

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Determinasi bertujuan untuk memastikan kesesuaian yang berkaitan dengan ciri morfologi secara mikroskopis terhadap kepustakaan, selain itu bertujuan mencegah kesalahan pengumpulan bahan utama sehingga menghindari kesalahan pada hasil penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang diperoleh sesuai dengan bahan utama yang digunakan pada penelitian ini yaitu tanaman tin dengan spesies (*Ficus carica linn.*) dan tanaman bidara dengan spesies (*Zizhipus mauritania linn.*). Kode determinasi tanamannya sebagai berikut :

1. *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

2. *Ziziphus Mauritania Lin*

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.

B. Persiapan Bahan dan Subjek Uji

Persiapan bahan penelitian untuk memperoleh serbuk simplisia daun tin (*Ficus carica linn*) dari distributor Rumah Terapi Zaitun. Satu kilogram

simplisia diblender dan diayak sampai memperoleh serbuk yang baik. Serbuk yang diperoleh sebanyak 572,32 gram. Simplisia daun bidara tidak diblender karena dari distributor sudah berbentuk serbuk seberat 994 gram. Proses persiapan ini bertujuan agar proses ekstraksi berjalan dengan optimal

Subjek uji mencit jantan galur Balb/C diadaptasikan selama 3 hari di kandang hewan uji Laboratorium Universitas Ahmad Dahlan, diberi pakan AD 1 dan air suling.

C. Ekstraksi Serbuk Simplisia

Maserasi adalah metode ekstraksi dalam penelitian ini. Metode ini didasarkan pada penarikan komponen zat aktif karena adanya dorongan dari pelarut yang sesuai. Maserasi digunakan karena prosedur dan instrumennya sederhana tetapi menghasilkan rendemen yang cukup banyak (Puspitasari and Prayogo, 2017) selain itu juga merupakan metode paling umum dan cukup aman untuk memperoleh senyawa (Mukhriani, 2014)

Penyari digunakan etanol 70 % dengan perbandingan 1 bagian serbuk dilarutkan dengan 10 bagian pelarut (Anonim, 2011). Proses ini menghasilkan ekstrak kental daun tin (*Ficus carica-l*) 53,53 gram dari 572,32 gram serbuk simplisia dan ekstrak kental daun bidara (*Zizhipus mauritania linn*) 138,62 gram dari serbuk 994,97 gram. Hasil ini menunjukkan metode maserasi cukup efisien karena rendemen yang diperoleh cukup baik, sebesar 9,35% untuk daun tin dan 13,93% untuk daun bidara.

D. Skrining Fitokimia

Uji fitokimia kandungan ekstrak etanol daun tin dan daun bidara secara kualitatif dengan metode KLT dan metode perubahan warna menggunakan reagen-reagen yang sesuai. Hasil skrining fitokimia disajikan dalam tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 4. Hasil skrining fitokimia menggunakan reagen dan KLT

No	Skrining Fitokimia	Ekstrak Kental		Keterangan
		Daun Tin	Daun Bidara	
1	Uji Pendahuluan	Positif	Positif	Larutan berwarna kuning kemerahan
2	Uji Alkaloid	Positif	Positif	Terbentuk endapan berwarna coklat
3	Uji Antrakinon	Negatif	Negatif	Tidak timbul warna merah pada larutan
4	Uji Tanin	Negatif	Positif	Terbentuk endapan sebagai indikator positif
5	Uji Polifenol	Positif	Positif	Terjadi perubahan warna hijau hitam pada larutan
6	Uji Saponin	Positif	Positif	Terbentuk buih
7	Uji Flavonoid	Positif	Positif	Terbentuk spot pada plat KLT dan nilai Rf yang sama dengan standar rutin

Tabel 4 adalah hasil skrining kandungan fitokimia ekstrak etanol daun tin dan bidara. Skrining ini terdiri dari uji pendahuluan untuk mengetahui senyawa berkromofor, uji flavonoid dengan KLT dan pembandingan standar rutin, uji alkaloid dengan pereaksi Mayer dan Dragendorff, uji antrakinon

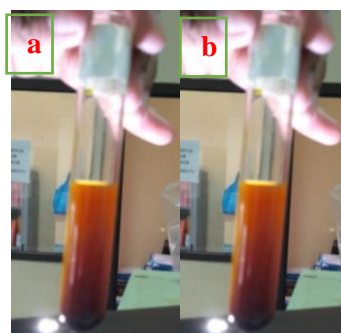
dengan pereaksi KOH, uji polifenol dengan pereaksi FeCl₃, uji tanin dengan penambahan gelatin, dan uji saponin dengan penggojogan.

