

## FORMULASI GEL EKSTRAK IKAN GABUS DAN ASTAXANTIN SERTA UJI EFEKTIVITASNYA TERHADAP LUKA BAKAR PADA TIKUS

Basuki Rahmat<sup>1</sup>, Ratna Djamil<sup>2</sup>, Esti Mumpuni<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Universitas Pancasila

Email: [5419221056@univpancasila.ac.id](mailto:5419221056@univpancasila.ac.id)

### ABSTRAK

Luka bakar menyebabkan kerusakan jaringan ditandai penurunan aktivitas *scavenging* dan antioksidan. Ekstrak Ikan gabus kaya akan protein hewani sumber albumin, yang berkhasiat dalam mempercepat proses penyembuhan luka. *Haematococcus pluvialis* merupakan mikroalga yang mengandung senyawa astaxantin dengan aktivitas antioksidan lebih poten dibanding beta karoten dan vitamin E. Penelitian terhadap penggunaan kedua bahan tersebut dalam sediaan gel bertujuan untuk mengetahui efektivitas gel kombinasi astaxantin dan ekstrak ikan gabus untuk luka bakar disertai evaluasi sediaan gel. Uji efektivitas diawali pengkondisian luka bakar terbuka pada tikus, kemudian luka diolesi gel F0 (basis), gel F1 (kontrol positif), gel F2 (gel ekstrak ikan gabus 10 g dan astaxantin 0,063 g) dan gel uji F3 (ekstrak ikan gabus 15 g dan astaxantin 0,063 g). Terhadap gel uji dilakukan standarisasi ekstrak dan evaluasi gel. Uji efektivitas terhadap luka bakar dilakukan dengan metode pengamatan pengukuran luka bakar pada tikus yang dibuat lingkaran dan dihitung persentase efektifitas terhadap luka bakar. Hasil pengukuran diameter luka bakar setelah perlakuan didapat, rata rata diameter luka pada F0 8,87 mm, F1 6,79 mm, F2 2,50 mm dan F3 1,91 mm. sedangkan data rata rata persentase penyembuhan F0 62,93 %, F1 45,08%, F2 87,49 %, dan F3 89,92%. Data dianalisis menggunakan *SPSS versi 16*. Hasil analisa menunjukkan bahwa gel basis, kontrol positif dan gel uji tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kemampuan penyembuhan.

**Kata Kunci:** Ekstrak Ikan Gabus, Astaxantin, Gel, Luka Bakar

### ABSTRACT

Burns cause tissue damage marked by a decrease in scavenging and antioxidant activity. Snakehead fish extract is rich in animal protein, a source of albumin, which is efficacious in speeding up the wound healing process. *Haematococcus pluvialis* is a microalgae that contains astaxanthin compounds with more potent antioxidant activity than beta carotene and vitamin E. Research on the use of these two ingredients in gel preparations aims to determine the effectiveness of a combination gel of astaxanthin and snakehead fish extract for burns along with an evaluation of the gel preparation. The effectiveness test begins with conditioning open burn wounds on mice, then the wounds are smeared with F0 gel (base), F1 gel (positive control), F2 gel (10 g snakehead

*fish extract gel and 0.063 g astaxanthin) and F3 test gel (15 g snakehead fish extract and astaxanthin 0.063 g). On the test gel, standardization of the extract and evaluation of the gel were carried out. The effectiveness test for burn wounds was carried out by observing the measurement of burn wounds on mice in circles and calculating the percentage of effectiveness against burn wounds. The results of measuring the diameter of burn wounds after treatment were obtained, the average wound diameter at F0 was 8.87 mm, F1 6.79 mm, F2 2.50 mm and F3 1.91 mm. while the average healing percentage data for F0 was 62.93%, F1 45.08%, F2 87.49%, and F3 89.92%. The data were analyzed using SPSS version 16. The results of the analysis showed that the base gel, positive control and test gel did not have a significant difference in healing ability.*

**Keywords:** Snakehead Fish Extract, Astaxanthin, Gel, Burns.

## **PENDAHULUAN**

Luka bakar adalah luka yang disebabkan adanya kontak atau sentuhan dengan suatu benda penghasil panas seperti panas nyala api (*flame*), jilatan api (*flash*), tersiram air panas (*scald*), aliran listrik, atau kontak dengan bahan kimia, serta panas matahari yang dapat menyebabkan terjadi kerusakan pada jaringan (Syamsuhidajat, 2005)

Pada kondisi kulit luka bakar, akan terjadi Penurunan pH dan tekanan oksigen yang akan menginduksi terjadinya proses angiogenesis dengan mediator penginduksi angiogenesis diantaranya ; *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *nitrit oksida* (NO), namun adanya *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan dari proses *stres oksidatif* akibat panas pada luka bakar dapat merusak mediator penginduksi angiogenesis sehingga proses angiogenesis akan menurun pada luka bakar.(Diegelmann & Evans, 2004).

Proses penyembuhan luka bakar diawali dari penurunan konsentrasi radikal bebas menjadi rendah yang diiringi proses *angiogenesis* atau proses pembentukan jaringan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang sudah ada didalam tubuh dan yang dibutuhkan untuk pemulihan akibat luka bakar pada fase pertama yaitu *inflamasi*, *proliferasi*, *remodeling* dan pematangan jaringan *granulasi* serta untuk kelangsungan hidup *keratinosi*. Bebeapa faktor yang mengatur *angiogenesis* luka, yaitu *hipoksia*, peradangan dan faktor pertumbuhan. Pada penyembuhan luka bakar membutuhkan waktu yang lama, bahkan luka bakar yang menimbulkan cedera proses penyembuhan akan membutuhkan waktu berbulan-bulan sampai terjadi proses *remodeling*.(Gibran et al., 2013).

Penurunan aktivitas antioksidan dan proses *angiogenesis* akibat dari peningkatan ROS sebagai hasil dari stres oksidatif dapat dijadikan target terapi pada luka bakar melalui pemberian antioksidan dan nutrisi bagi jaringan dalam pembentukan pembuluh darah baru. Berdasarkan hal tersebut dibuat strategi pemulihan luka untuk menghasilkan faktor pertumbuhan ke dasar luka dan memilih *intervensi* yang tepat untuk meningkatkan granulasi dan pemulihan luka.(Dulak et al., 2000).

