

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman tin dan bidara dilakukan di laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan (UAD). Determinasi bertujuan untuk menetapkan kebenaran yang berkaitan dengan ciri morfologi secara mikroskopis tanaman tin (*Ficus carica linn.*) dan bidara (*Zizyphus mauritania linn.*) terhadap kepustakaan. Determinasi dilakukan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama dan kesalahan pada hasil penelitian yang diambil. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang diperoleh sesuai dengan bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman tin dengan spesies:

a. Tin dengan spesies (*Ficus carica linn.*)

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-800a

Moraceae

1a ficus

1b-16b-25b-40b-46a *Ficus carica* L Flora of java (Backer, 1965)

b. bidara dengan spesies (*Zizhyphus mauritania linn.*)

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-

28b-29b-30b-21a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-

50b-51b-53b-54-56b-57b-58b-59d-72b-73b-75b-76b-333a-334b-335a-336b-

345b-346b-348b-349b-355b-356a-357b-358b Rhamnaceae

1b-2b-3a *Zizyphus*

1b-3a *Zizyphus mauritania* Lam.

Flora of java (Backer, 1965)

B. Persiapan bahan dan subjek uji

Persiapan bahan dengan menghaluskan sampel daun bidara dan daun tin yang sudah dikeringkan menggunakan blender di laboratorium teknologi farmasi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Jumlah akhir dari daun tin sebanyak 800 g dan daun bidara sebanyak 900 g. Persiapan bertujuan agar proses ekstraksi dapat berjalan optimal.

Persiapan subjek uji dilaksanakan sebelum masa perlakuan. Mencit yang sudah dipilih sesuai kriteria akan masuk ke dalam masa adaptasi selama tiga hari di lokasi perlakuan, selanjutnya pencukuran dan ditetesi *croton oil* 1 hari sebelum perlakuan untuk mengoptimalkan reaksi inflamasi.

C. Ekstraksi tanaman

Pembuatan ekstrak daun tin dan daun bidara dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dan remaserasi. Serbuk daun tin (*Ficus carica* L.) dan daun bidara (*Zizyphus mauritania* Lam.) direndam dalam pelarut etanol 96% sebagai fase awal proses ekstraksi. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari dan pengadukan setiap harinya. Pengadukan bertujuan untuk mencapai kondisi yang homogen. Setelah proses maserasi, selanjutnya adalah proses evaporasi atau pemekatan dengan

menggunakan evaporator di suhu 70°C dan kecepatan 100 rpm. Kemudian penguapan di atas *waterbath* dengan suhu 70°C hingga terbentuk ekstrak kental. Berat akhir ekstrak tin kental dari 572,32g serbuk kering adalah 53,53 gram. Disisi lain untuk daun bidara menghasilkan ekstrak kental sebanyak 138,62 gram dari serbuk sebanyak 994,97 gram. Hal ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi memberikan efisiensi yang cukup memadai sebesar 9,35% untuk daun tin dan 13,93% untuk daun bidara. Ekstraksi daun tin dan daun bidara dilakukan sebanyak 1 kali. Ekstrak memiliki aroma khas dedaunan, dan berwarna hijau pekat.

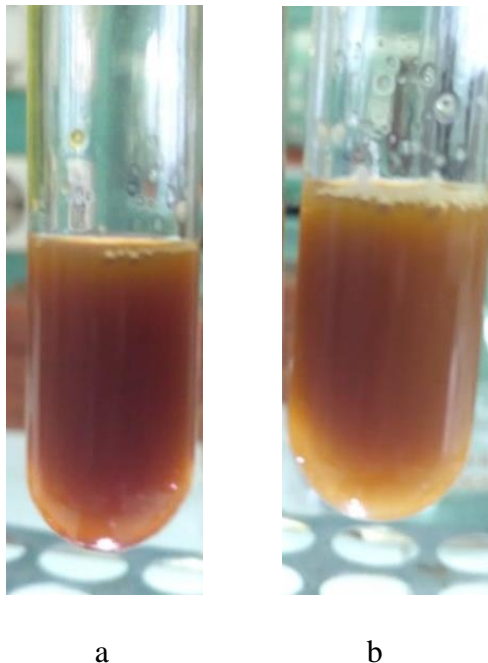
Pembuatan ekstrak tanaman tin dan bidara dalam penelitian ini menggunakan metode maserasi dan remaserasi, yaitu proses ekstraksi berdasarkan pada penarikan komponen zat aktif karena ada dorongan dari pelarut yang sesuai. Penyarian senyawa dalam tanaman menggunakan etanol 70 % sebanyak enam liter pada tin dan sembilan liter pada bidara dengan rasio perbandingan 1 liter untuk setiap 100 gram.

D. Skrining Fitokimia

Analisis secara kualitatif dilakukan terhadap kedua sampel untuk mendapatkan gambaran senyawa yang terkandung dalam ekstrak kental daun tin dan bidara. Pemeriksaan yang dilakukan meliputi KLT dan penggunaan reagen sesuai kandungan yang diduga berpotensi memiliki khasiat. Hasil uji fitokimia dari kedua sampel adalah sebagai berikut :

1. Uji pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan dengan tujuan melihat senyawa kromofor dari sampel. Indikator positif uji ini adalah perubahan warna sampel menjadi warna kuning sampai merah setelah pemanasan dan penyaringan. Ekstrak daun tin dan daun bidara sendiri terbukti memiliki senyawa kromofor. Dari uji pendahuluan ini juga dapat disimpulkan bahwa kedua ekstrak mempunyai kandungan flavonoid. Perubahan warna kuning yang dihasilkan akibat bergabungnya gugus hidroksil dari reagen KOH pada struktur senyawa.