1. Uji Pendahuluan

Pengujian ini bertujuan mengidentifikasi senyawa yang memiliki gugus kromofor. Indikator positif adalah perubahan warna sampel menjadi kuning sampai merah setelah dipanaskan dan disaring. Hasil menunjukkan ekstrak daun tin dan bidara memiliki senyawa berkromofor

2. Uji Alkaloid

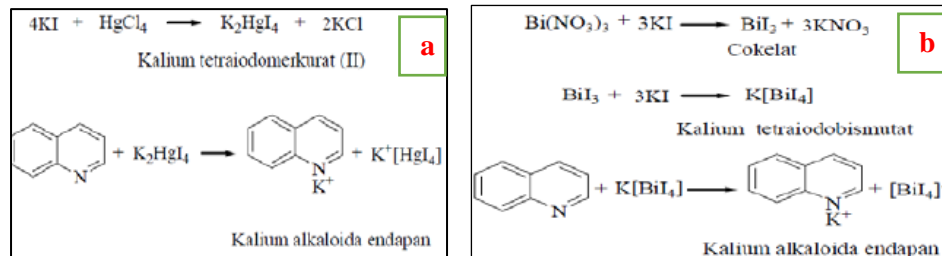
Pengujian ini adalah pereaksian sampel dengan reagen Dragendorff dan Mayer. Reagen Mayer bereaksi dengan alkaloid membentuk endapan kuning dan reagen Dragendorff membentuk endapan merah (Tiwari, *et al.*, 2011). Hasil pengujian menunjukkan terbentuknya endapan merah dengan reagen Dragendorff, sedangkan dengan reagen Mayer tidak terbentuk endapan kuning.



Gambar 8. Hasil uji alkaloid; a). Ekstrak tin, b). Ekstra bidara

Perubahan warna terjadi akibat alkaloid bereaksi dengan kalium bismut iodida dari reagen Dragendorff menghasilkan endapan merah.

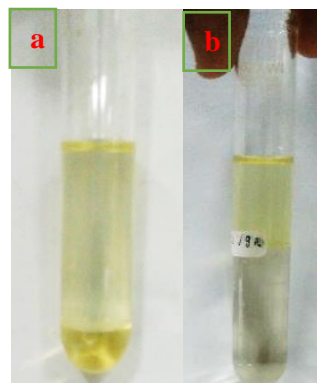
Alkaloid juga bereaksi dengan kalium merkuri iodida dalam reagen Mayer menghasilkan warna kuning (Setiabudi dan Tukiran, 2017).



Gambar 9. Persamaan reaksi alkaloid, (a) reaksi dengan reagen Mayer dan (b) reaksi dengan reagen Dragendorff

3. Uji Antrakuinon

Antrakuinon adalah glikosida yang terdapat dalam tanaman. Prinsip pengujian antrakuinon ini adalah pembentukan warna ungu sampai hijau dengan penambahan basa kuat. Hasil menunjukkan tidak terjadi perubahan warna untuk sampel daun tin dan bidara yang mengindikasikan kedua sampel tidak mengandung senyawa antrakuinon.

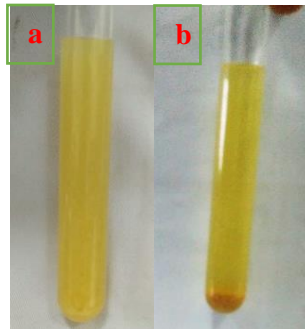


Gambar 10. Hasil uji antrakuinon; a). Ekstrak tin, b). Ekstra bidara

4. Uji Tanin

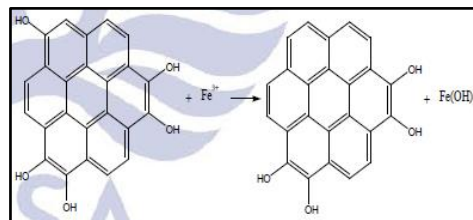
Terbentuknya endapan setelah sampel dipanaskan dan direaksikan dengan gelatin adalah indikator sampel mengandung tanin (Tiwari, *et al.*,

2011). Pengujian ini menghasilkan hasil positif ekstrak daun bidara mengandung tanin dan hasil negatif daun tin mengandung tanin.



Gambar 11. Hasil uji tanin; a). Ekstrak tin, b). Ekstra bidara

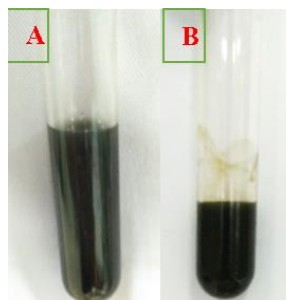
Endapan terbentuk karena reaksi senyawa tanin dengan gelatin yang membentuk co-polimer tidak larut air dengan persamaan reaksi berikut ini ;



Gambar 12. Persamaan reaksi tanin (Setiabudi dan Tukiran, 2017)

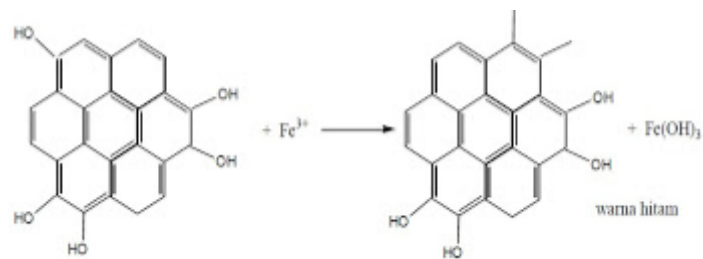
5. Uji Polifenol

Pengujian polifenol dengan reagen $FeCl_3$ menghasilkan warna biru kehitaman (Tiwari, et al., 2011). Hasil uji menunjukkan sampel daun tin dan daun bidara mengandung polifenol.