*Haematococcus pluvialis* merupakan salah satu microalgae yang menjadi sumber astaxantin alami tertinggi yang memiliki aktivitas antioksidan tinggi, sehingga dikenal sebagai “*antioksidan super*” disamping itu *H. pluvialis* memiliki kemampuan mengumpulkan astaxantin hingga sebanyak 4% dari berat kering, di antara semua organisme yang menghasilkan astaxantin tertinggi terdapat pada *haematococcus pluvialis*. Hasil penelitian yang sudah dilakukan, Astaxantin memiliki Nilai IC50 terhadap aktivitas antioksidan dan antikanker masing-masing adalah  $39,1 \pm 1,14 \mu\text{g/ml}$  dan  $63 \pm 0,22 \mu\text{g/ml}$ .(Santhose et al., 2016). Dengan kemampuan antioksidan yang tinggi diharapkan astaxantin dapat berperan dalam mempercepat proses penyembuhan luka bakar.

Salah satu bahan alam lainnya yang memiliki kemampuan membantu proses penyembuhan luka yaitu ekstrak ikan gabus, yang kaya akan albumin, dimana albumin merupakan sumber antioksidan hewani yang berfungsi sebagai pengikat radikal sehingga berperan dalam proses pembersihan dan penangkapan ROS. *Glutamin* dalam ikan gabus bermanfaat sebagai sumber energi untuk sel yang mengalami replikasi cepat seperti eritrosit dan limfosit serta memperbaiki fungsi *gastrointestinal associated lymphoid tissue (GALT)* melalui penghambatan beberapa jalur peradangan seperti *NF-kB*, *kinase protein*, dan penghambatan ekspresi peningkatan iNOS.(Witte et al., 2002). Hasil studi yang dilakukan di *University Sains Malaysia*, menunjukkan bahwa ekstrak ikan gabus atau *Channa striatus* yang dibuat dalam sediaan salep baik fase minyak dan fase air memiliki kemampuan penyembuhan luka yang tiap hari menunjukkan peningkatan selama 16 hari perlakuan dan pengamatan.(Andrie, n.d.2017)

Pengembangan dan formulasi gel kombinasi bahan aktif astaxantin dan ekstrak ikan gabus sampai saat ini belum pernah dikembangkan, namun potensi kedua bahan tersebut terhadap penyembuhan luka sudah banyak dilakukan penelitiannya. Dalam mengoptimalkan khasiat yang efektif perlu dilakukan standarisasi dari bahan bahan tersebut seperti uji parameter spesifik

(uji organoleptic, Analisa kualitatif) dan parameter non spesifik seperti uji penentuan cemaran logam, cemaran mikroba dan kapang khamir.

## **METODE PENELITIAN**

### **1. Prinsip penelitian**

Penelitian ini bersifat *eksperimental* yaitu menguji sediaan gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin dengan komposisi perbandingan yang berbeda, terhadap efektifitas penyembuhan luka bakar, dengan menggunakan kontrol pembanding secara randomized control trials yaitu basis gel dan kontrol positif gel untuk luka

### **2. Lokasi Penelitian**

Laboratorium penelitian dosen, laboratorium skripsi dan laboratorium formulasi semi padat dan cair fakultas farmasi universitas Pancasila, Jakarta selatan dan laboratorium Riset dan development PT Sari Alam, Sukabumi serta laboratorium IPB, Bogor

### **3. Bahan**

Bahan utama yang digunakan ikan gabus yang diperoleh dari Kawasan Pandeglang, Banten sedangkan astaxantin diperoleh dari PT Evergreen, Indonesia.

### **4. Prosedur penelitian**

- a. Pengumpulan dan penyediaan bahan penelitian Bahan baku yang digunakan yaitu ikan gabus yang diperoleh dari pandeglang Banten sedangkan untuk astaxantin didapatkan dari salah satu perusahaan industri ekstrak bahan alam PT Evergreen

- b. Determinasi Sampel

Determinasi hanya dilakukan pada ikan gabus dilakukan di BRIN (Badan Riset dan Inovasi Nasional) sedangkan haemotococcus pluvialis berdasarkan CoA (*Certificate of Analysis*)

- c. Preparasi sampel

Pilih ikan gabus yang berukuran sedang antara 18-30 cm usia muda karena daging masih muda dan tidak keras albumin di daging belum jenuh. Potong ikan gabus dengan cara mematahkan terlebih dahulu tulang antara kepala dan badan, bersihkan sisik dan lendir,

potong dan belah ikan gabus buang organ dalam dan kotorannya, potong semua sirip dan ekor ikan gabus dan potong kepalanya, bersihkan ikan gabus dari darah dan kotoran hingga bersih.

d. Pembuatan Ekstrak Ikan Gabus

Filet ikan gabus disayat-sayat agar cairan protein saat di kukus mudah untuk keluar, kemudian masukan ikan gabus ke dalam baskom steenlies, masukan baskom ke dalam dandang selama 20 menit suhu 65-70 derajat celcius, keluarkan baskom saat masih panas, pindahkan ikan gabus ke tempat lain, pindahkan cairan yang tersari ke tempat lain dan masukan dalam botol saat masih panas biarkan memisah kemudian ambil bagian atas (lapisan minyak).

e. Pengujian Mutu ekstrak

Parameter spesifik

1) Organoleptik

Pengujian menggunakan Indera penglihatan dan perasa yang menggambarkan bentuk warna, bau, dan rasa pengenalan ini sangat sederhana dan dilakukan secara objektif.

2) Protein terlarut

Pengukuran protein terlarut menggunakan metode Kjeldahl untuk penetapan nitrogen total pada protein dan senyawa yang mengandung nitrogen.

3) Astaxantin

Analisa kualitatif dapat dilihat *certificate of analysis* (COA) yang berasal dari PT Evergreen dengan kandungan astaxantin 2 % dari berat kering

Parameter Non spesifik

1) Uji cemaran logam

Cemaran logam terhadap kadar timbal (Pb), Kadmium (Cd), dan tembaga (Cu) ditentukan dengan metode *application of inductively coupled plasma/mass spectrometry*.