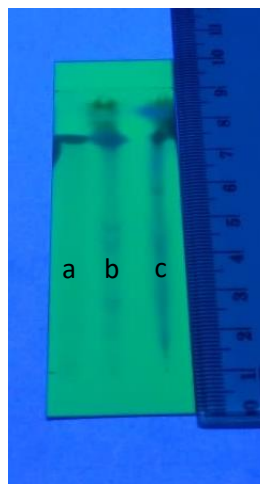


Gambar 6. Hasil uji pendahuluan daun tin(a) dan daun bidara (b)

2. Flavonoid

Pada uji KLT ini fase diam yang digunakan silika gel 60 f 254 dan fase geraknya asetat : metanol : air (70 : 23,5 : 30). Flavonoid secara teori akan

terdeteksi dengan warna bercak kuning jika dideteksi dengan sinar UV dan menimbulkan warna (Koirewoa *et al*, 2012). Dari uji ini didapatkan nilai R_f yaitu 0,8 untuk ketiga penotolan yaitu rutin (a) sebagai baku, ekstrak daun tin (b), dan ekstrak daun bidara (c). Dikarenakan bercak kuning pada R_f dari kedua sampel menyamai R_f rutin yang merupakan baku senyawa flavonoid maka disimpulkan bahwa daun tin dan daun bidara mengandung senyawa flavonoid golongan rutin. Selain itu pada sampel daun tin juga terdapat bercak dengan nilai R_f 0,94 sedangkan pada daun bidara terdapat bercak dengan nilai R_f 0,91. Bercak ini diduga merupakan zat lainnya yang ikut terbawa dalam ekstraksi, mengingat ekstrak daun tin dan daun bidara merupakan ekstrak mentah.

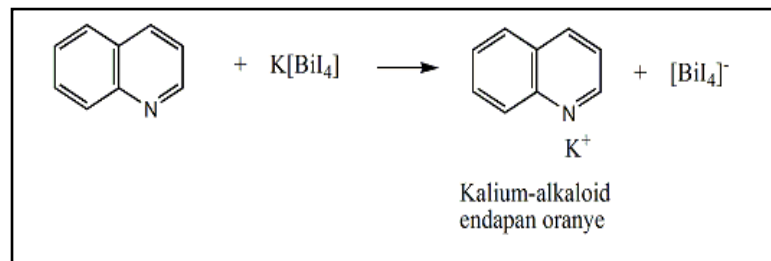


Gambar 7. Gambar kromatogram identifikasi senyawa flavonoid ekstrak tin dan bidara.

3. Alkaloid

Uji kandungan alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer. Pereaksi Mayer mengandung merkuri klorida

dan kalium iodida yang akan bereaksi dengan alkaloid dan membentuk endapan berwarna kuning. Saat ekstrak ditetaskan pereaksi Dragendorff yang mengandung Nitrooxyl oxobismutehine ($\text{BiNO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) dan kalium iodida, alkaloid akan bereaksi dengan bismuth menghasilkan warna jingga dan menghasilkan endapan (Tiwari et al., 2011). Reaksi dapat dilihat pada gambar dibawah (Miroslav, 1971).



Gambar 8. Reaksi kimia alkaloid dengan pereaksi Dragendorff

Hasil percobaan ekstrak kental daun tin dan daun bidara menunjukkan adanya endapan berwarna jingga dengan reagen Dragendorff.

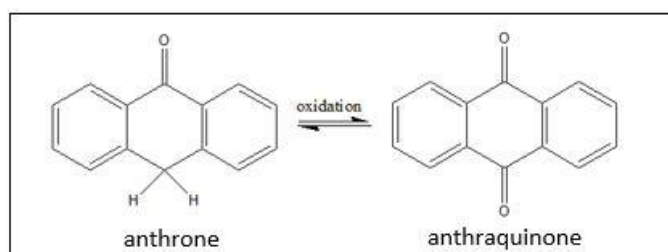


Gambar 9. Hasil uji alkaloid ekstrak daun tin(a) dan ekstrak daun bidara(b)

Hasil dengan pereaksi Mayer tidak sesuai dengan referensi yang seharusnya larutan membentuk endapan kuning. Hal ini dapat disebabkan karena pereaksi Mayer tidak terlalu reaktif dengan alkaloid yang terdapat pada daun tin dan bidara, ataupun karena warna sampel yang terlalu pekat sehingga tidak terlihat bahwa ada endapan berwarna putih.

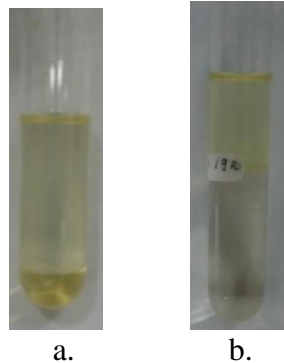
4. Antrakuinon

Antrakuinon adalah senyawa glikosida yang didalam tanaman berikatan dengan gula sebagai o-glikosida atau c-glikosida. Skrining senyawa antrakuinon dapat dilakukan dengan reaksi borntreger. Perendaman bahan dalam senyawa kalium hidroksida menghidrolisis glikosida dan mengoksidasi antron menjadi antrakuinon. Lalu bahan diasamkan dan terbentuklah dua lapisan dengan lapisan benzena tidak berwarna dan larutan basa menjadi merah apabila terdapat kuinon (Robinson, 1991).



Gambar 10. Reaksi oksidasi antron menjadi antrakuinon

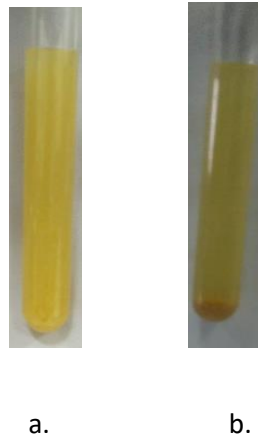
Pada penelitian ini dengan penambahan KOH pada sampel ekstrak tin maupun bidara tidak menghasilkan perubahan warna, sehingga dapat disimpulkan bahwa kedua ekstrak tidak mengandung antrakuinon.