Gambar 13. Hasil uji polifenol; a). ekstrak tin dan b). ekstrak bidara

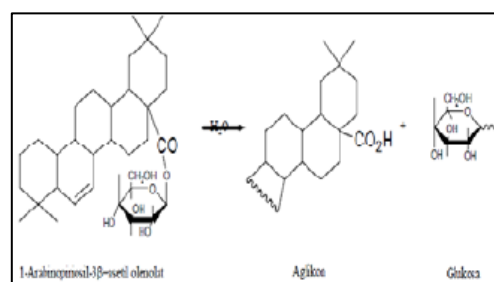
Warna biru kehitaman merupakan hasil reaksi pengomplekan ion Fe^{3+} dari reagen FeCl_3 dengan senyawa fenolik dari ekstrak (Setiabudi dan Tukiran, 2017)



Gambar 14. Reaksi senyawa polifenol dengan reagen FeCl_3

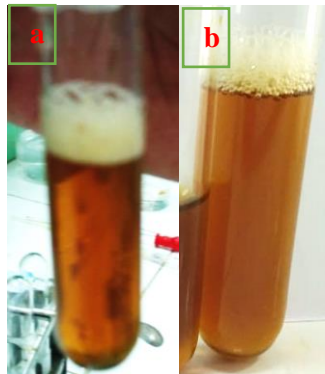
6. Uji Saponin

Uji saponin dilakukan dengan penggojokan untuk membentuk busa setinggi 1 cm sebagai indikator positif (Tiwari, *et al.*, 2011). Prinsip uji saponin adalah reaksi hidrolisis (Setiabudi dan Tukiran, 2017). Persamaan reaksi ditunjukkan pada gambar 15.



Gambar 15. Persamaan reaksi saponin

Hasil penggojokan sampel menunjukkan bahwa sampel daun tin dan daun bidara positif mengandung senyawa saponin.



Gambar 16. Hasil uji saponin; a). ekstrak tin, b). ekstrak bidara

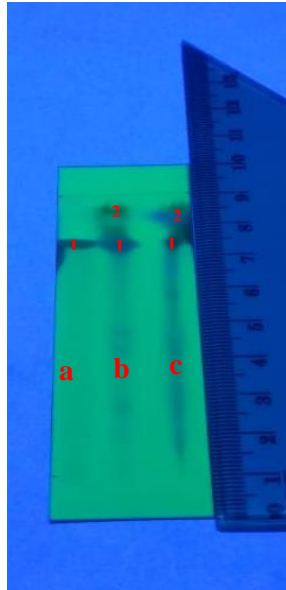
7. Uji Flavonoid

Flavonoid dideteksi dengan metode KLT berdasarkan nilai R_f yang sama dengan standar baku dan munculnya bercak kekuningan di bawah sinar UV. Hasil pengujian KLT diperoleh dua nilai R_f yang disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai R_f hasil KLT

Sampel	Niali R_f
Satandar rutin	0,8
Ekstrak daun tin	Spot 1). 0,8 Spot 2). 0,9375
Ekstrak daun bidara	Spot 1). 0,8 Spot 2). 0,9125

Berdasarkan tabel 5, terdapat tiga nilai R_f yang sama yaitu rutin (a) sebagai baku, ekstrak daun tin (b), dan ekstrak daun bidara (c) sebesar 0,8. Pengamatan dengan sinar UV juga menunjukkan bercak berwarna kuning. Nilai R_f sampel yang sama dengan R_f standar dan adanya bercak berwarna kuning, disimpulkan daun tin dan daun bidara mengandung senyawa rutin yang merupakan salah satu glikosida flavonoid.



Gambar 17. Kromatografi Identifikasi senyawa flavonoid ekstrak tin dan bidara. Fase diam yang digunakan silika gel 60 f 254 dan fase geraknya asam asetat : metanol : air (70 : 23,5 : 30) dan volume totalan 6 mikroliter dibawah sinar UV-254nm

E. Formulasi Sediaan Gel

Formulasi gel ekstrak etanol daun tin dan daun bidara diadopsi dari penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kurniawan, *et al.*, (2018). Formulasi emulgel yang dilakukan peneliti terdahulu menggunakan variasi konsentrasi *enhancer* kombinasi profilen glikol dengan asam oleat yang dapat menghantarkan zat aktif MABC secara optimum. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi *enhancer* profilen glikol 100% merupakan komposisi *enhancer* optimum yang menghantarkan zat aktif MABC . Tetapi, peneliti sekarang melakukan variasi pada zat aktif dan zat tambahan dengan menggunakan zat aktif ekstrak etanol daun tin dan daun bidara, dan memvariasikan zat tambahan dengan menghilangkan bahan *enhancer*, dan emulsifier karena peneliti memformulasikan sediaan hidrogel.

Sediaan gel ekstrak etanol daun tin dan daun bidara, diformulasikan dalam 6 formula dengan perbedaan jenis zat aktif dan konsentrasinya, yaitu gel daun bidara 2,5%, gel daun bidara 5%, gel daun tin 2,5%, gel daun tin 5%, gel kombinasi daun tin dan bidara 2,5%, dan gel kombinasi 5% seperti terlampir pada tabel 3.

