

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Ekstraksi

Proses ekstraksi kulit buah jengkol menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Dari proses ekstraksi didapat hasil sesuai dengan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Jengkol dengan Maserasi

Berat kulit buah jengkol	2,5 kg
Berat serbuk simplisia	500 g
Jumlah pelarut	5 L
Jumlah ekstrak kental	130,14 g
Presentasi rendemen	26,02 %
Lama waktu maserasi	6 hari

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi yaitu proses perendaman ekstrak dengan pelarut yang sesuai dalam suatu bejana yang ditutup rapat selama beberapa hari. Prinsip maserasi adalah dengan cara pelarut akan masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Zat aktif di dalam sel akan keluar karena adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel. Larutan dengan konsentrasi tinggi karena mengandung zat aktif akan terdesak keluar dan digantikan dengan larutan konsentrasi rendah. Proses ini akan terus berlanjut sampai ada kejenuhan yaitu terjadi kesetimbangan konsentrasi antara di dalam dan di luar sel (Ansel, 2008). Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena

mempunyai sifat mampu mengekstraksi senyawa polar maupun non polar, tidak toksik, tidak ditumbuhi mikroba serta mudah diuapkan. Pelarut etanol dapat digunakan untuk menyari zat yang kepolaran relatif tinggi sampai relatif rendah, karena etanol merupakan pelarut universal, tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat yang terlarut dan juga efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Voigt, 1994). Ekstraksi menggunakan metode maserasi karena caranya yang sederhana dan tidak memerlukan peralatan yang khusus (Mujahid & Nita, 2013).

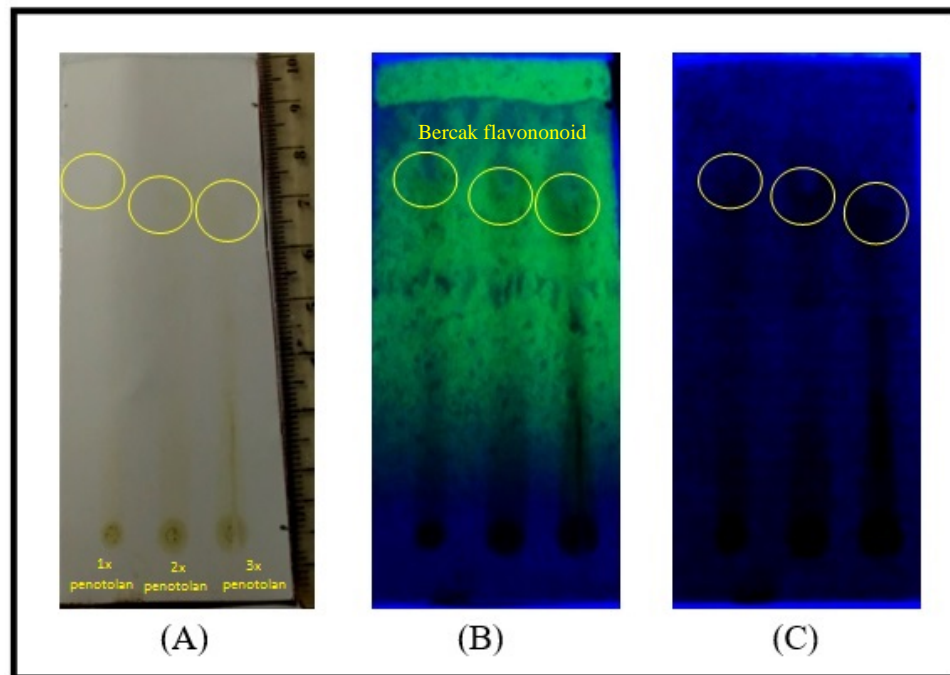
2. Kromatografi lapis tipis (KLT)

Uji kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk identifikasi suatu senyawa secara kualitatif yaitu dengan parameter nilai R_f . Dua senyawa dikatakan identik jika mempunyai nilai R_f yang sama jika diukur pada kondisi KLT yang sama. Pada proses KLT dapat digunakan lebih dari satu fase gerak dan jenis pereaksi semprot dengan tujuan meyakinkan identifikasi suatu senyawa. Pengamatan pada sinar UV berfungsi untuk menampakkan lempeng KLT berupa GF₂₅₄ yang akan berfluoresensi dan menampakkan bercak yang gelap atau bercak yang berfluoresensi terang pada dasar yang berfluoresensi seragam sehingga bercak mudah dideteksi (Gandjar & Rohman, 2007). Fase gerak ditempatkan pada bejana yang tertutup rapat, untuk menghindari penguapan fase gerak dan juga mencegah kebocoran fase gerak yang akan mempengaruhi jalannya pengembangan (elusi), sebelum dikembangkan harus dipastikan dahulu bejana tersebut telah jenuh dengan fase gerak, jika belum maka arah rambatan pengembangannya akan miring. Identifikasi senyawa

menggunakan metode KLT ini hanya dilakukan dengan analisis kualitatif dalam ekstrak etanol.

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi senyawa flavonoid dan tanin pada ekstrak kulit buah jengkol. Adapun pada proses KLT ini digunakan penyemprotan karena bercak pemisahan pada umumnya tidak berwarna, sehingga perlu diberikan pereaksi dengan cara penyemprotan agar bercak menjadi jelas (Gandjar & Rohman, 2007). Penyemprotan menggunakan reagen kromogenik yang akan bereaksi secara kimia dengan gugus fungsional tertentu sehingga bercak menjadi berwarna (Gandjar & Rohman, 2007)

Uji KLT terhadap senyawa flavonoid, eluen yang digunakan yaitu, n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) fase atas dan lempeng KLT yang digunakan adalah silika gel F₂₅₄. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) pada ekstrak kulit buah jengkol terhadap kandungan pada flavonoid, sesuai dengan Gambar 4.