2) Uji cemaran mikroba

a) Pengujian cemaran angka lempeng total/ALT

Pengujian cemaran dilakukan dengan tahapan sebagai berikut. Tahap pertama pembuatan media PCA (*Plate Count Agar*). Tahap kedua pembuatan pengencer BPW (*Buffered Peptone Water*), tahap ketiga Pengenceran sampel untuk uji ALT dengan pengenceran  $10^{-1}$ , Tahap keempat Pengujian ALT, tahap kelima Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

b) Pengujian angka kapang khamir/AKK

Pengujian cemaran kapang khamir dilakukan dengan tahap sebagai berikut. Tahap pertama Pembuatan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) tahap kedua Pembuatan pengencer *Buffered Peptone Water* (BPW) tahap ketiga Pengenceran sampel untuk uji AKK tahap keempat Pengujian Angka Kapang Khamir tahap kelima menghitung Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

f. Formulasi gel

1) Pembuatan formula

Bahan aktif Gel ekstrak ikan gabus 10 g dan astaxantin 0,063 g. selanjutnya disebut formula 2 gel sedangkan ekstrak ikan gabus 15 g dan astaxantin 0,063 g disebut formula 3. Semua formula dibuat dalam satuan gram/100 ml

Perhitungan komposisi bahan aktif

- Astaxantin memiliki IC 50 sebagai antioksidan 63 ppm.(Santhose et al., 2016)  
 $63 \text{ ppm} = 63 \text{ mg/L} = 63 \text{ mg}/1000\text{ml} = 0,0063 \text{ gram}/100\text{ml}$  atau 0,0063 (b/v)  
Berat yang dipakai 10 kali lipat sehingga jumlahnya 0,063 gram/100 ml
- Ekstrak ikan gabus memiliki IC 50 10% sehingga berat ekstrak ikan gabus yang dipakai yaitu 10 g dan 15 g

**Tabel 1.** Formula gel

| Formula      | F0        | F1          | F2 | F3 |
|--------------|-----------|-------------|----|----|
| Basis        | Basis gel |             |    |    |
| Bioplacenton |           | Kontrol (+) |    |    |
| Ekstrak ikan |           |             | 10 | 15 |

---

|                  |                 |             |
|------------------|-----------------|-------------|
|                  | gabus           |             |
|                  | Astaxanhin      | 0,063 0,063 |
|                  | Carbopol 940    | 2 2         |
|                  | Trietanolamn    | 2 2         |
|                  | Propilen glikol | 10 10       |
|                  | Metilparaben    | 0,2 0,2     |
|                  | Propilparaben   | 0,02 0,02   |
| g. Pembuatan Gel | Aquadest ad     | 100 100     |

---

Menyiapkan bahan dan alat yang akan digunakan selanjutnya pembuatan gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin, diawali dengan melarutkan carbopol 940 dengan aquadest 30 ml yang dipanaskan dengan suhu 70° C selama 30 menit sampai mengembang dan diaduk sampai homogen. tambahkan trietanolamin sampai homogen dan terbentuk massa gel. Kemudian ditambahkan ekstrak ikan gabus dan astaxantin dan propil paraben yang telah dilarutkan dengan propilen glikol aduk sampai homogen dan ditambahkan metil paraben yang dilarutkan dalam sisa aquadest, aduk sampai homogen.

h. Evaluasi gel

1) Uji *Organoleptik*

Uji *organoleptik* dilakukan untuk melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat.

2) Uji *Homogenitas*

Uji homogenitas dilakukan untuk melihat apakah sediaan yang telah dibuat sebelumnya *homogen* atau tidak. Sediaan gel selanjutnya dioleskan pada sekeping kaca kemudian diamati.

3) Uji pH

Pengujian dilakukan untuk melihat kesesuaian pH gel dengan pH fisiologis kulit yaitu 4,5-6,5.

4) Uji Viskositas

Pengukuran dilakukan menggunakan alat viskometer digital (Lamy Rheology). Sebanyak 100 ml sediaan gel dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian dipasang spindle 4. Spindle harus terendam dalam sediaan uji. Viskometer dinyalakan dan

dipastikan rotor dapat berputar pada kecepatan 60 rpm. Kemudian diamati nilai viskositasnya.

5) Daya Sebar

Gel sebanyak 0,5 g diletakkan di atas kaca bulat dengan lebar 15cm. Kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sebar gel diukur. Setelahnya, ditambahkan 100 g beban tambahan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan. Pada saat itu catat diameter penyebarannya. Daya sebar gel yang baik antara 5-7 cm.

i. Uji efektifitas

1. Kode etik hewan uji

Permohonan kode etik hewan uji dilakukan di Komite Etik Penelitian Kesehatan RSUP Nasional DR. Cipto Mangunkusuma Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

2. Pengelompokkan Hewan Uji

Pengelompokan tikus didasarkan pada *rumus federer* sebagai berikut:

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan :

n : Jumlah sampel tiap kelompok

t : Jumlah kelompok

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (4-1) \geq 15$$

$$(n-1) \times (3) \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$n \geq (15+3) / 3$$

$$n = 6 \text{ tikus}$$

Berdasarkan hasil perhitungan jumlah sampel yang diperlukan untuk tiap kelompok sebanyak 6 tikus putih galur SD. Per kelompok.

Sejumlah 4 kelompok hewan uji tiap kelompok dengan perlakuan yaitu

a. Kelompok F0: Kontrol basis



- b. Kelompok F1: Kontrol positif bioplasenton
- c. Kelompok F2 : Gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin (10 : 0,63)
- d. Kelompok F3 : Gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin (15: 0,63)

### 3. Aklimatisasi Hewan Uji

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih galur *SD* yang berumur 2-3 bulan sebanyak 24 tikus dengan berat badan antara 180-300 gram. Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 2 minggu.

### 4. Pengkondisian Luka bakar pada tikus

Tahap awal menentukan lokasi luka bakar yaitu dibagian punggung tikus, karena punggung tikus memiliki ukuran kulit yang luas dan tidak mudah untuk di jilat jadi pada saat penanganan tidak terganggu. Rambut tikus dicukur menggunakan krim pencukur rambut (*veet*) sekitar 30 mm. Selanjutnya kulit didesinfeksi dengan alkohol 70% agar punggung tikus dalam keadaan bersih. Selanjutnya dilakukan anestesi lokal dengan krim lidocain yang dioleskan ke kulit dan ditunggu selama 2 menit. Setelah itu dilakukan pembuatan luka bakar pada punggung tikus dengan menggunakan lempeng besi berdiameter 20 mm pada api bunsen selama 30 detik yang kemudian ditempelkan pada punggung tikus selama 5 detik sampai terbentuk luka bakar derajat II dangkal yang ditandai dengan adanya warna kemerahan dan tidak terbentuk bula (gelembung air) pada kulit tikus.