Formulasi sediaan gel ini menggunakan basis *gelling agent* carbopol. Carbopol dipilih sebagai *gelling agent* karena menghasilkan sifat fisik gel yang baik dan tidak menimbulkan iritasi (Fujiastuti dan Sugihartini, 2015). Formulasi dimulai dengan pengembangan carbopol menggunakan akuades selama 24 jam. Pengembangan bertujuan untuk membuka ikatan carbopol yang kaku, dan menghasilkan dispersi koloid yang bersifat asam dengan viskositas yang rendah sehingga ketika pencampuran dengan zat aktif maupun bahan tambahan lainnya dapat bercampur dengan baik. Dalam formula ditambahkan bahan *triethanolamine* (TEA) yang bersifat basa untuk meningkatkan pH basis gel carbopol karena menurut Rowe *et al.*, (2006) penetralan pH carbopol akan meningkatkan viskositas gel sehingga memperoleh tekstur gel yang baik.

Pada formula gel ekstrak etanol daun tin dan bidara ditambahkan bahan tambahan sorbitol sebagai humektan untuk mencegah kehilangan zat pembawa dari sediaan sehingga mencegah terjadinya proses sineresis. Untuk mencegah tumbuhnya mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, dalam formula ditambahkan metil paraben yang dikombinasikan dengan profil paraben untuk meningkatkan efektivitasnya sebagai anti bakteri dan jamur.

F. Evaluasi Sifat Fisik Gel

Gel yang bermutu harus melalui beberapa tahap pengujian terlebih dahulu, seperti uji organoleptik, uji pH, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji viskositas. Hasil evaluasi sifat fisik sediaan gel ekstrak etanol daun tin dan daun bidara disajikan dalam tabel 6

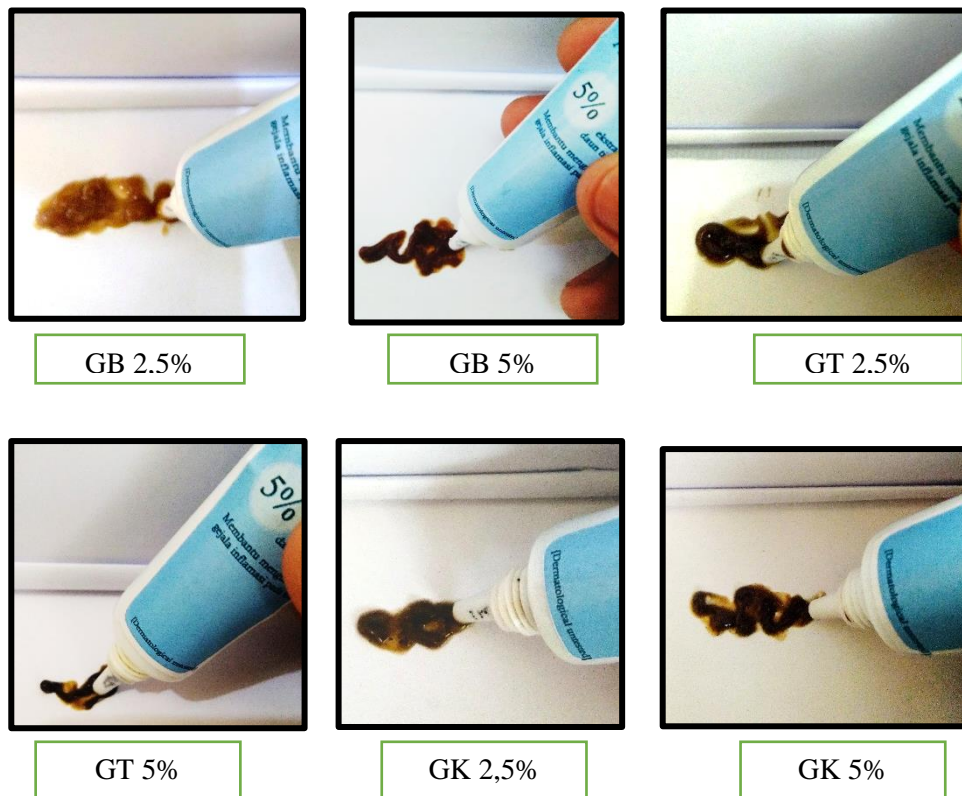
Tabel 6. Hasil evaluasi sifat fisik sediaan gel

Karakteristik	Formula					
	GB 2,5%	GB 5%	GT 2,5%	GT 5%	GK 2,5%	GK 5%
Warna	Kuning kunyit	Cokelat	Cokelat kehijauan	Kehitaman	Cokelat kehitaman	Cokelat tua
Bau	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas
Bentuk	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak
Pengukuran pH	6,03	6,03	6,12	6,04	6,09	5,73
Daya sebar (cm)	3,43	3,37	3,28	3,25	3,15	3,27
Daya lekat (detik)	2,02	4,94	2,46	3,74	2,15	2,58
Viskositas (Pa.s)	2,267	1,342	0,960	1,327	1,846	1,519

Keterangan : Data disajikan dengan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali

1. Uji Organoleptis

Uji organoleptis adalah uji yang menggunakan panca indera sebagai instrumennya. Uji organoleptis kali ini dilakukan untuk sediaan gel ekstrak etanol daun tin dan daun bidara.