Gambar 1. Profil kromatogram hasil KLT senyawa flavonoid dengan fase diam Silika Gel F₂₅₄, fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dan pereaksi Sitroborat

Keterangan :

A. Cahaya tampak B. UV 254 nm C. UV 366 nm

Nilai Rf : Penotolan 1 $\rightarrow \frac{6,5}{8} = 0,81$

Penotolan 2 $\rightarrow \frac{6}{8} = 0,75$

Penotolan 3 $\rightarrow \frac{6}{8} = 0,75$

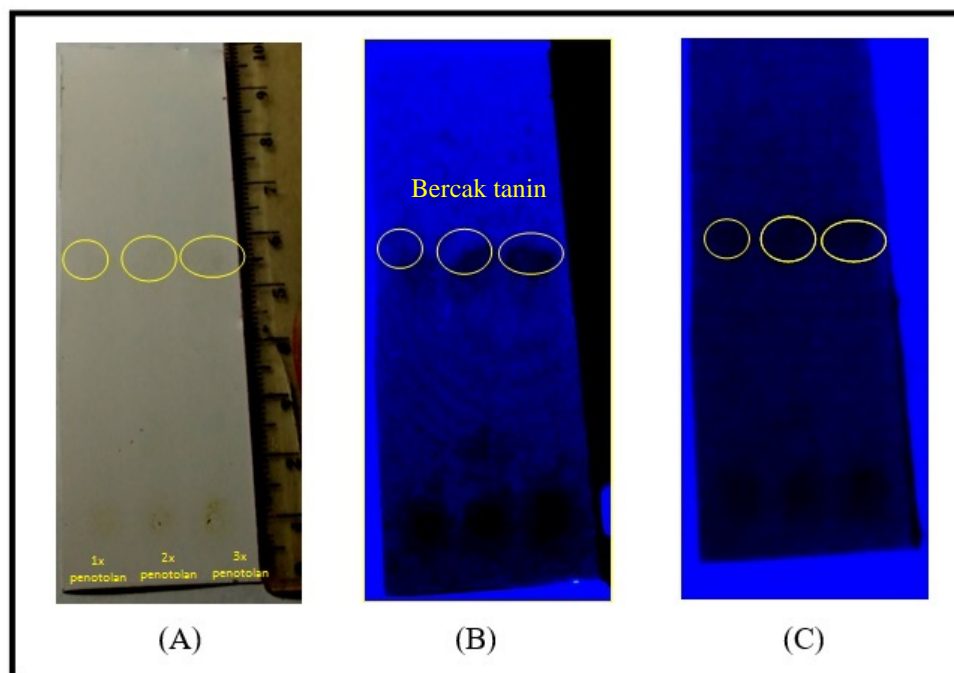
Tabel 2. Hasil Pengamatan KLT Flavonoid

Jumlah penotolan	Rf	Warna Hasil Kromatografi Lapis Tipis		
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,8	-	Kuning kehijauan	Ungu tua
2	0,75	Kuning	Kuning kehijauan	Ungu tua
3	0,75	Kuning	Kuning kehijauan	Ungu tua

Kuning
kehijauan

Pada pengamatan kromatogram memperlihatkan adanya bercak sampel berwarna kuning setelah dilakukan dengan menyemprotkan larutan sitroborat pada pengamatan secara visibel. Pengamatan dibawah sinar UV 254 nm menunjukkan warna kuning kehijauan dan dibawah sinar UV 366 nm terlihat warna ungu tua. Semua flavonoid akan memberikan flouresensi lembayung gelap, biru, kuning, dan hijau di bawah UV 366 nm (Harborne, 1987). Pada kromatogram sampel menunjukkan nilai Rf yaitu 0,8 untuk penotolan sekali, sedangkan pada penotolan kedua (2× totalan) dan penotolan ketiga (3× totalan) menunjukkan hasil Rf yang sama yaitu 0,75. Hasil pemisahan yang terjadi cukup baik karena nilai Rf masuk dalam range antara 0.2 – 0.8 (Gandjar & Rohman, 2007). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah jengkol diduga mengandung senyawa golongan flavonoid.

Uji KLT terhadap senyawa tanin, eluen yang digunakan yaitu n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dan lempeng KLT yang digunakan adalah selulosa. Hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) pada ekstrak kulit buah jengkol terhadap kandungan tanin, sesuai dengan Gambar 6.



Gambar 2. Profil Kromatogram Hasil KLT Senyawa Tanin dengan fase diam Selulosa, fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5), dan pereaksi FeCl_3

Keterangan :

A. Cahaya tampak

B. UV 254 nm

C. UV 366 nm

Nilai Rf : Penotolan 1 $\rightarrow \frac{4,5}{8} = 0,56$

Penotolan 2 $\rightarrow \frac{4,5}{8} = 0,56$

Penotolan 3 $\rightarrow \frac{4,5}{8} = 0,56$

Tabel 3. Hasil Pengamatan KLT Tanin

Jumlah Penotolan	Rf	Warna Noda		
		Tampak	UV 254 nm	UV 366 nm
1	0,56	-	Biru tua	Ungu tua
2	0,56	Kuning	Biru tua	Ungu tua
3	0,56	Kuning	Biru tua	Ungu tua

Identifikasi uji tanin menghasilkan warna kuning pada sinar tampak setelah penyemprotan pereaksi FeCl_3 , dengan nilai Rf yaitu 0,56 untuk masing-masing

penotolan. Pengamatan di bawah sinar UV 254 nm menunjukkan warna biru tua dan di bawah sinar UV 366 nm menunjukkan warna ungu tua. Hasil ini menunjukkan bahwa pemisahan yang terjadi cukup baik dengan nilai Rf masuk dalam range antara 0,2–0,8 (Gandjar & Rohman, 2007). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah jengkol diduga mengandung senyawa golongan tanin.