### 5. Uji luka bakar

Tikus yang sudah dilukai pada bagian punggungnya masing- masing diberi perlakuan berdasarkan kelompok yang telah ditentukan. Perlakuan dilakukan mulai saat pertama kali dibuat luka dan dihitung hari ke 1 selanjutnya sampai hari ke 14 diberikan sebanyak 2 kali olesan sehari. Luka dirawat hingga sembuh, ditandai dengan mengecil diameternya dan hilangnya keropeng.

### 6. Pengukuran luka

Diameter luka bakar diukur pada hari ke 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 dan 14 dari berbagai

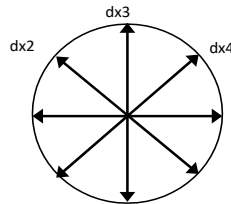
arah dengan metode morton (gambar 2.) Dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$dx = \frac{dx1+dx2+dx3+dx4}{4}$$

Keterangan

dx (1234) : panjang luka diukur dalam berbagai arah (mm)

dx : Rata-rata diameter luka



**Gambar 1.** diameter luka

#### 7. Presentase Penyembuhan

*Presentase* penyembuhan luka bakar ditentukan pada pengamatan hari ke-0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, dan 14. Perhitungan presentase penyembuhan luka bakar dilakukan dengan rumus sebagai berikut

$$P\% = \frac{do - dx}{do} \times 100$$

Keterangan :

P% : Presentase penyembuhan luka bakar

do : Rata-rata diameter luka awal

dx : Rata-rata diameter luka pada hari pengamatan

#### j. Analisis Data

Analisa data *persentase* penyembuhan luka bakar diuji secara *statistik* dengan program *SPSS* (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 16

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil

#### A. Determinasi

Hasil determinasi hewan ikan gabus yang diperoleh dari daerah Pandeglang Banten, berdasarkan Analisa yang dilakukan oleh Herbarium Bogoriense Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah BRIN Cibinong, menunjukan ikan gabus yang digunakan dari spesies jenis *Channa striata* (gambar 3.)

Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)  
Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah  
Museum Zoologicum Bogoriense (CITES Scientific Authority: ID 003)  
Gedung Widyasatwika, Jl. Raya Jakarta Bogor Km. 46,  
Cibinong – Bogor 16911  
INDONESIA  
ID Dokumen : FB-203.09-01

**FORMULIR HASIL IDENTIFIKASI**

Sampel  
No. Registrasi Else : 98642  
Tanggal Penerimaan : 12 Juni 2023  
Nama Pemohon : Basuki Ruhnati  
Instansi/Univ : Universitas pancasila  
Jenis/Asal sampel : -

**Pelaksana Sampel**  
Pelaksana : Gema Wahyudewantoro  
Tanggal pelaksanaan : 23 September 2023  
Tanggal selesai : 27 September 2023

**Hasil Identifikasi**

| Botol | Ordo           | Famili/ Sub<br>Famili | Spesies                      | Jumlah |
|-------|----------------|-----------------------|------------------------------|--------|
|       | Anabantoformes | Channidae             | Channa striata (Bloch, 1793) | 1      |

Pelaksana  
(Gema Wahyudewantoro)

Dokumen ini dipergunakan  
untuk keperluan administratif  
dan pengumpulan data  
dan tidak dapat digunakan  
untuk keperluan lain  
tanpa persetujuan dari  
Direktorat Pengelolaan Koleksi Ilmiah  
BRIN

Indeks : (SPK) dan Hasil Identifikasi Hewan

Gambar 2. Hasil determinasi

#### B. Pengujian Mutu ekstrak Organoleptik

##### 1. Ekstrak ikan gabus

Hasil Organoleptik ikan gabus (tabel 2.) memiliki warna Kuning muda, Tekstur : Kenyal dan lembut pada suhu dingin, kental pada suhu kamar Bau : Berbau ikan/amis sedangkan Organoleptik ekstrak astaxantin warna : Merah marun tekstur : sedikit kasar bau : berbau khas

**Tabel 2.** Rendemen ekstrak

| Berat ikan keseluruhan | Filet daging | Ekstrak | rendemen (%) |
|------------------------|--------------|---------|--------------|
| 3500 g                 | 1500 g       | 350 g   |              |

**Tabel 3.** Kadar protein terlarut

| Parameter     | Unit | Simplo | Duplo |
|---------------|------|--------|-------|
| Kadar Protein | %    | 5.78   | 5.60  |

## Cemaran logam

Hasil cemaran logam didalam ekstrak ikan gabus dapat dilihat pada tabel 4. dibawah ini.

**Tabel 4.** Penentuan cemaran logam

| Nama ekstrak       | Hasil pemeriksaan logam |        |         |        |
|--------------------|-------------------------|--------|---------|--------|
| Ekstrak ikan gabus | Merkuri                 | Timbal | Cadmium | Timbal |
|                    | 0,2                     | -      | -       | -      |

## Cemaran mikroba

Hasil pengujian Angka lempeng total diperoleh rata rata angka lempeng total dan uji angka kapang khamir masing ditumbuhi koloni 10/gra