Gambar 18. Foto uji organoleptis gel ekstrak daun tin dan daun bidara

Penjelasan dari gambar 18 disajikan dalam tabel 7 sebagai berikut :

Tabel 7. Hasil Uji organoleptis gel

Organoleptis	Formula					
	GB 2,5%	GB 5%	GT 2,5%	GT 5%	GK 2,5%	GK 5%
Warna	Kuning kunyit	Cokelat	Cokelat kehijauan	Kehitaman	Cokelat kehitaman	Cokelat tua
Bau	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas	Bau khas
Bentuk	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak	Kental lunak

Tabel 7 adalah hasil pengujian gel secara organoleptis, dimulai dari warna dimana setiap formula memiliki perbedaan warna yang dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi ekstrak. Semua formula mempunyai bau yang

khas dan bentuk yang sama yaitu kental lunak karena berkaitan dengan viskositas yang dimilikinya

2. Uji pH

Pengujian pH menggunakan pH Meter Toledo. PH yang hasil pengujian menunjukkan angka 5,73 sampai 6,12 (Tabel 3 lampiran 5). Hasil pH ini menunjukkan sediaan yang dibuat memenuhi syarat dan kriteria pH sediaan topikal antara 4,5-7 (Lukman, *et al.*, 2013). PH sediaan harus memenuhi persyaratan angka pH yang telah ditetapkan untuk menjamin keamanan dan mencegah iritasi.

PH sediaan gel harus sesuai dengan pH kulit untuk mencegah terjadinya iritasi. pH kulit berkisar antara 4,5-7, apabila pH sediaan tidak sesuai dengan pH kulit karena terlalu asam atau basa dapat menyebabkan efek iritasi pada kulit yang tidak diinginkan. PH sediaan dipengaruhi oleh konsentrasi carbopol dan konsentrasi TEA (Rowe, *et al.*,2006) karena mempengaruhi kadar asam-basa sediaan, selain itu pH sediaan tidak selalu dipengaruhi oleh konsentrasi zat aktif ekstrak etanol daun tin dan daun bidara

3. Uji Daya Sebar

Tabel 8. Hasil uji daya sebar gel

Replikasi	Daya Sebar (cm)					
	GB 2,5%	GB 5%	GT 2,5%	GT 5%	GK 2,5%	GK 5%
1	3,5	3,22	3,18	3,32	3,14	3,22
2	3,24	3,46	3,28	3,14	3,10	3,10
3	3,56	3,42	3,38	3,30	3,20	3,50
X	3,43	3,37	3,28	3,25	3,15	3,27
SD	±0,17	±0,13	±0,10	±0,09	±0,62	±0,21

Uji daya sebar bertujuan untuk mengetahui tingkat sebaran gel pada permukaan kulit saat diaplikasikan. Daya sebar berhubungan dengan absorpsi zat aktif yang terkandung dalam sediaan gel, di mana apabila gel memiliki sebaran yang baik maka absorpsinya juga baik, sehingga meningkatkan efektivitas zat aktif dari gel tersebut. Menurut Garg, *et al* (2002) sebaran gel yang baik antara 5 cm sampai 7 cm.

Berdasarkan data tabel 8 diketahui semua formula memiliki daya sebar yang berbeda-beda di mana penyebaran formula GB2,5% lebih besar dibandingkan penyebaran formula gel lainnya. Hasil penyebaran ini kemudian diuji statistika dengan uji anova ($p < 0,05$) dan didapatkan hasil semua formula tidak memiliki perbedaan penyebaran yang signifikan ($p = 2,35$). Daya sebar sediaan gel ekstrak daun tin dan bidara semua formula belum memenuhi kriteria dalam teori, hal ini dapat disebabkan oleh konsistensi dari basis yang digunakan (Naibaho, *et al.*, 2013) dan dapat juga disebabkan oleh basis carbopol yang berupa polimer akrilat yang mempunyai ikatan kuat sehingga lebih tinggi viskositasnya dan lebih kecil daya sebar (Fujiastuti dan Sugihartini, 2015).

4. Uji Daya Lekat

Tabel 9. Hasil uji daya lekat gel

Replikasi	Daya lekat (detik)					
	GB 2,5%	GB 5%	GT 2,5%	GT 5%	GK 2,5%	GK 5%
1	01,60	01,23	02,77	01,83	01,10	00,94
2	02,85	04,29	02,20	06,53	02,00	01,83
3	01,62	09,29	02,42	02,85	03,36	04,97
X	2,02	4,94	2,46	3,74	2,15	2,58
SD	±0,716	±4,069	±0,287	±2,472	±1,138	±2,117

Informasi daya lekat penting diketahui untuk menjelaskan bagaimana kemampuan gel untuk mampu melekat pada kulit sesaat setelah diaplikasikan dan memberikan efek terapi yang diinginkan. Menurut Ansel (1989) semakin lama gel melekat pada kulit, gel akan memberikan efek terapi yang lebih lama. Durasi melekatnya gel pada kulit yang terlalu lama perlu diperhatikan karena akan menyebabkan ketidaknyamanan dan akan meninggalkan bekas. Oleh karena itu diperlukan formulasi gel yang memenuhi persyaratan daya lekat yang baik, yaitu daya lekat tidak boleh kurang dari 1 detik (Lieberman, *et al.*, 1998).