Gambar 11. Hasil uji antrakuinon ekstrak daun tin(a) dan daun bidara(b)

5. Tannin

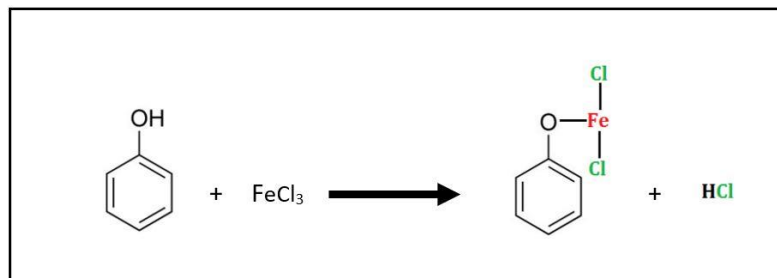
Hasil uji tannin ditandai dengan terbentuknya endapan setelah sampel dipanaskan, disaring, dan direaksikan dengan gelatin. Hal ini terjadi karena adanya reaksi tanin terhadap gelatin dengan membentuk suatu senyawa kopolimer (endapan) yang tidak larut dalam air (Tiwari et al., 2011). pewarnaan tannin juga dapat dilakukan dengan penambahan reagen FeCl_3 dengan reaksi seperti pada gambar 13. Tanin sendiri adalah suatu senyawa polifenol yang terdapat dalam tumbuhan dalam bentuk glikosida yang jika terhidrolisis akan menghasilkan glikon dan aglikons. Pengujian ini menghasilkan hasil positif ekstrak daun bidara mengandung tanin dan hasil negatif daun tin mengandung tanin.



Gambar 12. Hasil uji tanin ekstrak daun tin (a) dan daun bidara (b)

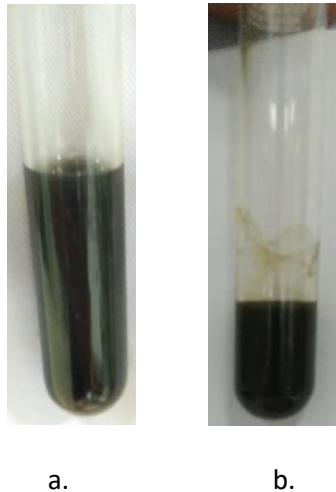
6. Polifenol

Polifenol merupakan zat kimia yang memiliki gugus fenol dalam strukturnya. Pengujian polifenol dapat dilakukan dengan melakukan penambahan FeCl_3 dan diperkirakan akan menimbulkan warna biru kehitaman atau hitam kehijauan (Tiwari et al., 2011). Prinsip pewarnaan dapat dilihat pada gambar 12 (Goud, 2018).



Gambar 13. Prinsip reaksi molekul fenol dan reagen FeCl_3

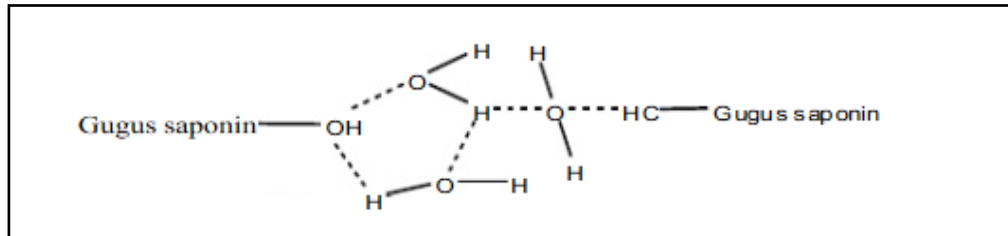
Perubahan warna terjadi dengan penambahan FeCl_3 yang nantinya akan berikatan dengan gugus hidroksil. Pada penelitian ini dapat disimpulkan adanya polifenol pada ekstrak daun tin maupun daun bidara.



Gambar 14. Hasil uji senyawa Polifenol ekstrak daun tin(a) dan daun bidara(b)

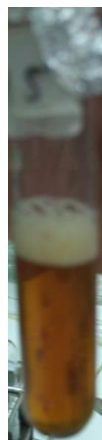
7. Saponin

Saponin merupakan senyawa yang mempunyai gugus hidrofilik dan hidrofobik. Saponin pada saat digojok terbentuk buih karena adanya gugus hidrofil yang berikatan dengan air sedangkan hidrofob akan berikatan dengan udara (Tiwari *et al.*, 2011). Keadaan ini menyebabkan terbentuknya busa dengan gugs polar yang menghadap luar dan non-polar menghadap kedalam. Reaksi pembentukan busa dapat dilihat pada gambar dibawah (Tiwari *et al.*, 2011).



Gambar 15. Reaksi pengikatan gugus hidrofilik saponin bersama molekul air

Pada penelitian ini terbentuk busa yang konsisten pada kedua ekstrak, sehingga dapat disimpulkan kedua sampel mengandung saponin.



a.



b.

Gambar 16. Hasil uji senyawa saponin ekstrak daun tin(a) dan daun bidara(b)

E. Formulasi krim

Formulasi krim ekstrak daun tin dan daun bidara secara prinsip dimulai dengan mencampur fase minyak yang telah dilelehkan dengan emulgator terlebih dahulu dan selanjutnya ditambahkan fase airnya. Krim didefinisikan sebagai sediaan setengah padat dapat berupa emulsi kental mengandung air

tidak kurang dari 60%, yang dimaksudkan untuk pemakaian luar. Sediaan krim yang dibuat termasuk krim satu fase, yaitu sistem fase terbentuk dari makromolekul organik yang tersebar merata dalam suatu cairan sedemikian rupa sehingga tidak terlihat adanya ikatan antara molekul makro yang terdispersi. Pada penelitian ini, ekstrak daun tin dan daun bidara dibuat 6 formula berbeda. Enam formulasi ini memiliki perbedaan dari segi jenis zat aktif dan konsentrasinya yaitu ekstrak tin (2,5% ; 5%), ekstrak bidara (2,5% ; 5%) dan kombinasi kedua ekstrak (2,5% ; 5%). Pembuatan sediaan krim dilakukan dengan beberapa fase, yaitu melelehkan fase minyak sodium lauryl sulfat dan vaseline pada suhu 70°C dan 50°C menggunakan waterbath. Hal ini dilakukan agar bahan – bahan tersebut dapat larut dalam bahan fase air. Kemudian dilakukan pembentukan sediaan krim, ekstrak kental dilarutkan dengan sebagian aquadest. Fase satu kemudian dicampurkan pada mortir hangat dan selanjutnya dimasukkan fase air secara bertahap sambil diaduk homogen.