## 2. Astaxantin

Organoleptik astaxantin yang berasal dari *Haematococcus pluvialis* terdapat dalam CoA yang diperoleh dari PT Evergreen (gambar 3)

| AstaLux <sup>TM</sup> 2% DCM Powder             |                                                                                                                                                               | PRODUCT SPECIFICATION                                                                                                                                                                                                                          |
|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>PRODUCT IDENTIFICATION</b><br>AstaLux GM22DC |                                                                                                                                                               | <b>DESCRIPTION</b><br>AstaLux GM22DC is a high quality freeze granules of natural Astaxanthin. It is derived from microalgae <i>Haematococcus pluvialis</i> after biomass through solvent-free process, containing at least 2% of Astaxanthin. |
| PARAMETER                                       | SPECIFICATION                                                                                                                                                 | TEST METHOD                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>PHYSICAL/CHEMICAL</b>                        |                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Appearance                                      | Freeze granules                                                                                                                                               | Visual                                                                                                                                                                                                                                         |
| Color                                           | Characteristically color                                                                                                                                      | Visual                                                                                                                                                                                                                                         |
| Odor                                            | Dark fluid                                                                                                                                                    | Visual                                                                                                                                                                                                                                         |
| Moisture                                        | ≤ 2.5%                                                                                                                                                        | Moisture content                                                                                                                                                                                                                               |
| Residual Solvent                                | ≤ 2.5%                                                                                                                                                        | MS/MS/MS                                                                                                                                                                                                                                       |
| Stability                                       | Stability included in analysis                                                                                                                                | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>HEAVY METALS</b>                             |                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Cadmium                                         | ≤ 1.0 ppm                                                                                                                                                     | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Lead                                            | ≤ 1.0 ppm                                                                                                                                                     | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Mercury                                         | ≤ 0.1 ppm                                                                                                                                                     | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Strontium                                       | ≤ 1.0 ppm                                                                                                                                                     | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>MICROBIOLOGICAL</b>                          |                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Total Plate Count                               | ≤ 1000 cfu/g                                                                                                                                                  | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Yeast & Mold                                    | ≤ 100 cfu/g                                                                                                                                                   | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Coliforms                                       | ≤ 10 cfu/g                                                                                                                                                    | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Enterobacteriaceae                              | Not detected                                                                                                                                                  | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Staphylococcus aureus                           | Not detected                                                                                                                                                  | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Pseudomonas aeruginosa                          | Not detected                                                                                                                                                  | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| Aspergillus fumigatus                           | Not detected                                                                                                                                                  | USP 43                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>OTHERS</b>                                   |                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Residue                                         | 20 months after manufacturing date, analyzed in the light transmission tests in refrigerator (2-8 °C), 40 °C, 60 °C, and 70 °C, and stored in light and heat. |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Stability                                       | Stable under all the conditions. After one year after manufacture, stability is recommended and must be tested.                                               |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Shelf life                                      | 24 months, in testing after 24 months storage may be performed for residual use.                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                |
| Storage                                         | For storage and handling, refer to the instructions.                                                                                                          |                                                                                                                                                                                                                                                |

**Gambar 3.** CoA Astaxantin

### **C. Evaluasi sediaan gel**

#### **Uji organoleptik**

Data hasil uji organoleptik sediaan gel dapat dilihat pada tabel dibawah ini

**Tabel 5.** Hasil uji organolepti

| Formula   | Pemerian   |                          |                |
|-----------|------------|--------------------------|----------------|
|           | Bentuk     | Warna                    | Aroma          |
| Basis gel | Semi padat | Bening<br>Transparan     | Tidak beraorma |
| F II      | Semi padat | Merah muda<br>transparan | Berbau khas    |
| F III     | Semi padat | Merah muda<br>transparan | Berbau khas    |

#### **Uji homogenitas**

Data hasil uji homogenitas sediaan gel dapat dilihat pada Tabel dibawah ini

**Tabel 6.** Hasil uji homogenitas

| Formula   | Homogenitas | Standar |
|-----------|-------------|---------|
| Basis gel | Homogen     | Homogen |
| F 2       | Homogen     | Homogen |
| F 3       | Homogen     | Homogen |

#### **Uji pH**

Data hasil uji pH sediaan gel dapat dilihat pada tabel berikut ini

**Tabel 7.** Hasil uji pH

| sediaan<br>gel | Minggu |      |      |      | Standar                        |
|----------------|--------|------|------|------|--------------------------------|
|                | 1      | 2    | 3    | 4    |                                |
| basis          | 6,05   | 6,05 | 6,08 | 6,08 | 4,5 – 7                        |
| F2             | 6,13   | 6,13 | 6,17 | 6,17 | (SNI<br>16<br>4946.2-<br>1998) |
| F3             |        | 5,85 | 5,93 | 5,93 |                                |

#### **Uji viskositas**

Data hasil uji viskositas sediaan gel dapat dilihat pada tabel dibawah ini

**Tabel 8.** Hasil uji viskositas

| Formula   | Viskositas<br>(cps) | Standar         |
|-----------|---------------------|-----------------|
| Basis gel | 8720                | 500 – 10000 cps |
| F 2 (10%) | 8180                | (SNI 16-4946.2- |
| F 3 (15%) | 6750                | 1998)           |

### Uji daya sebar

Data hasil uji daya sebar sediaan gel dapat dilihat pada tabel dibawah ini

**Tabel 9.** Hasil uji daya sebar

| Formula   | daya sebar |           |           |
|-----------|------------|-----------|-----------|
|           | beban 50   | beban 100 | rata rata |
| basis gel | 6          | 6,4       | 6,2       |
| F 2       | 5,6        | 6,1       | 5,5       |
| F 3       | 5,4        | 5,7       | 5,2       |

## D. UJI EFEKTIFITAS

### 1. Jenis Tikus

Jenis tikus yang digunakan dalam penelitian ini *sprague dawley* jantan berumur 6-8 bulan.



**Gambar 4.** Surat keterangan hewan

## 2. Kaji etik

Kaji etik dilakukan oleh komite etik penelitian Kesehatan RSCM Cipto mangunkusuma Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian ini telah mendapatkan surat keterangan lolos kaji etik dengan nomor dokumen Ket.1393/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2023 (gambar 5.)