Data tabel 9 menunjukkan bahwa sediaan gel telah memenuhi persyaratan uji daya lekat dengan nilai lebih dari 1 detik. Carbopol dengan pH sediaan yang netral dan sorbitol sebagai humektan menyebabkan sediaan menjadi kental dan lengket. Hasil dari uji daya lekat diuji statistik dengan anova ($p < 0,05$), tetapi karena data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) dan hasilnya menunjukkan daya lekat semua formula tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p = 0,784$)

5. Uji Viskositas

Daya sebar dan pelepasan zat aktif dari sediaan gel dipengaruhi oleh viskositas sediaan. Uji viskositas bertujuan untuk mengetahui kekentalan sediaan yang diformulasikan. Uji viskositas ini menggunakan instrumen viskometer Rheosys Merlin VR II yang terhubung dengan perangkat lunak Rheosys Micra. Dalam pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk

setiap formula dan diambil rata-rata angka kekentalannya pada rpm yang ditentukan. Angka kekentalan sediaan pada rpm 24,1 disajikan dalam tabel 10 sebagai berikut :

Tabel 10. Hasil uji viskositas Rheosys Merlin VR II rpm 24,1

Replikasi	Viskositas (Pa.s)					
	GB 2,5%	GB 5%	GT 2,5%	GT 5%	GK 2,5%	GK 5%
1	2,753	1,322	1,113	1,153	1,627	1,394
2	1,813	1,550	0,522	1,412	1,695	1,462
3	2,237	1,153	1,246	1,415	2,217	1,700
X	2,267	1,342	0,960	1,327	1,846	1,519
SD	±0,4707	±0,1992	±0,3854	±0,1504	±0,3228	±0,1607

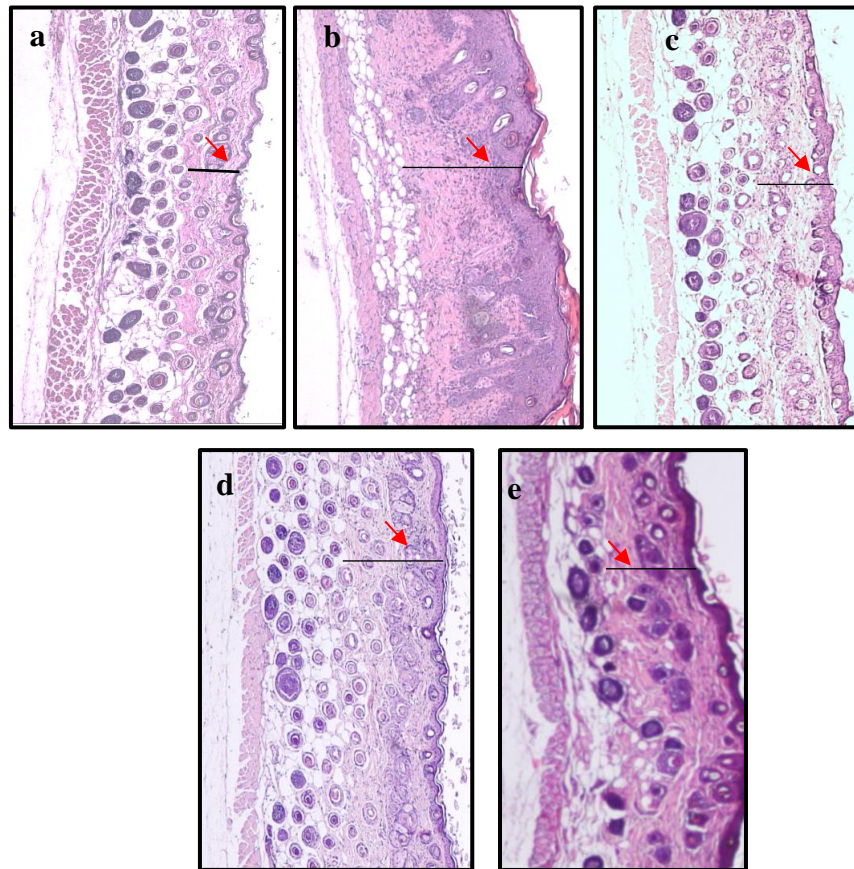
Berdasarkan pengujian viskositas yang dilakukan, diketahui tipe aliran gel ekstrak etanol daun tin dan bidara ini adalah non-Newtonian (pseudoplastik) yang diidentifikasi dengan adanya penurunan nilai viskositas dengan adanya kenaikan nilai *share rate*. Menurut Rao (1999) sifat aliran pseudoplastik juga dapat dicirikan dengan rheogram yang tidak proporsional dan berbentuk *convex*.

Konsentrasi carbopol sebagai *gelling agent* dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi viskositas sediaan (Rowe,2006). Menurut Astuti, *et., al* (2017) peningkatan jumlah carbopol berbanding lurus dengan kenaikan viskositas sediaan karena peningkatan jumlah *gelling agent* memperkuat ikatan matriks penyusun gel.

G. Uji Aktivitas Anti-inflamasi Gel

Pengujian aktivitas anti-inflamasi sediaan gel ekstrak etanol daun tin (*Ficus carica Lin*) dan daun bidara (*Ziziphus mauritania linn*) menggunakan 15 kelompok perlakuan dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit jantan galur Balb/C. Parameter uji aktivitas anti-inflamasi dinilai dari penurunan ketebalan jaringan epidermis jaringan kulit mencit, penurunan jumlah sel radang dan penurunan jumlah ekspresi enzim siklooksiginase 2 (COX-2).