2. Uji evaluasi sediaan gel

Gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 1%, 5%, dan 10% dimasukan dalam wadah pot dan diberi label, selanjutnya dilakukan evaluasi sediaan gel. Evaluasi sediaan gel meliputi uji organoleptik, uji homogenitas, uji ph, uji daya sebar, dan uji konsistensi, sesuai dengan data pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil Uji Evaluasi Sediaan Gel

Uji Evaluasi	Konsentrasi 1%	Konsentrasi 5%	Konsentrasi 10%
Uji Organoleptik	Sediaan semi padat, tidak berbau jengkol, dan berwarna coklat transparan	Sediaan semi padat, tidak berbau jengkol, dan berwarna coklat	Sediaan semi padat, tidak berbau jengkol, dan berwarna coklat pekat
Uji Homogenitas	Homogen dan tercampur merata	Homogen dan tercampur merata	Homogen dan tercampur merata
Uji pH	6	6	6
Uji Daya Sebar	3,6 cm	3,8 cm	3,9 cm

Uji Konsistensi	Tidak terjadi pemisahan setelah sentrifugasi	Tidak terjadi pemisahan setelah sentrifugasi	Tidak terjadi pemisahan setelah sentrifugasi
--------------------	--	--	--

Hasil uji organoleptik menunjukkan semua sediaan gel berbentuk setengah padat, bau dari sediaan gel tidak memiliki aroma yang khas seperti buah jengkol, karena sumber aroma yang khas dari buah jengkol disebabkan karena kandungan senyawa asam jengkolat. Kulit buah jengkol mengandung sedikit asam jengkolat dibandingkan dengan buah jengkol (Darwin, 2011). Warna yang dihasilkan oleh gel ekstrak kulit buah jengkol dari semua konsentrasi yaitu 1%, 5%, dan 10% berwarna coklat dengan intensitas yang berbeda, semakin tinggi konsentrasi menunjukkan semakin gelap warna gel ekstrak kulit buah jengkol karena semakin tinggi konsentrasi gel maka semakin banyak komposisi dari ekstrak kulit buah jengkol (Douglas dkk., 2002).

Hasil pengujian homogenitas semua sediaan gel ekstrak kulit buah jengkol pada konsentrasi 1%, 5% dan 10% homogen menunjukkan hasil yang homogen ditandai dengan tidak adanya butiran kasar (Ditjen POM, 2000). Hasil uji pH menunjukkan semua gel yang dihasilkan memenuhi kriteria pH kulit yaitu dalam interval 4,5 – 6,5 (Tranggono & Latifa, 2007).

Hasil pengujian daya sebar menunjukkan daya sebar gel dengan basis CMC-Na belum memenuhi parameter daya sebar yang baik dimana semua sediaan gel memiliki daya sebar yang berada di bawah batas minimal. Daya sebar sediaan gel yang baik antara 5-7 cm (Garget dkk., 2002). Daya sebar gel

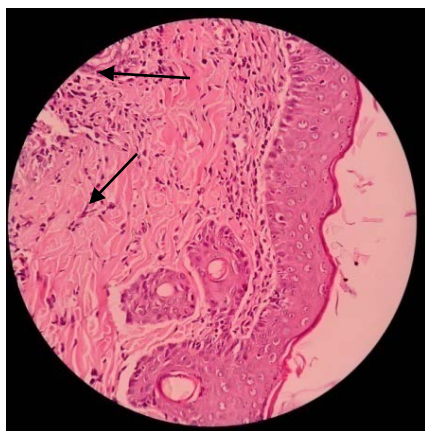
yang kurang baik disebabkan karena viskositas Na-CMC yang terlalu tinggi. Saat Na-CMC dimasukkan ke dalam air, Na^+ lepas dan diganti dengan ion H^+ dan membentuk HCMC yang akan meningkatkan viskositas (Bochek dkk., 2002).

Hasil pengujian konsistensi menunjukkan semua sediaan gel yang telah dibuat tidak mengalami pemisahan setelah disentrifugasi dengan kecepatan 3800 rpm selama 5 jam. Hal ini menunjukkan semua sediaan gel yang dihasilkan tetap stabil dan tidak terpengaruh gaya gravitasi (Djajadisastra, 2009).

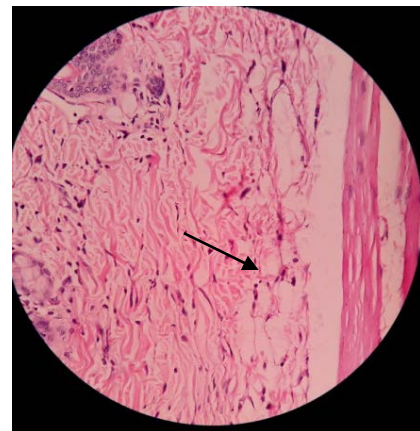
3. Pengamatan preparat histologi

Hasil penelitian ini, diperoleh dari data yang didapat dari pembacaan preparat sel makrofag dengan menggunakan perbesaran $40\times$ dan 10 lapang pandang pada perbesaran $100\times$. Pengamatan secara histopatologi pada perbesaran $40\times$ terlihat gambaran sebagai berikut:

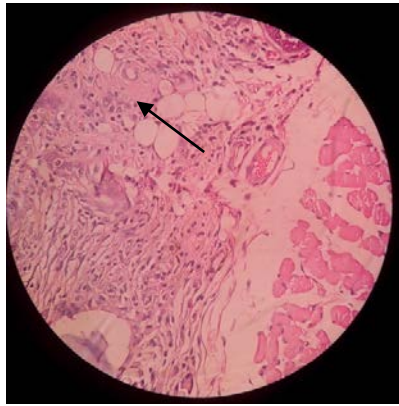
Gambar 3. Gambaran Histologi Sel Makrofag menggunakan Pewarnaan Hematoksilin-Eosin pada perbesaran $40\times$



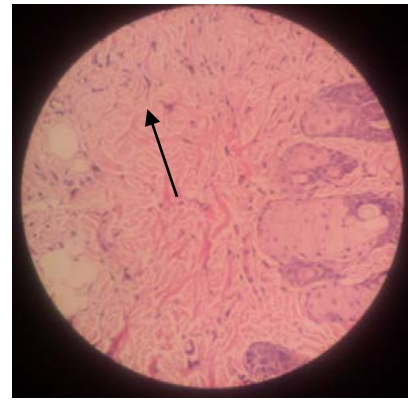
**Kelompok I
(Povidon Iodine)**



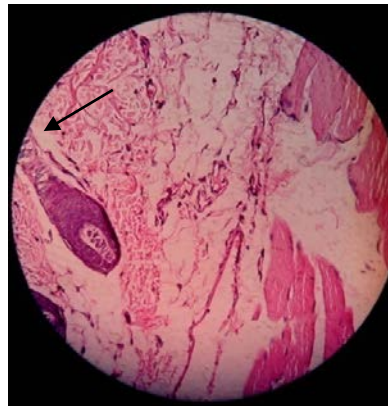
**Kelompok II
(Tanpa Perlakuan)**



Kelompok III
(Gel konsentrasi 1%)



Kelompok IV
(Gel konsentrasi 5%)



Kelompok V
(Gel konsentrasi 10%)

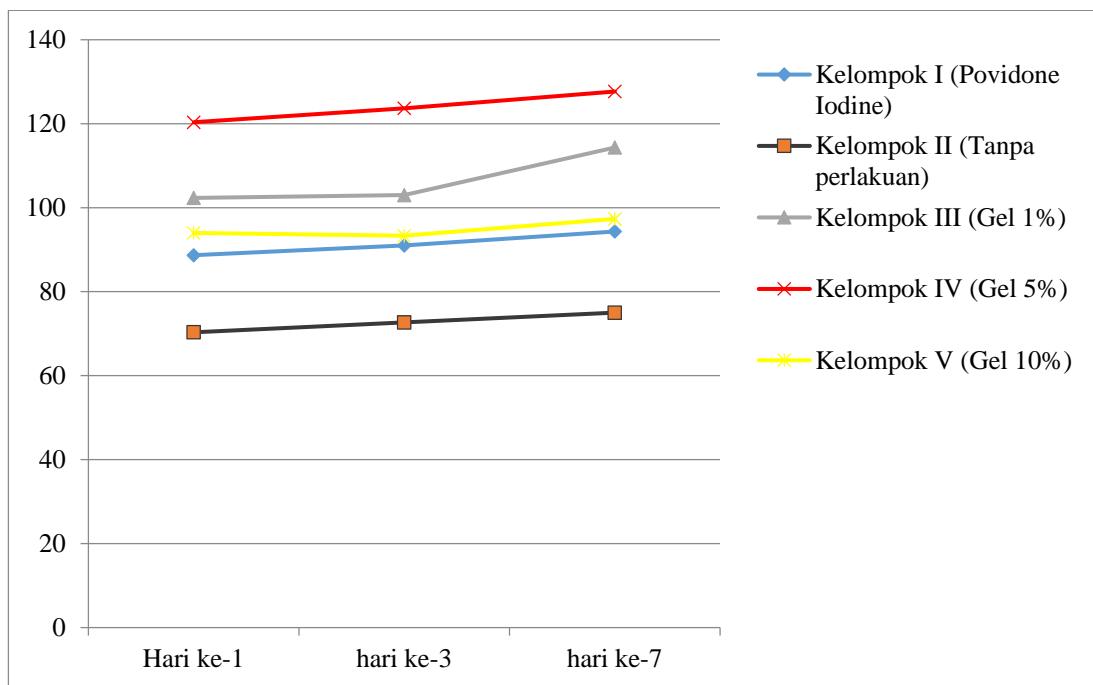
Setelah itu, dilakukan penghitungan jumlah sel makrofag pada setiap preparat dengan perbesaran $100\times$ dan 10 sudut pandang yang berbeda. Adapun rata-rata jumlah sel makrofag pada setiap preparat tercantum pada tabel 6.