Na Lauril sulfat biasa digunakan pada krim sebagai surfaktan anionik dan enhancer. Peningkatan penetrasi pada kulit terjadi dengan meningkatnya fluiditas lipid epidermal yang menyebabkan Na Lauril sulfat larut kesemua penjuru arah dan meningkatkan intraepidermal drug delivery. Na Lauril sulfat sendiri lazim digunakan sebagai surfaktan kosmetik dalam cakupan luas pada konsentrasi 0,5 hingga 2,5% (Owen, 2006).

Stearyl alkohol merupakan lemak alkohol rantai panjang yang berfungsi sebagai surfaktan dan mempengaruhi reologi dengan meningkatkan viskositas

(Zhoh et al., 2009). Selain itu stearyl alkohol juga menjadi surfaktan yang menentukan fase M/A pada sediaan semisolid.

Propilen glikol merupakan cairan kental, jernih, tidak berwarna, memiliki rasa sedikit manis dan sifatnya higroskopis. Propilen glikol dapat dicampur dengan air, etanol dan kloroform, larut dalam eter (FI III, 1979). Propilen glikol dalam sediaan semisolid digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang baik dalam melarutkan berbagai macam bahan.

F. Uji sifat fisik krim

1. Uji viskositas

Viskositas merupakan kemampuan suatu sediaan untuk mengalir. Semakin kecil viskositas atau semakin encer sediaan, maka semakin kecil tahanannya (Mitsui, 1993). Viskositas berhubungan dengan sifat alir. Pengukuran viskositas dapat dilakukan dengan berbagai jenis viskometer sesuai kebutuhan, dalam penelitian ini digunakan Rheosys Merlin II.

Pengukuran viskositas menggunakan “Rheosys Merlin VR II Viscometer” menggunakan spindel paralel 30 mm 10 poin dengan kecepatan putar 1,0 hingga 30,0 RPM dengan jeda 30 detik dan 1 detik waktu integrasi. Dari test viskositas dihasilkan pada kecepatan 12,6 RPM, viskositas krim adalah sebagai berikut:

Tabel 4. Hasil pengukuran viskositas sediaan krim

Formula	$\bar{x} \pm SD$ (Pa.S)
Krim tin 2,5%	0,4915 \pm 0,070
Krim tin 5%	2,3760 \pm 0,548
Krim bidara 2,5%	0,42361 \pm 0,025
Krim bidara 5%	0,7990 \pm 0,164
Krim kombinasi 2,5%	0,7124 \pm 0,053
Krim kombinasi 5%	0,4556 \pm 0,030

Sebagai tambahan dalam mendapatkan nilai viskositas, viskometer Rheosys merlin VR11 juga menunjukkan grafik yang dapat menunjukkan sifat alir dari sampel (Hendriana, 2016), grafik dihasilkan dari sampel krim sendiri mengikuti sifat alir non-Newtonian, yang dapat diidentifikasi karena adanya penurunan nilai viskositas dengan adanya kenaikan *shear rate*. Ciri lainnya dapat dilihat dari rheogram tidak proporsional dan berbentuk *convex* menunjukkan sifat aliran fluida non-Newtonian psedudoplastik.

Semakin tinggi nilai viskositas, semakin tinggi tingkat ketebalan sampel (Arikumalasari *et al.*, 2013). Viskositas berhubungan dengan daya sebar dan daya rekat dari sediaan topikal. Daya sebar sendiri memiliki hubungan terbalik dengan daya rekat dan viskositas, sehingga semakin besar viskositas sebuah sampel, maka semakin besar daya rekatnya dan semakin kecil daya sebar dihasilkan (Setyaningrum, 2013).

2. Uji daya sebar

Nilai daya sebar suatu sediaan biasanya berbanding terbalik dengan viskositasnya. Semakin tinggi viskositas sediaan, maka nilai daya sebar semakin rendah. Uji daya sebar dilakukan untuk menjamin pemerataan krim saat diaplikasikan pada kulit. Dalam penelitian ini, digunakan metode plat paralel menggunakan kaca bulat dan milimeter blok untuk pengukuran daya sebar. Kriteria daya sebar dalam penelitian dibuat berdasarkan produk pembanding sebuah sediaan semisolid yang ada dipasaran, kemudian diambil nilai tertinggi dan terendah dari dua data sebagai kriteria daya sebar dalam penelitian. Apabila sediaan topikal memiliki sebaran yang baik maka absorpsi baik sehingga meningkatkan efektivitas zat aktif dari sediaan topikal tersebut. Menurut Garg dkk (2002) sediaan yang baik memiliki daya sebar antara 5 sampai 7 cm. Tabel dibawah menunjukkan hasil pengukuran daya sebar dari keenam formula :

Tabel 5. Hasil pengukuran daya sebar sediaan krim

Formula	$\bar{x} \pm SD$ (cm)
Krim tin 2,5%	6,6273 \pm 3,07
Krim tin 5%	4,120 \pm 0,57
Krim bidara 2,5%	6,454 \pm 1,52
Krim bidara 5%	5,062 \pm 1,33
Krim kombinasi 2,5%	4,392 \pm 0,46
Krim kombinasi 5%	5,826 \pm 1,44

Dari data ini disimpulkan bahwa sediaan krim memiliki daya sebar yang luasnya relatif sama jika dibandingkan produk semisolid pasaran.