**Gambar 5.** Surat keterangan Kode etik

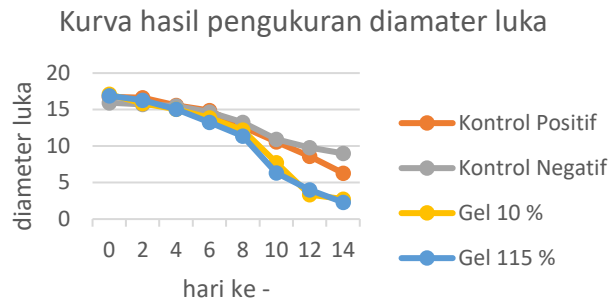
## 3. Pengukuran diameter luka

Diameter luka diukur menggunakan jangka sorong (gambar 6), berikut ini adalah hasil dari proses pengukuran

Berikut data pengukuran diameter luka bakar pada tikus

**Tabel 10.** Pengukuran diameter luka

| Hari ke- | Basis (F0) | Kontrol Positif (F1) | Gel 10 % F2 | Gel 15 % F3 |
|----------|------------|----------------------|-------------|-------------|
| 0        | 16,45      | 16,95                | 16,75       | 15,75       |
| 2        | 16,08      | 16,45                | 15,37       | 15,16       |
| 4        | 15,16      | 15,47                | 14,41       | 13,91       |
| 6        | 13,62      | 14,79                | 13,04       | 12,04       |
| 8        | 13,25      | 12,75                | 11,50       | 10,16       |
| 10       | 10,91      | 10,6                 | 7,16        | 5,75        |
| 12       | 9,83       | 8,87                 | 3,31        | 3,50        |
| 14       | 8,87       | 6,79                 | 2,50        | 1,91        |

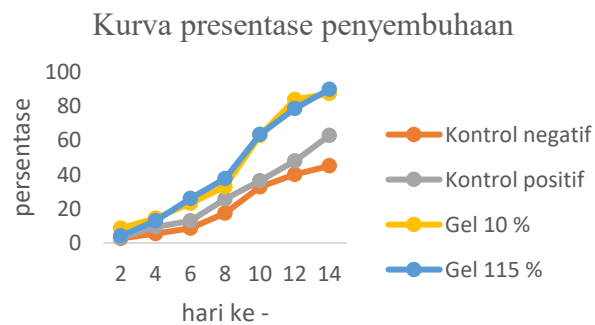


### Persentase penyembuhan luka

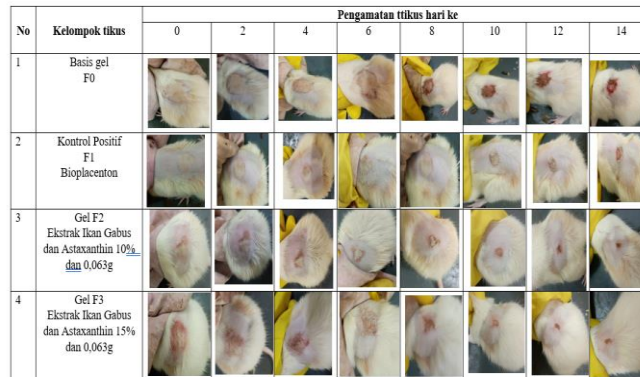
Data persentase penyembuhan luka

**Tabel 11.** Persentase penyembuhan luka

| Hari ke- | Basis F0 (%) | Kontrol F1 (%) | F2    | F3    |
|----------|--------------|----------------|-------|-------|
| 2        | 3,06         | 2,65           | 8,63  | 4,07  |
| 4        | 9,36         | 5,36           | 14,32 | 12,99 |
| 6        | 12,99        | 8,52           | 23,21 | 26,08 |
| 8        | 25,64        | 17,5           | 32,96 | 37,64 |
| 10       | 36,31        | 32,81          | 62,87 | 63,42 |
| 12       | 47,98        | 40,04          | 83,97 | 78,72 |
| 14       | 62,93        | 45,08          | 87,49 | 89,92 |







**Gambar 6.:** pengukuran diameter luka

#### 4. Analisa data

##### 1. Test normalitas

**Tabel 12.** uji normalitas

|                                   |        | Tests of Normality |    |       |              |    |      |  |
|-----------------------------------|--------|--------------------|----|-------|--------------|----|------|--|
|                                   |        | Kolmogorov-Smirnov |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |  |
| Perlakuan                         |        | Static             | Df | Sig.  | Static       | Df | Sig. |  |
| Persentase penyembuhan luka bakar | F0 (-) | .197               | 7  | .200* | .900         | 7  | .328 |  |
|                                   | F1     | .193               | 7  | .200* | .939         | 7  | .625 |  |
|                                   | F2 10% | .220               | 7  | .200* | .867         | 7  | .173 |  |
|                                   | F3 15% | .175               | 7  | .200* | .927         | 7  | .525 |  |
|                                   | (+)    |                    |    |       |              |    |      |  |

\*. This is a lower bound of the true significance.

2. Homogenitas

**Tabel 13.** uji homogenitas

| Perlakuan             | N | Subset for alpha =<br>0.05 |
|-----------------------|---|----------------------------|
|                       |   | 1                          |
| F0 Kontrol<br>blanko  | 7 | 20.8600                    |
| F1 Kontrol<br>Positif | 7 | 29.0771                    |
| F3 Gel 15%            | 7 | 42.8414                    |
| F2 Gel 10%            | 7 | 43.0657                    |
| Sig.                  |   | .445                       |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 7.000.

3. Uji annova satu arah

**Tabel 14.** tabel annova satu arah

|                   | Sum of<br>Squares | Df | Mean<br>Square | F     | Sig. |
|-------------------|-------------------|----|----------------|-------|------|
| Between<br>Groups | 2500.723          | 3  | 833.574        | 1.109 | .365 |
| Within<br>Groups  | 18047.196         | 24 | 751.967        |       |      |
| Total             | 20547.919         | 27 |                |       |      |

**Tabel 15.** Post hoc

| Ke Perlakuan<br>lompok<br>Perlakuan | Mean<br>Difference<br>(I-J) | Std. Error | Sig. |
|-------------------------------------|-----------------------------|------------|------|
| F1 Kontrol<br>Positif               | -8.21714                    | 14.65768   | .943 |
| F0<br>Kontrol<br>(blanko)           | -22.20571                   | 14.65768   | .445 |
| F2 10%                              | -21.98143                   | 14.65768   | .453 |
| F3 15%                              |                             |            |      |

|                |                    |           |          |       |
|----------------|--------------------|-----------|----------|-------|
|                | F0 Kontrol basis   | 8.21714   | 14.65768 | .943  |
| F1 Kontrol (+) | F2 10%             | -13.98857 | 14.65768 | .776  |
|                | F3 15%             | -13.76429 | 14.65768 | .784  |
|                | F0 Kontrol basis   | 22.20571  | 14.65768 | .445  |
| F2 10%         | F1 Kontrol Positif | 13.98857  | 14.65768 | .776  |
|                | F3 15%             | .22429    | 14.65768 | 1.000 |
|                | F0 Kontrol basis   | 21.98143  | 14.65768 | .453  |
| F3 15%         | F1 Kontrol Positif | 13.76429  | 14.65768 | .784  |
|                | F2 10%             | -.22429   | 14.65768 | 1.000 |