Tabel 5. Rata-rata Jumlah Sel Makrofag pada Setiap Kelompok pada Proses Regenerasi Luka Eksisi pada Tikus Putih Jantan

Kelompok	Hari Dekapitasi	Sel Makrofag			Rata-rata \pm SD
		Preparat 1	Preparat 2	Preparat 3	
I <i>Povidone Iodine</i>	1	77	83	106	88,67 \pm 15,31
	3	86	93	94	91 \pm 4,36
	7	81	94	108	94,33 \pm 13,50
II Tanpa perlakuan	1	59	75	77	70,33 \pm 9,86
	3	64	76	78	72,67 \pm 7,57
	7	66	79	80	75 \pm 7,81
III Gel konsentrasi 1%	1	91	100	116	102,33 \pm 12,66
	3	92	101	116	103 \pm 37,51
	7	106	110	127	114,33 \pm 11,15
IV Gel konsentrasi 5%	1	101	119	141	120,33 \pm 20,03
	3	101	113	157	123,67 \pm 29,48
	7	104	121	158	127,67 \pm 27,61
V Gel konsentrasi 10%	1	89	90	103	94 \pm 7,81
	3	89	93	98	93,33 \pm 4,51
	7	85	96	111	97,33 \pm 13,05

Berdasarkan data dari Tabel 6, dapat terlihat bahwa rata-rata jumlah sel makrofag pada kelompok 1 (*povidon iodine*) sebesar 94,33 \pm 13,50 pada hari ketujuh, pada kelompok II kontrol negatif (tanpa perlakuan) dengan rata-rata

sebesar $75 \pm 7,81$ pada hari ketujuh, pada kelompok III (pemberian gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 1%) dengan rata-rata sebesar $114,33 \pm 11,15$ pada hari ketujuh, pada kelompok IV (pemberian gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 5%) dengan rata-rata sebesar $127,67 \pm 27,61$ pada hari ketujuh dan pada kelompok V (pemberian gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 10%) dengan rata-rata sebesar $97,33 \pm 13,05$ pada hari ketujuh.



Gambar 4. Grafik Kelompok Perlakuan terhadap Peningkatan Angka Makrofag Berdasarkan Hari Dekapitasi

Dari grafik tersebut, secara umum dapat dikatakan bahwa pada semua kelompok perlakuan secara konsisten menunjukkan jumlah sel makrofag terendah pada hari dekapitasi ke-satu dan jumlah sel makrofag tertinggi pada hari dekapitasi ke-tujuh. Dapat terlihat juga bahwa jumlah sel makrofag terendah ada pada kelompok II (tanpa perlakuan dan jumlah sel makrofag tertinggi ada pada kelompok IV (Kelompok perlakuan gel ekstrak kulit buah jengkol 5%).

4. Analisis data

Data yang didapat diuji secara statistik terhadap hipotesis penelitian menggunakan uji *Two Way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan efektifitas setiap kelompok perlakuan secara kualitatif kemudian dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui besarnya perbedaan tersebut secara kuantitatif. Namun sebelum dilakukan uji *Two Way ANOVA*, maka dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro Wilk* karena jumlah sampel yang berjumlah kurang dari 50 dan dilakukan uji homogenitas data. Untuk memenuhi syarat agar data dapat diuji dengan *Two Way ANOVA*, maka data harus terdistribusi normal dan homogen.

Tabel 6. Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

1. Kelompok perlakuan

kelompok perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Makrofag povidon iodine	,180	9	,200*	,933	9	,510
tanpa perlakuan	,287	9	,051*	,844	9	,065
gel ekstrak 1%	,124	9	,200*	,959	9	,783
gel ekstrak 5%	,217	9	,200*	,863	9	,102
gel ekstrak 10%	,170	9	,200*	,928	9	,465

2. Hari

Hari	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Makrofag hari pertama	,113	15	,200*	,976	15	,930
hari ketiga	,221	15	,047	,877	15	,053
hari ketujuh	,144	15	,200*	,949	15	,514

Hasil uji *Shapiro Wilk* menunjukkan bahwa hasil uji normalitas diperoleh nilai signifikansi jumlah sel makrofag setiap kelompok sebesar $p > 0,05$, hal ini

menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Syarat uji *Two Way ANOVA* selanjutnya adalah uji homogenitas data yang bertujuan untuk mengetahui varian data setiap kelompok. Untuk memenuhi syarat, maka data harus homogen.

Tabel 7. Uji Homogenitas

1. Kelompok perlakuan

kelompok perlakuan	N	Subset		
	1	2	3	1
tanpa perlakuan	9	72,67		
povidon iodine	9	91,33	91,33	
gel ekstrak 10%	9		94,89	
gel ekstrak 1%	9		106,56	106,56
gel ekstrak 5%	9			123,89
Sig.		,088	,224	,129

2. Hari

hari	N	Subset
hari	1	1
hari pertama	15	95,13
hari ketiga	15	96,73
hari ketujuh	15	101,73
Sig.		,459

3. Levene Test

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,514	4	40	,057

Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh data signifikansi sebesar $p = 0,057$ seperti yang ditunjukkan pada tabel 7, hal ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh homogen karena nilai $p > 0.05$. Dari hasil uji normalitas dan

homogenitas tersebut, maka data dapat diproses lebih lanjut dengan uji *Two Way ANOVA* karena memenuhi syarat terdistribusi normal dan homogen.