3. Uji pH

Pengujian pH menggunakan pH meter dimasukkan kedalam krim, kemudian dilihat pH meternya dengan parameter normal 4,5 – 6,5 (Shovyana and Zulkarnain, 2013). Kondisi pH kulit normal memang berada pada kondisi sedikit asam, pH yang terlalu asam dapat memicu terjadinya iritasi, sedangkan pH yang terlalu basa menyebabkan ketidakseimbangan flora normal pada kulit, beberapa bakteri patogen seperti *S. Aureus* cenderung berkembang pada pH netral (Ali dan Yosipovitch, 2013). Tabel dibawah menunjukkan pengukuran pH dari keenam formula :

Tabel 6. Hasil pengukuran uji pH

Formula	pH
Krim tin 2,5%	5,28
Krim tin 5%	5,28
Krim bidara 2,5%	5,102
Krim bidara 5%	5,151
Krim kombinasi 2,5%	5,14
Krim kombinasi 5%	5,01

4. Uji daya lekat

Uji daya lekat digunakan untuk mengetahui kemampuan maksimal sediaan krim untuk melekat pada daerah aplikasinya, yaitu kulit. Daya lekat krim yang baik yaitu dapat melapisi kulit secara menyeluruh, tidak menyumbat pori dan tidak mengganggu fungsi fisiologis kulit (Voight, 1995). Hasil pengujian dari keenam formula dapat dilihat pada tabel berikut

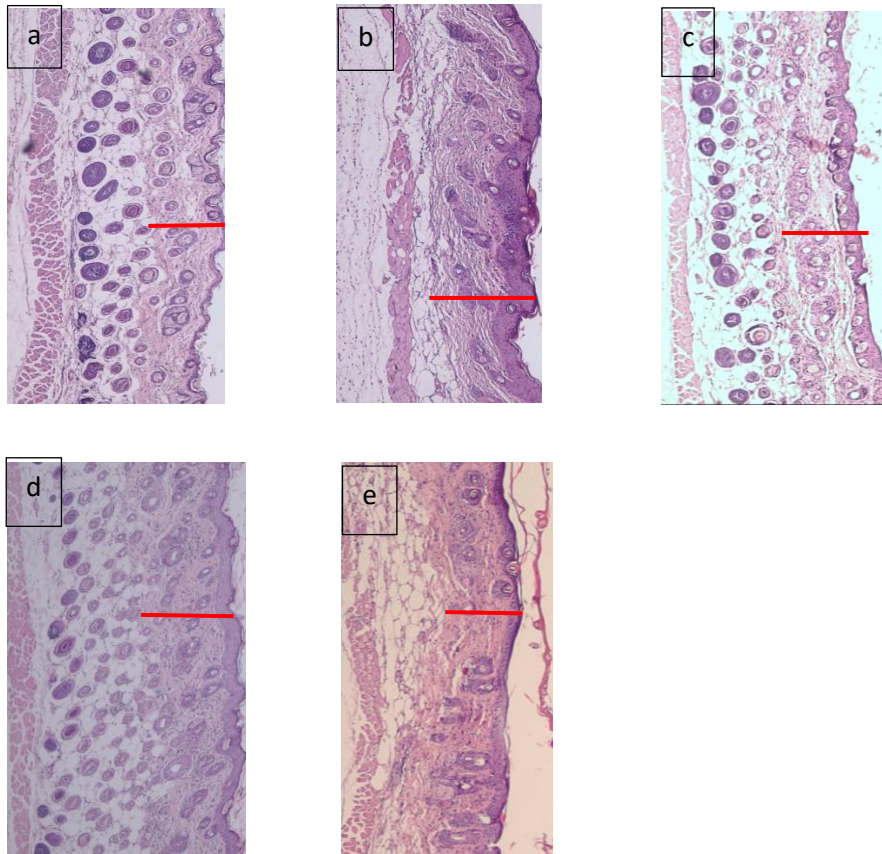
Berdasarkan nilai rujukan yang sudah terstandar untuk daya lekat (> 1 detik) (Lieberman *et al.*,1998) diketahui formula 1 dan 4 memenuhi kriteria, dari hasil ini dapat dilihat semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak yang ditambahkan maka semakin besar daya lekatnya.

Tabel 7. Hasil pengukuran daya lekat sediaan krim

Formula	daya lekat (s)
Krim tin 2,5%	1,46
Krim tin 5%	2,37
Krim bidara 2,5%	1,1
Krim bidara 5%	2,26
Krim kombinasi 2,5%	1,38
Krim kombinasi 5%	1,5

G. Evaluasi *In Vivo* Efek Antiinflamasi Krim

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok perlakuan yang masing – masing terdiri dari 6 ekor mencit. Pengecatan hematoksilin eosin (HE) dan immunohistokimia COX-2 dilakukan sesuai metode standar di laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran UGM dan laboratorium patologi Anatomi, RS. Dr. Sardjito, Yogyakarta (Sugihartini *et al.*, 2013). Perhitungan ketebalan epidermis diukur berdasarkan rerata jarak antara lapisan epidermis terdalam dengan terluar yang diukur dari tiga bidang pandang dari tiap irisan jaringan kulit tiap hewan uji.