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 dibawah mikroskop yang dihubungkan dengan *software Toupview*® dengan pembesaran 120 kali. Hasil pengukuran ketebalan epidermis ini disajikan pada gambar 18 sebagai berikut :



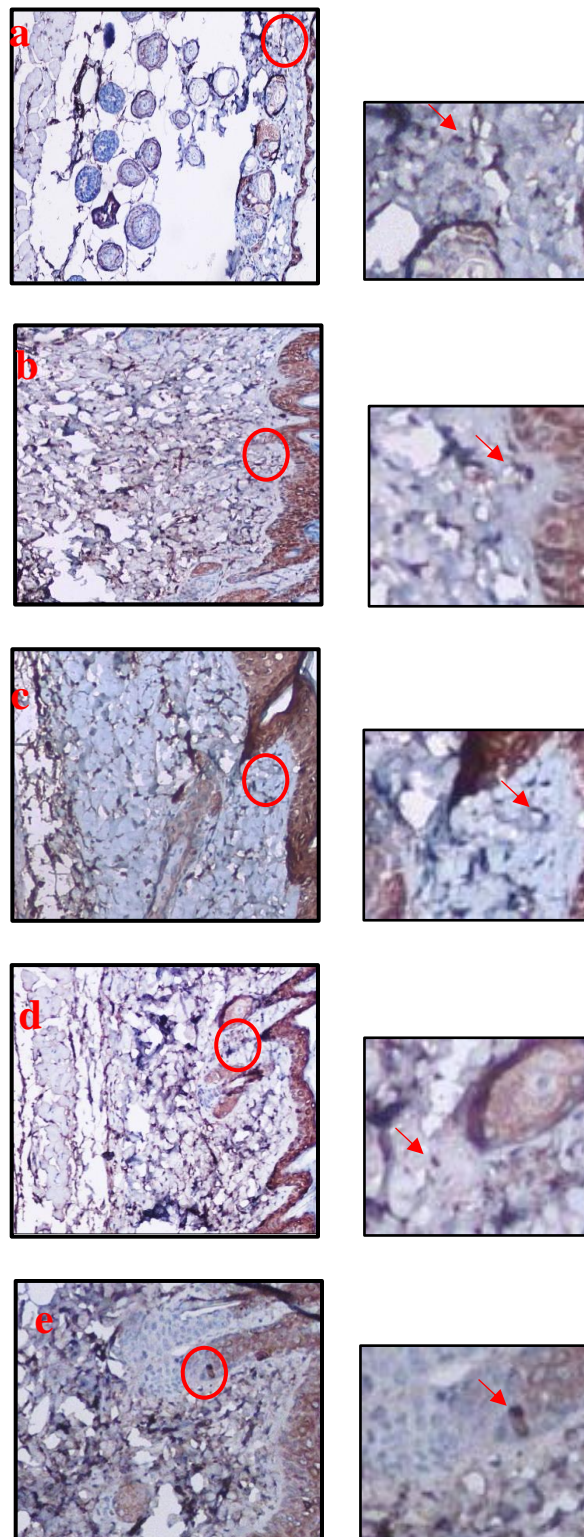
Gambar 19. Gambaran mikroskopis rerata lebar epidermis jaringan kulit dengan pengecatan hematoxilin eosin (HE) pembesaran 120x (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak, dan (e) kelompok formula gel

Hasil pengecatan HE (Gambar 19) menunjukkan ketebalan epidermis terkecil adalah kelompok normal dan ketebalan terbesar adalah kontrol negatif. Analisis statistika Kruskal Wallis dengan *post hoc* Mann Whitney dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok.