Tabel 8. Uji *Two Way ANOVA*

1. Kelompok perlakuan & hari

kelompok perlakuan	Hari	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
povidon iodine	hari pertama	88,667	8,651	70,999	106,334
	hari ketiga	91,000	8,651	73,333	108,667
	hari ketujuh	94,333	8,651	76,666	112,001
tanpa perlakuan	hari pertama	70,333	8,651	52,666	88,001
	hari ketiga	72,667	8,651	54,999	90,334
	hari ketujuh	75,000	8,651	57,333	92,667
gel ekstrak 1%	hari pertama	102,333	8,651	84,666	120,001
	hari ketiga	103,000	8,651	85,333	120,667
	hari ketujuh	114,333	8,651	96,666	132,001
gel ekstrak 5%	hari pertama	120,333	8,651	102,666	138,001
	hari ketiga	123,667	8,651	105,999	141,334
	hari ketujuh	127,667	8,651	109,999	145,334
gel ekstrak 10%	hari pertama	94,000	8,651	76,333	111,667
	hari ketiga	93,333	8,651	75,666	111,001
	hari ketujuh	97,333	8,651	79,666	115,001

2. Uji ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13915,200	4	3478,800	14,130	,000
Within Groups	9848,000	40	246,200		
Total	23763,200	44			

Hasil uji *Two Way Anova*, menunjukkan bahwa rata-rata antara kelompok perlakuan dan hari dekapitasi memiliki nilai yang berbeda secara signifikan ($p < 0,05$). Pada uji *Two Way Anova* hanya dapat menunjukkan ada tidaknya perbedaan antara kelompok perlakuan secara kualitatif. Untuk

mengetahui nilai signifikan secara kuantitatif dari setiap kelompok perlakuan maka dilakukan dengan uji *Post Hoc Tukey* karena pada penelitian ini menggunakan lebih dari tiga perlakuan. Uji *Tukey HSD (Honestly Significant Difference)* untuk mengetahui besarnya perbedaan tersebut secara kuantitatif.

Tabel 9. Uji Tukey HSD Kelompok Perlakuan

(I) kelompok perlakuan	(J) kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
			Upper Bound		Lower Bound	Upper Bound
povidon iodine	tanpa perlakuan	18,67	7,063	,088	-1,82	39,15
	gel ekstrak 1%	-15,22	7,063	,224	-35,71	5,27
	gel ekstrak 5%	-32,56*	7,063	,001	-53,04	-12,07
	gel ekstrak 10%	-3,56	7,063	,986	-24,04	16,93
tanpa perlakuan	povidon iodine	-18,67	7,063	,088	-39,15	1,82
	gel ekstrak 1%	-33,89*	7,063	,000	-54,38	-13,40
	gel ekstrak 5%	-51,22*	7,063	,000	-71,71	-30,73
	gel ekstrak 10%	-22,22*	7,063	,028	-42,71	-1,73
gel ekstrak 1%	povidon iodine	15,22	7,063	,224	-5,27	35,71
	tanpa perlakuan	33,89*	7,063	,000	13,40	54,38
	gel ekstrak 5%	-17,33	7,063	,129	-37,82	3,15
	gel ekstrak 10%	11,67	7,063	,478	-8,82	32,15
gel ekstrak 5%	povidon iodine	32,56*	7,063	,001	12,07	53,04
	tanpa perlakuan	51,22*	7,063	,000	30,73	71,71
	gel ekstrak 1%	17,33	7,063	,129	-3,15	37,82
	gel ekstrak 10%	29,00*	7,063	,002	8,51	49,49
gel ekstrak 10%	povidon iodine	3,56	7,063	,986	-16,93	24,04
	tanpa perlakuan	22,22*	7,063	,028	1,73	42,71
	gel ekstrak 1%	-11,67	7,063	,478	-32,15	8,82
	gel ekstrak 5%	-29,00*	7,063	,002	-49,49	-8,51

Tabel 10. Uji Tukey HSD Hari

(I) hari	(J) hari	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Conf. Interval	
					Upper Bound	Lower Bound
hari pertama	hari ketiga	-1,60	5,471	,954	-15,09	11,89
	hari ketujuh	-6,60	5,471	,459	-20,09	6,89
hari ketiga	hari pertama	1,60	5,471	,954	-11,89	15,09
	hari ketujuh	-5,00	5,471	,636	-18,49	8,49
hari ketujuh	hari pertama	6,60	5,471	,459	-6,89	20,09
	hari ketiga	5,00	5,471	,636	-8,49	18,49

Tabel 11. Uji Tukey HSD Kelompok Perlakuan & Hari

(I) kelompok perlakuan dan hari ke	(J) kelompok perlakuan dan hari ke	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Conf. Interval	
					Upper Bound	Lower Bound
Gel ekstrak 5% hari ketujuh	Povidone iodine hari pertama	39,00	14,341	,341	-13,85	91,85
	Povidone iodine hari ketiga	36,67	14,341	,434	-16,18	89,51
	Povidone iodine hari ketujuh	33,33	14,341	,582	-19,51	86,18
	Tanpa perlakuan hari pertama	57,33(*)	14,341	,024	4,49	110,18
	Tanpa perlakuan hari ketiga	55,00(*)	14,341	,035	2,15	107,85
	Tanpa perlakuan hari ketujuh	52,67	14,341	,051	-,18	105,51
	Gel ekstrak 1% hari pertama	25,33	14,341	,893	-27,51	78,18
Gel ekstrak 1% hari ketujuh	Gel ekstrak 1% hari ketiga	9,67	14,341	1,000	-43,18	62,51
	Gel ekstrak 1% hari ketujuh	13,33	14,341	1,000	-39,51	66,18
	Gel ekstrak 5% hari pertama	7,33	14,341	1,000	-45,51	60,18
	Gel ekstrak 5% hari ketiga	4,00	14,341	1,000	-48,85	56,85
	Gel ekstrak 5% hari ketujuh					

Gel ekstrak 10% hari pertama	33,67	14,341	,567	-19,18	86,51
Gel ekstrak 10% hari ketiga	34,33	14,341	,537	-18,51	87,18
Gel ekstrak 10% hari ketujuh	30,33	14,341	,716	-22,51	83,18

Uji *Tukey HSD* dilakukan untuk melihat seberapa besar perbedaan signifikansi antar perlakuan dan hari dekapitasi secara kuantitatif. Namun dapat terlihat perbedaan signifikansi yang paling besar yaitu pada perbandingan kelompok perlakuan IV (kelompok perlakuan gel ekstrak kulit buah jengkol 5%) pada hari ke-tujuh dengan kelompok perlakuan II (kelompok tanpa perlakuan) pada hari pertama dengan nilai perbedaan 57,33 dan memiliki nilai signifikansi 0,024 ($p > 0,05$). Dapat diambil kesimpulan bahwa penggunaan gel ekstrak kulit jengkol ini efektif secara signifikan pada dosis 5% selama penggunaan 7 hari.

B. Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth.) terhadap gambaran histopatologi sel makrofag pada proses penyembuhan luka eksisi tikus (*Rattus norvegicus*). Penelitian ini menggunakan 45 ekor tikus galur *Sprague Dawley* dengan jenis kelamin jantan dengan berat sekitar 200-400 gram dan umur 2-3 bulan. 45 ekor tikus ini dibagi ke dalam lima kelompok perlakuan yaitu kelompok I (pemberian *povidone iodine*) sebagai kontrol positif, kelompok II (tanpa diberikan perlakuan), kelompok III (diberikan gel ekstrak 1%), kelompok IV (diberikan gel ekstrak 5%), dan kelompok V (diberikan gel ekstrak 10%). Semua tikus pada penelitian ini di aklimatisasi selama tujuh hari di Laboratorium

Hewan Uji Farmasi Universitas Gadjah Mada dalam kandang yang terisolasi dalam ruangan khusus, kandang tersebut telah diberi nama sesuai dengan kelompoknya. Dalam satu kandang masing-masing berisi dari sembilan ekor tikus.

Pada hari ke-0 semua tikus pasca pemberian luka eksisi diaplikasikan gel ekstrak kulit jengkol konsentrasi 1%, 5%, 10% dan *povidon iodine* sesuai dengan kelompok perlakuan dengan perlakuan dengan menggunakan *cotton bud* setiap hari selama 7 hari. Pada hari pertama, tiga ekor tikus dari tiap kelompok perlakuan didekapitasi kulit kemudian tiga ekor pada hari ke-3 dan tiga ekor pada hari ke-7. Prosedur untuk mengambil kulit pada tikus dengan melakukan euthanasia menggunakan anestesi kloroform. Tikus yang akan dikorbankan dimasukkan ke dalam toples yang berisi kloroform satu persatu sampai mati kemudian jaringan di sekitar luka didekapitasi, setelah itu difiksasi di dalam larutan buffer formalin 10% untuk menjaga agar struktur jaringan tetap dan tidak berubah. Pembuatan preparat histopatologi dengan menggunakan pewarnaan *Hematoksilin* dan *Eosin (HE)* dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM yang selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40× dan 100×.

Pada pengamatan dengan menghitung jumlah sel makrofag pada setiap preparat dengan 10 lapang pandang, didapatkan hasil dari analisis antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, yaitu pada kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan angka makrofag yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol terutama pada gel ekstrak kulit jengkol dengan

konsentrasi 5% pada hari ke-3 dan ke-7. Berdasarkan uji *Tukey HSD*, dapat terlihat perbedaan signifikansi yang paling besar yaitu pada kelompok perlakuan IV (kelompok perlakuan gel ekstrak kulit buah jengkol 5%) pada hari ke-tujuh dibandingkan dengan kelompok perlakuan II (kelompok tanpa perlakuan) pada hari pertama dengan nilai perbedaan 57,33.

Penyembuhan luka merupakan proses kompleks dan dinamis dari perbaikan struktur sel dan jaringan. Penyembuhan luka melibatkan berbagai macam proses yang terbagi secara garis besar meliputi fase inflamasi, fase proliferasi dan fase remodeling. Pada fase inflamasi, terjadi reaksi vaskuler kompleks pada jaringan ikat dengan pembuluh darah yang bertujuan sebagai proteksi agar mencegah daerah kerusakan mengalami infeksi dan meluas tidak terkendali. Peran makrofag pada fase inflamasi adalah sebagai elemen imun seluler yang terbentuk dari monosit karena adanya proses kemotaksis dan migrasi. Makrofag muncul pada 48-96 jam setelah terjadi luka dan mencapai puncak pada hari ke-3 dan tetap ada sampai proses penyembuhan berjalan sempurna. Sesudah makrofag akan muncul limfosit T dengan jumlah yang bermakna pada hari ke-5 dan mencapai puncak pada hari ke-7. Makrofag memfagositosis dan mencerna organisme patologis dan sisa-sisa jaringan dengan melepas zat biologis aktif seperti kolagenase dan elastase untuk mempermudah dekontaminasi dan pembersihan jaringan (Sudrajat, 2006). Menurunnya jumlah makrofag akan memperlambat proses pembersihan luka. Makrofag akan menarik fibroblas ke tempat luka dan mulai terjadi sintesis kolagen (Novriansyah, 2008). Makrofag

juga melepas faktor pertumbuhan dan substansi lain yang mengawali dan mempercepat pembentukan jaringan granulasi (Sudrajat, 2006).