Gambar 17. Gambaran mikroskopis rerata lebar epidermis jaringan kulit dengan pengecatan hematoksilin eosin (HE) pembesaran 120x (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak, dan (e) kelompok formula krim

Pengamatan sel radang dilakukan secara deskriptif dengan membandingkan bidang pandang dari masing-masing kelompok dimana bidang pandang diambil dari tiga sudut pandang. Sel radang dapat diketahui dengan adanya bercak berwarna coklat kehitaman. Pada pengamatan sel yang mengekspresikan COX-2 dilakukan dengan perbesaran 120x pada bidang pandang irisan jaringan kulit tiap kelompok hewan uji, berdasarkan jumlah sel

yang menunjukkan warna coklat pada sitoplasma atau intinya. Hasil dari pengukuran ketebalan epidermis kulit mencit dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil pengukuran ketebalan epidermis 15 kelompok kontrol mencit

Kelompok	Ketebalan epidermis (μm)
Kontrol normal	407,07 \pm 23,65
Kontrol negatif	678,90 \pm 110,61
Kontrol positif	408,57 \pm 33,82
Krim tin 2,5%	435,41 \pm 15,07
Krim tin 5%	427,68 \pm 28,44
Krim bidara 2,5%	470,01 \pm 57,01
Krim bidara 5%	450,87 \pm 28,19
Krim kombinasi 2,5%	470,1 \pm 24,69
Krim kombinasi 5%	472,58 \pm 19,10
Ekstrak tin 2,5%	426,21 \pm 39,28
Ekstrak tin 5%	454,55 \pm 40,01
Ekstrak bidara 2,5%	429,15 \pm 14,63
Ekstrak bidara 5%	446,09 \pm 16,04
Ekstrak kombinasi 2,5%	463,38 \pm 55,31
Ekstrak kombinasi 5%	458,60 \pm 19,64

Data hasil uji daya anti-inflamasi tabel 8 Hasil pengecatan preparat HE menunjukkan bahwa ketebalan epidermis, pada kontrol normal adalah yang

paling sedikit. Hal ini berlawanan dengan data pada kelompok kontrol negatif yang menerima perlakuan menggunakan senyawa penginduksi 100 μ L *croton oil* dengan konsentrasi 4%. *Croton oil* diketahui memiliki sifat *irritant* dan mampu menyebabkan inflamasi, sehingga minyak ini dipilih sebagai induktor inflamasi (Lan *et al*, 2012). *Croton oil* memiliki mekanisme mengaktivasi fosfolipase A2 yang selanjutnya mengeluarkan asam arakidonat dari membran sel. Asam arakidonat ini kemudian dimetabolisme menjadi prostaglandin dan leukotrin (Shah *et al*, 2011).

Tabel 9. Data statistik komparasi antar kelompok terkontrol dengan metode Mann-Whitney

Subjek uji	Signifikansi (p)	Keterangan
Kontrol normal - kontrol negatif	0,004	Signifikan
Kontrol positif - kontrol negatif	0,004	Signifikan
Kontrol positif - kontrol normal	0,688	Tidak signifikan

Berdasarkan uji statistik terdapat perbedaan ketebalan epidermis yang bermakna antara kelompok kontrol normal dan kontrol negatif (mendapatkan induksi inflamasi tanpa pemberian sediaan) ($p < 0,05$). Adanya perbedaan bermakna pada metode induksi tersebut dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas anti-inflamasi formula krim yang dibuat.

Kelompok positif (mendapatkan pemberian topikal antiinflamasi yang ada dipasaran) berfungsi sebagai baku pembandingan efektifitas sediaan dengan

produk yang ada dipasaran. Gambaran mikroskopik dari kontrol positif menunjukkan ketebalan epidermis yang lebih rendah dan secara statistik signifikan jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Jika dibandingkan dengan kelompok normal, ketebalan epidermis menunjukkan hasil yang sedikit lebih tinggi, namun tidak berbeda secara signifikan. Dengan ini dapat disimpulkan bahwa produk pasaran memiliki efektifitas yang secara statistik signifikan dalam menurunkan penebalan bahkan mengembalikan ketebalan kulit seperti normal.

Kelompok perlakuan pada penelitian ini dibagi berdasarkan beberapa aspek, yaitu aspek dosis zat aktif, dan bentuk sediaan. Terdapat dua variasi dosis yaitu 2,5% dan 5%, sedangkan bentuk sediaan terbagi menjadi sediaan krim dan ekstrak mentah. Variasi dosis digunakan untuk melihat korelasi jumlah zat aktif dan efektifitas terapi, sedangkan bentuk sediaan untuk membandingkan daya penetrasi zat aktif dalam sebuah sediaan krim dengan zat aktif pada ekstrak mentah. Dengan membandingkan setiap kelompok perlakuan dengan kelompok negatif pada metode kruskal-wallis *post hoc* Mann-Whitney dapat dibuktikan secara statistik adanya perbedaan di setiap kelompok ($\text{sig} < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan memiliki efek yang signifikan dalam menurunkan ketebalan epidermis. Kruskal-wallis dipilih sebagai metode analisis karena cocok dengan jumlah kelompok yang lebih dari dua dan tidak terdistribusi normal secara statistik. Selanjutnya *post hoc* Mann-

Whitney berfungsi untuk mengetahui perbedaan secara individual dari setiap kelompok.

Tabel 10. Data statistik uji komparasi kelompok perlakuan dan kelompok negatif dengan metode Mann - whitney

B2,5	0,04	Signifikan
B5	0,04	Signifikan
T2,5	0,04	Signifikan
T5	0,006	Signifikan
K2,5	0,016	Signifikan
K5	0,04	Signifikan
KB2,5	0,01	Signifikan
KB5	0,04	Signifikan
KT2,5	0,04	Signifikan
KT5	0,04	Signifikan
KK2,5	0,006	Signifikan
KK5	0,006	Signifikan

Dalam penelitian ini terdapat uji perbandingan kelompok perlakuan dengan kontrol positif untuk mengetahui efektifitas ekstrak sampel dan produk pasaran. Metode yang digunakan dalam proses mmbandingkan kontrol positif dengan perlakuan adalah uji Kruskal-Wallis *post hoc* Mann-Whitney. Dari hasil uji diperoleh sejumlah perlakuan secara statistik tidak signifikan ($p > 0,05$),