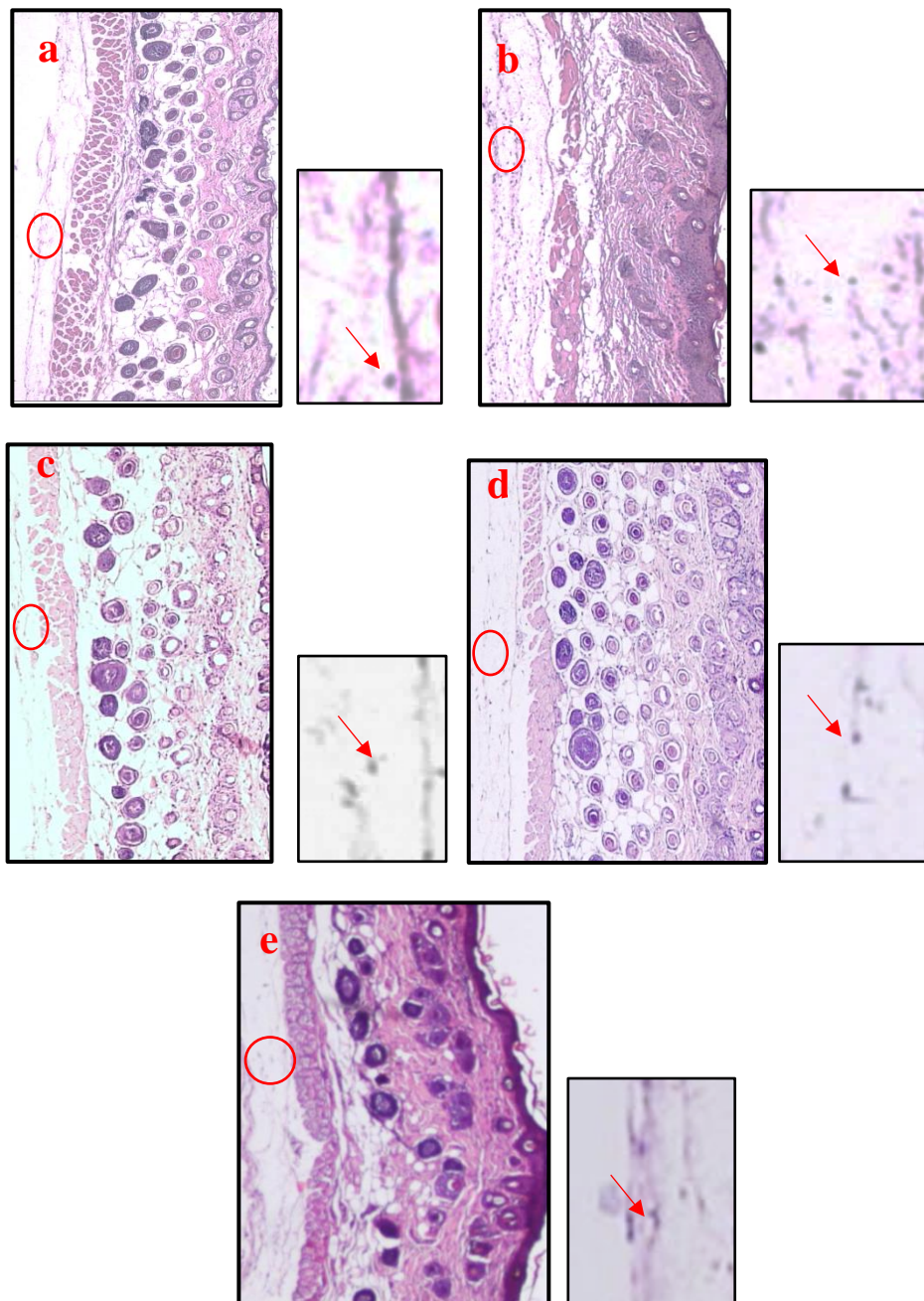
Hasil analisis menunjukkan *croton oil* dapat digunakan untuk mengevaluasi aktivitas anti-inflamasi formula gel yang diujikan, karena bersifat mengiritasi dan menyebabkan inflamasi (Lan *et al.*, 2012). *Croton oil* mengaktivasi fosfolipase A2 yang menghasilkan asam arakidonat. Asam arakidonat adalah metabolit yang menghasilkan mediator inflamasi seperti

prostaglandin dan leukotrin apabila dimetabolisme oleh tubuh (Shah *et al.*, 2011).

Aktivitas anti-inflamasi ekstrak etanol daun tin dan daun bidara didukung oleh penurunan jumlah sel radang dan penurunan ekspresi enzim siklooksiginase 2 (COX-2) secara deskriptif dilihat pada pengamatan dibawah mikroskop. Data pengamatan di sajikan pada gambar 20 dan 21 sebagai berikut :



Gambar 20. Gambaran mikroskopis ekspresi enzim COX-2 jaringan kulit dengan pengecatan imunohistokimia pembesaran 300x beserta *zoom outnya* (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak dan (e) kelompok formula gel



Gambar 21. Gambaran mikroskopis sel radang jaringan kulit dengan pengecatan hematoxilin eosin (HE) pembesaran 120x beserta *zoom outnya* (a) normal, (b) kontrol negatif, (c) kontrol positif, (d) kelompok ekstrak, dan (e) kelompok formula gel

Berdasarkan gambar 20 diketahui secara deskriptif bahwa ekspresi enzim COX-2 diidentifikasi dari bentuknya yang khas seperti gagang

telepon atau warna cokelat pada inti atau sitoplasmanya dan gambar 21 menunjukkan sel radang ditandai dengan bercak berwarna kehitaman (Sugihartini *et al.*, 2017). Hasil pengamatan diketahui kemunculan sel radang dan ekspresi COX-2 pada kontrol negatif lebih banyak daripada kelompok normal. Hasil ini mengindikasikan bahwa *crotton oil* mampu menyebabkan inflamasi pada kulit (Lan, *et al.*, 2012). Jumlah sel radang dan ekspresi COX-2 kelompok perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kelompok normal terlihat memiliki perbedaan penampakan secara deskriptif, 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 juga membandingkan kontrol positif dengan kelompok perlakuan. Dari hasil pengamatan menunjukkan jumlah sel radang dan COX-2 yang relatif sama jumlahnya antar kedua kelompok tersebut.

Hasil analisis statistika dan pengamatan secara deskriptif menunjukkan semua perlakuan ekstrak mentah dan formula memberikan efek anti-inflamasi yang potensial pada kulit mencit yang diinduksi inflamasi dengan *crotton oil* dengan signifikansi $p < 0,05$. Efek anti-inflamasi kelompok perlakuan juga menunjukkan efek yang mirip dengan voltaren[®] obat yang ada dipasaran, meskipun penurunan tebal epidermisnya belum sampai kondisi normal. Gel kombinasi 5% menunjukkan efek anti-inflamasi paling baik pada kelompok sediaan gel dan ekstrak daun tin 2,5%

memberikan efek anti-inflamasi terbaik pada kelompok ekstrak. Kelompok gel kombinasi 5% dan ekstrak daun tin 2,5% diuji statistika dan diperoleh hasil $p=0,419$, sehingga kedua kelompok ini mempunyai aktivitas anti-inflamasi yang sama.