Pada fase proliferasi yang terjadi pada hari ke 3 sampai 14 akan terbentuk jaringan granulasi pada luka. Jaringan granulasi merupakan kombinasi elemen seluler termasuk fibroblas dan sel inflamasi. Peningkatan jumlah fibroblas pada daerah luka merupakan kombinasi dari proliferasi dan migrasi. Pertumbuhan fibroblas dipacu oleh sitokin yang diproduksi oleh makrofag dan limfosit. Beberapa sitokin yang dilepaskan oleh makrofag untuk membantu proses penyembuhan yaitu: TNF α , IL 1, IL 6, IL 8 dan TGF β . Peran TGF β dalam proses penyembuhan adalah meningkatkan matriks ekstraseluler dan meningkatkan kolagenasi fibroblas muncul pada hari ke-3 dan mencapai puncaknya pada hari ke-7. Fibroblas memproduksi kolagen dalam jumlah yang besar. Kolagen ini berupa glikoprotein berantai tripel, unsur utama matriks luka ekstraseluler yang berguna untuk membentuk kekuatan pada jaringan parut. Pada awalnya kolagen akan terbentuk secara berlebihan kemudian *fibril* kolagen akan mengalami reorganisasi menyebabkan terbentuknya jaringan reguler sepanjang luka (Novriansyah, 2008).

Fase yang terakhir yaitu fase *remodeling*. Setelah matriks ekstraseluler terbentuk, dimulailah reorganisasi. Hal ini tidak hanya menghasilkan migrasi sel substratum dan pertumbuhan sel ke dalam tetapi juga menyebabkan penumpukan kolagen oleh fibroblas. Terbentuknya asam hialuronidase dan proteoglikan dengan berat molekul besar berperan pada pembentukan matriks ekstraseluler dengan konsistensi seperti gel dan membantu infiltrasi seluler.

Kolagen berkembang cepat menjadi faktor utama yang membentuk matriks. Proses *remodeling* oleh kolagen selama pembentukan jaringan parut tergantung pada proses sintesis dan katabolisme kolagen yang berkesinambungan. Degradasi kolagen pada luka dikendalikan oleh enzim kolagenase. Kecepatan sintesis kolagen yang tinggi mampu mengembalikan luka ke jaringan normal dalam waktu 6 bulan hingga 1 tahun.

Pada penelitian ini, makrofag terlihat jelas dan berjumlah besar pada kelompok perlakuan gel ekstrak kulit buah jengkol konsentrasi 5% di hari ke-5 hingga hari ke-7. Hal ini disebabkan karena efek antiinflamasi dari flavonoid dengan menghambat migrasi sel PMN yang dapat memperpanjang siklus proinflamasi (Puti dkk, 2013). Pada fase inflamasi, kandungan flavonoid juga dapat membatasi radikal bebas sehingga tidak terjadi kerusakan jaringan yang berlebihan (Rodhiyah & Sulistiyawati, 2011).

Kandungan kulit buah jengkol yang membantu dalam proses penyembuhan luka diantaranya Flavonoid dan Tanin yang memiliki fungsi sebagai anti inflamasi. Dengan adanya beberapa kandungan kulit buah jengkol yang memiliki daya anti inflamasi, akan mempengaruhi produksi sel- sel inflamasi dalam fase penyembuhan luka yaitu fase inflamasi dan fase proliferasi, karena dengan adanya daya anti inflamasi dari kandungan kulit buah jengkol maka proses inflamasi pada perlukaan pascaakan dihambat. Flavonoid menunjukkan aktivitas biologis yang mempengaruhi berbagai jalur metabolisme. Flavonoid merupakan radikal bebas, antioksidan, anti inflamasi, anti alergi, anti kanker,

anti *atherosclerotic*, kegiatan anti *aggregational* dan detoksifikasi berguna untuk pencegahan dan pengobatan banyak penyakit (Majewska.M dkk, 2011).

Flavonoid dapat meningkatkan aktivitas IL-2 dan proliferasi limfosit. Proliferasi limfosit mempengaruhi sel CD4+ dan menyebabkan sel Th1 teraktivasi yang mempengaruhi molekul IFN γ yang dapat mengaktifkan makrofag sehingga mengalami peningkatan metabolik, motilitas dan aktivitas fagositosis secara cepat dan lebih efisien dalam membunuh bakteri atau mikroorganisme patogen (Ukhrowi, 2011). Selama 3-5 hari setelah luka, makrofag merupakan sel yang paling dominan dalam proses perbaikan jaringan, serta terjadi puncak perubahan monosit menjadi makrofag kemudian menuju ke daerah luka dalam waktu 5-7 hari (Delavary dkk., 2011). Makrofag dapat teraktivasi dalam dua model, yakni model klasik (M1) dan alternatif (M2). M1 akan dirangsang oleh kombinasi dari interferon (IFN)- γ (sitokin yang dihasilkan oleh aktivasi Thelper-1 dan NK sel) dan rangsangan pro inflamatori. Makrofag juga memproduksi IL-12 sebagai respons terhadap mikroba yang difagosit. Peran IL-12 adalah mengaktifasi sel NK yang akan menghasilkan IFN- γ . Pada infeksi virus, makrofag dan sel yang terinfeksi memproduksi interferon (IFN) tipe I. Interferon ini menghambat replikasi virus dan mencegah penyebaran infeksi ke sel yang belum terkena (Jeon dkk., 2012). Model M2 diaktivasi oleh IL-4 dan IL-13 serta memiliki peranan dalam penting penyembuhan luka, angiogenesis dan pertahanan terhadap infeksi dari parasit. M2 juga dikatakan sebagai sumber penting dari TGF- β (Delavary dkk., 2011).

Dari pembahasan tersebut, maka hipotesis dalam penelitian ini telah terbukti yaitu pemberian gel ekstrak kulit buah jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth.) efektif secara signifikan terhadap peningkatan angka sel makrofag pada luka eksisi tikus (*Rattus norvegicus*) jantan.