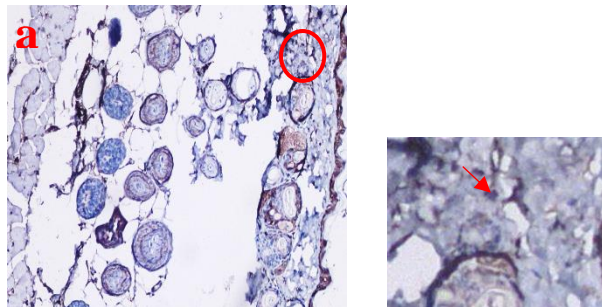
diantaranya bidara 2,5%; bidara 5%; tin 2,5%; krim bidara 2,5%; krim tin 2,5%; dan krim tin 5% yang dapat disimpulkan bahwa secara statistik kelompok perlakuan tersebut memiliki kemampuan penurunan epidermis yang relatif sama dengan produk pasaran voltaren gel[®]. Selanjutnya ada beberapa kelompok perlakuan yang secara statistik berbeda, yaitu ekstrak tin 5%; ekstrak kombinasi 2,5%; ekstrak kombinasi 5%; krim bidara 5%; krim kombinasi 2,5%; krim kombinasi 5%.

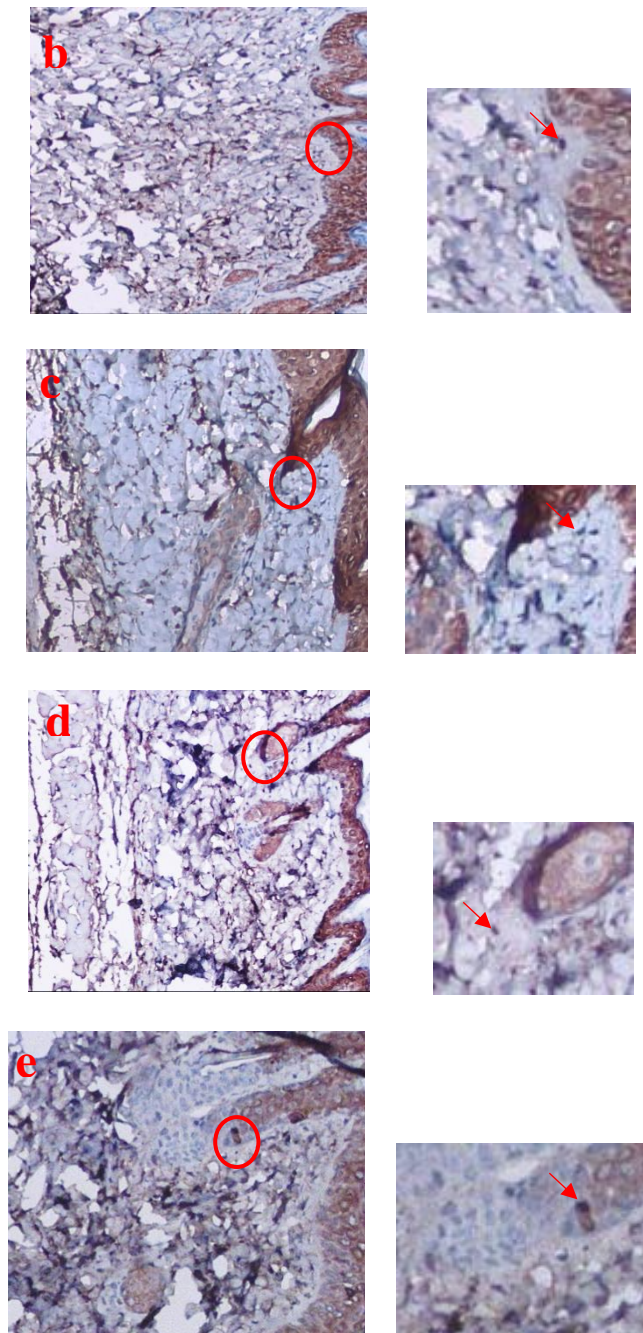
Tabel 11. Data statistik uji komparasi kelompok perlakuan dan kelompok positif dengan metode Mann - whitney

B2,5	0,261	Tidak Signifikan
B5	0,076	Tidak signifikan
T2,5	0,470	Tidak signifikan
T5	0,025	Signifikan
K2,5	0,038	Signifikan
K5	0,025	Signifikan
KB2,5	0,092	Tidak Signifikan
KB5	0,03	Signifikan
KT2,5	0,149	Tidak Signifikan
KT5	0,229	Tidak Signifikan
KK2,5	0,016	Signifikan
KK5	0,01	Signifikan

