obat dengan sempurna.

Tabel 13. Hasil uji daya lekat

F I (detik)	F II (detik)	F III (detik)	Kontrol negatif (detik)
2	4	37	3

Dari hasil tabel 13, dapat dilihat bahwa sediaan yang memiliki daya lekat yang paling lama adalah formula III dengan perbandingan 90:10, sehingga kemampuan melekat pada permukaan kulit dapat bertahan lebih lama dan menghasilkan efek yang diinginkan. Hasil daya lekat berbanding lurus dengan viskositas, semakin tinggi viskositas maka daya lekat sediaan akan semakin lama namun memiliki daya sebar yang kecil sehingga kemampuan untuk menyebar pada seluruh bagian luka sangat kecil.

9.5 Uji daya sebar. Pengujian daya sebar dilakukan untuk melihat seberapa luas area permukaan kulit yang dapat dijangkau oleh sediaan salep. Sediaan salep yang baik adalah sediaan yang mudah untuk menyebar ketika diaplikasikan pada kulit.

Tabel 14. Hasil uji daya sebar

Konsentrasi perbandingan basis	Daya sebar (cm)
F I	5,01
F II	3,63
F III	2,11
Kontrol negatif	3,50

Hasil tabel 14 menunjukkan formula yang memiliki daya sebar yang paling besar adalah formula I, dimana formula I mampu memberikan efek sebagai film penutup pada kulit dan memberikan aktivitas penyembuhan luka paling banyak. Hasil uji daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas, sediaan yang memiliki daya sebar yang lebih besar memiliki viskositas sediaan yang paling rendah.

9.6 Uji homogenitas. Uji homogenitas bertujuan untuk melihat sediaan yang telah dibuat tercampur secara merata dalam sediaan, dengan melihat ada tidaknya butiran-butiran atau partikel-partikel kasar yang terlihat. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji homogenitas

F I	F II	F III	Kontrol negatif
Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

Hasil pengujian menunjukan dari setiap formula salep yang dioleskan pada sebuah kaca menghasilkan susunan yang homogen. Sediaan salep yang homogen menunjukan bahwa ketercampuran ekstrak etanol daun pegagan terhadap basis salep hidrokarbon tidak didapat gumpalan atau butiran kasar pada sediaan salep dan kandungan zat aktif pada semua sisi rata. Sediaan yang tercampur homogen tidak menyebabkan iritasi dan terdistribusi secara merata ketika diaplikasikan pada kulit.

10. Hasil persentase penyembuhan luka bakar

Hasil uji presentase rata-rata penyembuhan luka bakar dari ekstrak etanol daun pegagan selama 9 hari terhadap kulit punggung kelinci *New Zealand* dengan berbagai kelompok perlakuan.

Tabel 16. Rata-rata persentase penyembuhan luka bakar

% Kesembuhan					
Hari	kontrol positif	kontrol negatif	Formula I	Formula II	Formula III
1	0	0	0	0	0
2	16,61	5,25	18,42	10,21	7,22
3	21,43	4,05	23,58	11,53	3,31
4	22,61	0	31,27	19,87	2,66
5	10,39	-10,5	31,8	17,35	-12,4
6	10,39	-17,05	10,05	-5,67	-40,96
7	12,28	-22,27	-6,55	2,08	-53,95
8	10,39	-25,31	-7,89	-15,97	-53,13
9	14,77	-28,39	-7,89	-22,08	-18,15
10	3,94	0	-8,56	-19,77	-13,21
11	23,78	2,71	17,83	1,39	13,55
12	24,36	8,67	34,96	24,2	20,26
13	43,86	16,96	46,37	37,55	25,54
14	55,24	27,19	56,69	44,53	39,79
15	65,34	46,15	61,23 ^a	54,46 ^a	47,33 ^b

Keterangan:

(^a) = tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap kontrol positif

(^b) = terdapat perbedaan bermakna terhadap kontrol negatif

Proses penyembuhan luka dibagi beberapa tahap yaitu fase *hemostatis*, fase inflamasi, fase poliferasi dan tahap akhir yaitu fase *remodelling*. Pada fase hemostatis, fase ini diperankan oleh platelet dan fibrin, fase ini terjadi pecahnya pembuluh darah akibat adanya perlakuan, untuk menghentikan pendarahan maka terjadi rangasangan kolagen terhadap platelet, dimana platelet menempel pada platelet lainnya dimediasi oleh protein fibrinogen dan faktor *Von Willebrand*, agregasi platelet yang terjadi bersama eritrosit menutup kapiler dan menghentikan pendarahan. Pada hari ke-5 terjadi proses *inflamasi* didaerah luka yang menyebabkan pembuluh darah disekitar luka terjadi pembesaran, menyebabkan lokasi luka tampak merah dan hangat fase ini dimediasi oleh epineprine, norepinephrin dan prostaglandin, tanpa adanya inflamasi tidak dapat terjadi proses penyembuhan luka. Hal ini terjadi pada hari ke-5 sampai dengan hari ke-10, pada hari ke-11 terjadi proses *poliferasi*, dimana inflamasi pada luka mulai menurun serta pembentukan pembuluh darah baru disekitar luka mulai terlihat dan terjadi proses pembentukan kembali lapisan kulit yang rusak oleh fibroblas, pembentukan kolagen yang tampak secara klinis sebagai jaringan yang bewarna kemerahan dan pematangan kolagen. Tahap akhir dari proses penyembuhan luka bakar adalah *remodelling*, dimana fase ini adalah yang terlama, proses ini dimulai pada hari ke-21 sampai 1 tahun yaitu terjadi pembentukan jaringan parut yang bewarna pucat, tipis, lemah tidak ada rasa nyeri dan gatal.

Pada hari ke-5 terjadi fase inflamasi, dimana luka dan kulit disekitar luka mengalami pembangkakan sehingga menyebabkan pembesaran diameter pada luka, nampak kemerahan dan hangat namun tidak sampai menyebabkan pendarahan, proses penyembuhan kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan berbeda, dimana kelompok kontrol positif pada fase inflamasi, jaringan disekitar luka menjadi bengkak dan kulit disekitar mengalami pengelupasan selama penyembuhan, sedangkan proses penyembuhan dengan kelompok perlakuan mengalami pembengkakan namun pada hari ke-11 kulit sudah normal kembali dan tidak menyebabkan kerusakan disekitar kulit. Berdasarkan hasil analisis persentase kesembuhan dengan statistik, kelompok kontrol positif pada hari ke-8 tidak menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol

negatif serta nilai negatif pada persentase kesembuhan dibeberapa kelompok perlakuan belum mengalami penurunan sedangkan pada hari ke-9 kelompok kontrol positif menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol negatif walaupun hasil pada persentase kesembuhan negatif tetapi beberapa kelompok mengalami peningkatan kesembuhan dan penurunan nilai negatif pada persentase kesembuhan dihari ke-9, hasil negatif tersebut dipengaruhi oleh inflamasi yang terjadi disekitar luka, menyebabkan pelebaran pada diameter luka. Pada hari ke-11 terjadi penurunan sel-sel inflamasi dan tanda-tanda radang juga mengalami penurunan saat itulah fase proliferasi terjadi, fibroblast muncul memicu pembentukan pembuluh darah baru disekitar luka bakar, meningkatkan penyembuhan, dimana area disekitar luka sudah tidak terdapat rasa hangat, kemerahan menghilang sehingga terjadinya pengecilan diameter pada luka yang ada, hal ini dipengaruhi oleh keratinosit yang berproliferasi kemudian mengalami kontak dengan matriks ekstraseluler dan berikatan dengan kolagen tipe 1. Pada fase ini kulit yang hitam karena terbakar sudah terlepas, hal ini yang menyebabkan luka menjadi terbuka dan proses penyembuhan luka mengalami peningkatan atau lebih optimal, kelompok F I (50:50) memiliki kecepatan penyembuhan luka bakar yang efektif dan mendekati kelompok kontrol positif, karena memiliki daya sebar yang lebih besar pada kulit sehingga zat aktif dalam sediaan dapat berpenetrasi lebih besar pada jaringan yang rusak. Kelompok perlakuan F I ini yang efektif dalam menyembuhkan luka dimana pada hari ke-15 persentase kesembuhan mencapai 61,23% hampir sebanding terhadap kelompok kontrol positif yaitu 65,34%. Pada penelitian ini fase *remodelling* terjadi dihari ke-33 dimana luka sudah sembuh dengan sempurna tidak terdapat jaringan parut serta persentase kesembuhan mencapai 100%, munculnya kulit baru dan tidak terdapat bekas luka bakar disekitar kulit. Berdasar Gurnida dan Lilisari (2011) luka bakar derajat 2 dapat sembuh dalam 14 hari, berdasarkan hasil dari peneltian ini, luka bakar derajat 2 pada punggung kelinci *New Zealand* sembuh sempurna mencapai hari ke-33, hal ini dapat disebabkan beberapa faktor salah satunya adalah ketebalan jaringan kulit pada punggung kelinci, sehingga menyebabkan zat aktif yang terdapat dalam sediaan sulit untuk berpenetrasi kedalam jaringan kulit.