Tabel 5.20 Tukey

| Persentase Penyembuhan | Lukabakar |     |      |
|------------------------|-----------|-----|------|
| Levene Statistic       | df1       | df2 | Sig. |
| 3.261                  | 3         | 24  | .039 |

## Pembahasan

Penelitian ini mengembangkan suatu formulasi sediaan gel terstandar untuk luka bakar derajat II yang mengandung ekstrak ikan gabus dan *Haematococcus pluvialis* dengan kadar astaxantin alami 2 %. Uji aktivitas sediaan dilakukan pada hewan uji tikus putih galur *Sprague Dawley* dan menggunakan *randomize control trials* yaitu basis gel dan kontrol positif, produk yang sudah digunakan oleh manusia dan teruji khasiatnya sebagai penyembuh luka yaitu gel x yang mengandung neomycin dan ekstrak placenta. Pengujian bertujuan mendapatkan sediaan obat alam terstandar meliputi pemeriksaan ekstrak yaitu organoleptik, pengukuran pH, pengukuran cemaran logam dan cemaran mikroorganisme, untuk sediaan gel nya dilakukan evaluasi sediaan yang

---

meliputi pengujian organoleptik, pengukuran pH, viskositas, pengujian daya sebar, selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas luka bakar sediaan gel terhadap tikus putih galur *Sprague dawley*.

Penelitian diawali pengumpulan ikan gabus kemudian dideterminasi yang bertujuan untuk memastikan kebenaran dan menghindari kesalahan pada saat pengumpulan bahan, jenis hewan ikan yang akan diteliti. Hasil data morfologi ikan gabus menyatakan sampel yang digunakan yaitu ikan gabus dengan nama familia *Channa striata*, memiliki tanda tanda tubuhnya memanjang menyerupai torpedo dengan panjang standar 190 mm dan panjang total 250 mm, Kepala bentuknya agak tertekan, dan bersisik mirip seperti ular, pada sisi tubuh terdapat pita warna berbentuk “ < “, sirip dada agak lebar dan membulat, sirip ekor membulat, jumlah jari jari sirip punggung yaitu 42 jari jari lunak, jumlah sisik pada linear lateralis yaitu 55 buah.

Standarisasi ekstrak dilakukan dalam rangka untuk mendapatkan produk sesuai dengan tiga aspek penting dalam bahan yaitu keamanan, efektifitas dan kualitas. Standarisasi meliputi parameter spesifik yang meliputi organoleptik, kadar protein, sedangkan untuk parameter non spesifik meliputi pH, cemaran logam, dan cemaran mikroba.

Pemilihan sediaan gel dalam penelitian ini dikarenakan gel memiliki kemampuan menyebar pada kulit yang baik, dapat memberikan rasa sensasi dingin dikulit, tidak mengganggu atau menghambat fungsi rambut secara fisiologis, terutama *respiration sensibilis*, oleh karena itu tidak melapisi permukaan kulit secara kedap dan pori pori tidak tersumbat, mudah dibilas dengan air dan pelepasan obatnya sangat baik. Penggunaan bahan pembantu dalam pembuatan gel yaitu *gelling agent* yang berperan dalam membuat jaringan struktur gel dengan menjaga konsistensi antara cairan dengan padatan dalam suatu bentuk gel. *Gelling agent* yang digunakan pada formula yaitu carbopol yang terbuat dari bahan semi sintetis. Bahan Kekuatan struktur gel dipengaruhi oleh meningkatnya jumlah *gelling agent* pada suatu formula gel sehingga viskositas akan naik. *Bahan tambahan selanjutnya humektan* berperan dalam menjaga kelembaban dan menjaga agar kulit tidak mengalami hidrasi (Voight, 1995).

Sediaan yang tinggi berpotensi meningkatkan dan menyerap air dari permukaan kulit untuk menggantikan air sediaan yang sudah menguap, yang menyebabkan kulit kering. Bahan tambahan selanjutnya yaitu pengawet hal ini dikarenakan sediaan gel memiliki kandungan air yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan salep atau *cream*, hal ini menyebabkan gel sangat rentan terhadap

kontaminasi mikroba sehingga dalam formulasi gel diperlukan penggunaan pengawet dalam formulasi mencegah pertumbuhan mikroba (Voight, 1995).

Uji efektivitas sediaan gel dilakukan dengan pengukuran diameter luka dimana semakin kecil ukuran diameter luka menandakan sediaan gel uji memiliki kemampuan penyembuhan luka.

### **Organoleptik**

Standarisasi mutu ekstrak diawali dari pemeriksaan organoleptik ekstrak yang dilakukan secara visual dengan menggunakan Indera penglihatan dan perasa yang bermanfaat untuk pengendalian mutu dari ekstrak dan dapat memberikan indikasi penurunan mutu melalui bau busuk atau menyengat dan kerusakan lainnya. Ekstrak ikan gabus memiliki warna kuning muda dengan aroma berbau ikan

### **Rendemen ekstrak**

Pengujian selanjutnya penghitungan nilai rendemen ekstrak yang dihitung dengan membandingkan berat ekstrak ikan gabus dibagi dengan jumlah daging filet ikan gabus. Nilai rendemen juga menunjukkan tingginya kandungan bshn aktif yang terkandung sehingga dapat disimpulkan semakin besar nilai rendemen maka semakin banyak kandungan zat yang tertarik dari bahan baku. Nilai rendemen yang baik dari suatu ekstrak yaitu diatas 10 persen hal ini menandakan bahwa zat yang terkandung didalam filet ikan gabus banyak tersari dengan pelarut air menggunakan metode kukus (pemanasan dengan suhu kurang dari 60 selama 20 menit).