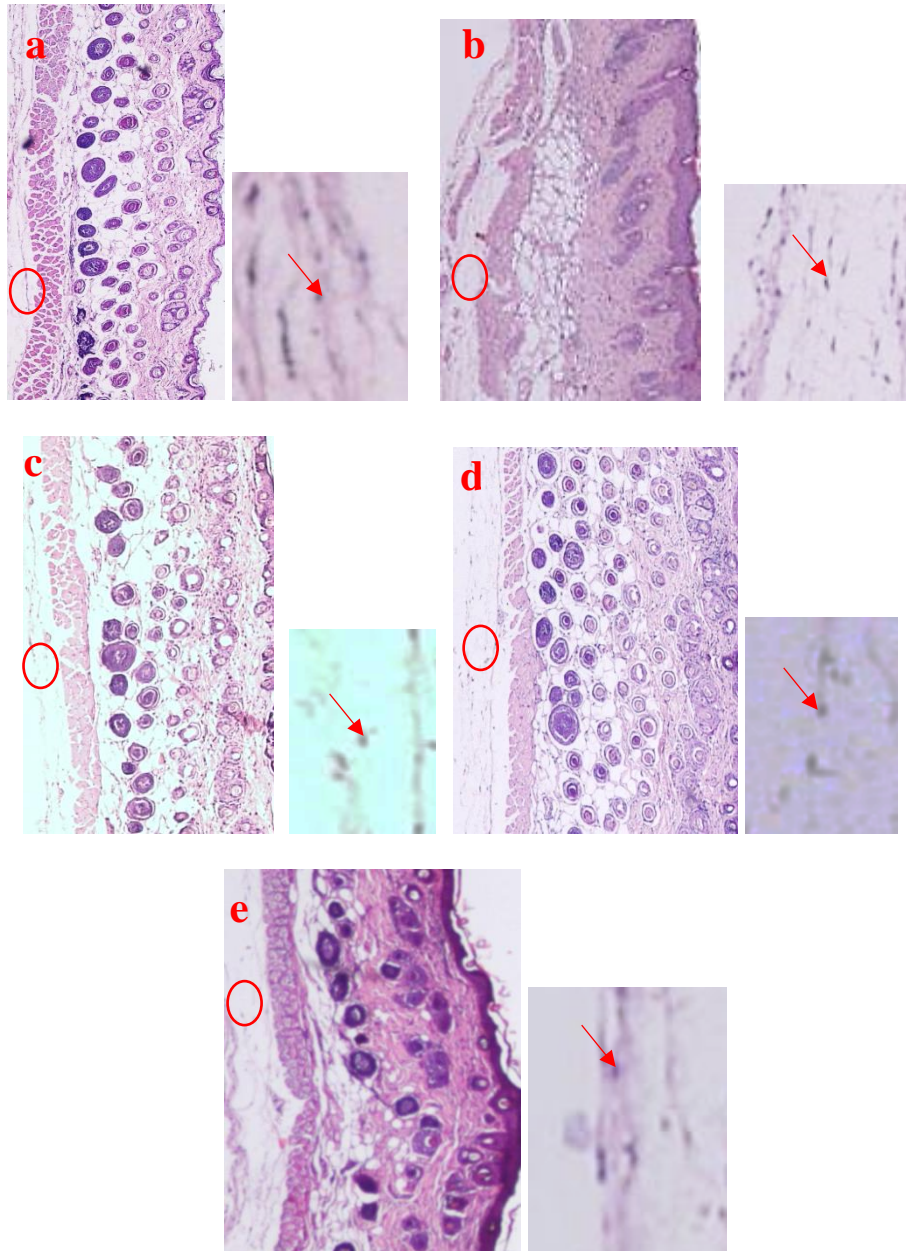
Pada studi ini dilakukan komparasi antar kelompok perlakuan untuk mengetahui efektifitas secara statistik. Kelompok perlakuan ekstrak menunjukkan aktivitas penurunan tebal epidermis yang sama ($p>0,05$) kecuali kelompok ekstrak daun bidara 2,5% dengan kelompok ekstrak kombinasi daun bidara dan tin 5% ($p<0,05$). Data tabel 10 menunjukkan lebar epidermis kelompok ekstrak kombinasi 5% sebesar 458,60 μm , lebih besar dari lebar epidermis kelompok ekstrak bidara 2,5% sebesar 429,15 μm . Untuk kelompok formulasi krim diketahui bahwa krim tin 5% merupakan krim dengan rata – rata ketebalan epidermis terkecil, yaitu $427,68 \pm 28,44 \mu\text{m}$. Secara statistik krim tin 5% memiliki perbedaan signifikan dibandingkan krim kombinasi 2,5% dan krim kombinasi 5%, sedangkan sisanya tidak ada perbedaan signifikan.

Aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun tin dan daun bidara didukung oleh penurunan jumlah sel radang dan penurunan ekspresi enzim siklooksiginase 2 (COX-2) secara deskriptif yang dilihat pada pengamatan dibawah mikroskop, data pengamatan ditampilkan pada gambar 18 dan 19 sebagai berikut :





Gambar 18. Gambaran mikroskopis ekspresi enzim COX-2 jaringan kulit dengan pengecatan imunohistokimia pembesaran 300x (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak, dan (e) kelompok formula krim



Gambar 19. Gambaran mikroskopis sel radang jaringan kulit dengan pengecatan hematoksinilin eosin (HE) pembesaran 120x (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak, dan (e) kelompok formula krim

Berdasarkan gambar 18 diketahui secara deskriptif bahwa ekspresi enzim COX-2 diidentifikasi dari bentuknya yang khas seperti gagang telepon atau menunjukkan warna cokelat pada inti atau sitoplasmanya (Sugihartini et al.,2017). Gambar 19 menggambarkan secara deskriptif bahwa sel radang ditandai dengan bercak berwarna kehitaman (Sugihartini et al.,2017). Pada pengamatan secara deskriptif diketahui kemunculan sel radang dan ekspresi COX-2 pada kontrol negatif lebih banyak daripada kelompok normal. Hasil ini mengindikasikan bahwa *croton oil* mampu menyebabkan inflamasi pada kulit (Lan et al.,2012). Sel radang dan ekspresi COX-2 antara kelompok perlakuan baik ekstrak maupun sediaan krim apabila dibandingkan dengan kontrol negatif dan kelompok normal terlihat memiliki perbedaan penampakan secara deskriptif, dimana hasil gambaran mikroskopis kelompok formula dibandingkan kontrol negatif menunjukkan jumlah sel radang dan COX-2 lebih sedikit, tetapi apabila dibandingkan dengan kontrol normal menunjukkan jumlah sel radang dan ekspresi COX-2 yang lebih banyak.

Pengamatan mikroskopis yang membandingkan secara deskriptif penampang kontrol positif dengan kelompok perlakuan dilakukan untuk menunjukkan jumlah sel radang dan ekspresi COX-2 yang muncul diantara kelompok tersebut, dimana hasil pengamatan menunjukkan jumlah sel radang dan COX-2 yang relatif sama jumlahnya.