Berdasarkan hasil analisis data menggunakan *Analisis varian* yaitu *kolmogorov-Smirnov* menunjukkan data terdistribusi normal dengan nilai signifikansi terhadap hari menunjukan nilai signifikansi $> 0,05$ yang artinya bahwa rata-rata dari data tersebut terdistribusi normal, sehingga analisis data dapat dilanjutkan dengan uji *ANOVA*. Pada hasil analisis *Levene test*, uji *Levene* untuk melihat homogenitas data, nilai signifikansi adalah $0,219 > 0,05$ data tersebut homogen. Hasil uji secara statistik diatas menyatakan bahwa data terdistribusi normal dan homogen, sehingga analisis selanjutnya menggunakan uji *two way ANOVA*, dan analisis *post hoc* dengan uji *Tukey* hasil uji *Tukey* menunjukan bahwa kelompok kontrol positif terdapat perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol negatif dengan nilai signifikansi $0,00 < 0,05$. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok perlakuan yaitu formula I memiliki aktivitas penyembuhan luka bakar hampir sebanding terhadap kelompok kontrol positif dengan nilai signifikansi $1.000 > 0,05$, artinya bahwa tidak ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif terhadap kelompok perlakuan formula I dalam menyembuhkan luka bakar derajat 2.

Penggunaan vaselin album dalam jumlah yang besar dalam sediaan semi padat akan meningkatkan viskositas dari sediaan, pada formula III mengandung vaselin album sebanyak 90% dan paraffin cair 10%. Dengan konsentrasi vaselin album 90% menyebabkan tekstur dari salep menjadi lebih keras dan kering dibandingkan dengan formula lainnya, sehingga zat aktif yang terdapat dalam sediaan dengan vaselin menghambat pelepasan zat aktif dalam memberikan efek penyembuhan luka, vaselin didalam sediaan berfungsi sebagai pembalut penutup pada kulit menyebabkan sediaan memiliki waktu yang lama melekat pada kulit. Hasil penelitian yang telah dilakukan, bahwa konsentrasi basis 50:50% yang efektif dalam menyembuhkan luka bakar, dilihat dari daya sebar formula I memiliki kemampuan menyebar yang paling besar dibandingkan dengan formula lain serta tekstur dari sediaan yang tidak terlalu padat seperti formula III, sebandingnya kandungan vaselin album dan paraffin cair dalam formula I memberikan pengaruh pada sediaan dimana sediaan tidak kering dan keras, sehingga memberikan aktivitas penyembuhan luka yang efektif. Sediaan salep

sendiri memiliki keuntungan, karena dalam dasar salep hidrokarbon memiliki sifat yang inert serta hanya menyerap sedikit air dari permukaan kulit dan dapat membentuk lapisan film tahan terhadap air yang mampu mencegah penguapan air sehingga kulit tidak mudah kering dan pecah, karena lebih banyak mengandung lemak dapat mencegah tumbuhnya mikroorganisme. Setelah dilakukan uji mutu fisik berupa uji daya sebar, daya lekat, pH, viskositas dan homogenitas disimpulkan bahwa setiap formula memiliki mutu fisik yang baik sesuai dengan persyaratan.

Asiatikosida, madekasosida dan asam asiatik merupakan kandungan zat aktif dalam daun pegagan yang memiliki efek sebagai penyembuh luka bakar, asiatikosida, madekasosida dan asam asiatik termasuk dalam golongan teriterpenoid yaitu glukosida dimana senyawa-senyawa tersebut dapat berikatan dengan gula. Asiatikosida, madekasosida dan asam asiatik mampu merangsang sintesis kolagen tipe I dalam sel dermal fibroblas yang berperan dalam proses penyembuhan luka bakar dengan cara stimulasi kolagen serta sintesis glikosaminoglikan. Pada penelitian sebelumnya asiatikosida, madekasosida dan asam asiatik memiliki aktivitas dapat meningkatkan produksi kolagen dan level granulasi jaringan pada DNA protein (Yonet 2010). Penentuan adanya senyawa tersebut dilakukan identifikasi senyawa triterpenoid, identifikasi dilakukan dengan uji tabung yang ditambahkan dengan reaksi Liberman-Burchard, hasil menunjukkan adanya senyawa triterpenoid dalam ekstrak daun pegagan ditandai dengan terbentuknya warna kemerahan.