Pemilihan metode kukusan dibanding rebusan untuk menghindari kehilangan atau menurunnya zat gizi yang larut dalam air dan menghindari terjadinya denaturasi protein pada suhu diatas 55 derajat celcius. Hasil rendemen ekstrak ikan gabus yang diperoleh dari proses kukus melebihi dari 10 % yaitu sebesar 26,5 %. Hasil ini menunjukkan bahwa metode kukus lebih baik dibandingkan dengan yang direbus. Untuk mendapatkan ekstrak ikan gabus.

### **Kandungan protein**

Parameter spesifik ekstrak dilakukan pemeriksaan kandungan yang diinginkan yaitu pemeriksaan kandungan kadar protein dalam ikan gabus hal ini untuk memastikan protein yang terkandung dalam ikan gabus tidak rusak atau terdenaturasi karena faktor suhu pada saat pembuatan ekstrak. Kadar protein terlarut dalam penelitian ini sebesar 5,78 %. kadar protein

mengalami penurunan pada suhu diatas 40 °C, misalnya pada suhu 50–70 °C. besar kemungkinan kecilnya kandungan protein dipengaruhi oleh pemanasan suhu yang tinggi yang mengakibatkan denaturasi protein. Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa komposisi kimia protein pada ekstrak kan gabus alam lebih tinggi yang hidup liar dibandingkan dengan budidaya.(Chasanah et al., n.d.) Penelitian lainnya menyatakan bahwa ukuran tubuh ikan mempengaruhi komposisi atau kandungan kimia berbeda-beda. (Suwandi et al., 2014).

### **Parameter non spesifik**

Standarisasi ekstrak yang termasuk dalam parameter non spesifik pada ekstrak dilakukan uji pH, kadar logam, cemaran mikroba.

### **Pengujian pH**

Pengujian pH pada masing masing komponen zat aktif dilakukan agar pH pada pembuatan sediaan gel tidak bersifat asam maupun basa hal ini disebabkan syarat diterimanya sediaan gel oleh kulit mendekati netral, artinya jika Nilai pH gel bersifat terlalu asam hal ini akan mengakibatkan terjadinya iritasi pada kulit dan akan mengakibatkan rasa nyeri pada luka bakar sebaliknya kalau pH bersifat basa dapat mengakibatkan kulit menjadi bersisik

### **Cemaran logam**

Tiga aspek yang harus dipenuhi pada bahan alam yaitu aman, berkhasiat dan berkualitas. Aspek keamanan yang diperhatikan pada sediaan bahan alam yaitu adanya kontaminasi logam berat pada obat bahan alam, yang dapat mengakibatkan efek buruk bagi Kesehatan makhluk hidup tergantung pada bagian organ tubuh yang berikatan dengan logam. Beberapa Logam berat yang dipersyaratkan oleh BPOM yaitu timbal, cadmium, timbal dan merkuri sedangkan kemungkinan adanya kadar logam dalam ikan dapat berasal dari air sebagai lahan hidup ikan, tanah yang ada didalam penampungan ikan, serta sumber makanan yang diberikan oleh ikan, kemungkinan adanya logam bisa diakibatkan pada saat penyarian zat protein menggunakan alat yang berupa logam. pada pemeriksaan kadar logam ekstrak ikan gabus tidak ditemukan kadar logam timbal, cadmium, arsen sedangkan pada merkuri ditemukan sebesar 0,2 mg namun masih memenuhi standar BPOM sesuai dengan Peraturan Badan Pengawasan Obat dan Makanan No 13 tahun 2014 kadar merkuri yang

diperbolehkan ada dalam ekstrak 0,5. Dengan demikian pemeriksaan kadar logam ekstrak ikan gabus memenuhi syarat.

### **Cemaran mikroba**

Aspek keamanan selanjutnya yaitu cemaran mikroba, pengujian dilakukan pemeriksaan adanya mikroorganisme yang tumbuh pada bahan bakunya. Pada penelitian ini pemeriksaan mikroorganisme terdiri dari angka lempeng total dan angka kapang khamir. Angka lempeng total untuk melihat seberapa banyak bakteri yang tumbuh sedangkan angka kapang khamir untuk melihat jumlah angka kapang dan khamir yang tumbuh. Persyaratan yang ditetapkan oleh peraturan badan pengawas obat dan makanan nomor 13 tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan olahan yaitu untuk ALT yaitu kurang dari sama dengan  $5 \times 10^7$  dan AKK  $5 \times 10^5$  pada penelitian ini jumlah ALT dan AKK masih memenuhi persyaratan BPOM dengan angka untuk ALT 10 koloni per gram sedangkan AKK 10 koloni per gram walaupun masih ditemukannya pertumbuhan mikroorganisme, hal ini bisa diakibatkan selama penyimpanan bahan kurang steril.

### **Evaluasi sediaan Organoleptik**

Tahap awal dalam melakukan evaluasi sediaan yaitu Pemeriksaan organoleptik sediaan dengan pengamatan secara visual menggunakan Indera penglihatan dan penciuman yang berdasarkan bentuk, warna dan aroma. Hasil pengamatan organoleptik sediaan basis gel memiliki warna bening, transparan dan aroma khas dari basis gel. Sedangkan pada formula yang mengandung ekstrak ikan gabus dan astaxantin memiliki konsistensi yang kental, memiliki warna merah muda bening transparan hal ini dikarenakan karena adanya penambahan ekstrak astaxantin berwarna merah dan ekstrak ikan gabus yang berwarna kuning muda serta mengakibatkan gel semakin kental.

Gel menghasilkan organoleptik yang sama bentuk semi padat, aroma khas sedikit berbau ikan. pengamatan selanjutnya dilakukan setelah penyimpanan empat minggu pada suhu kamar menghasilkan warna rasa dan aroma tidak berubah

### **Pengujian homogenitas**

Pengujian homogenitas bertujuan untuk melihat campuran bahan aktif dengan basis gel dari sediaan tercampur dengan baik. Hasil pengujian homogenitas menunjukkan bahwa F0 (basis), FII

(10%) dan F2 (15%) homogen. Pengujian homogenitas dilakukan dengan mengoleskan gel pada kaca bening atau objek glass, lalu diamati ada tidaknya butiran yang tidak terlarut atau kasar. Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya butiran atau partikel sehingga dapat dikatakan sediaannya homogen.

### **Pengujian pH**

Evalusi selanjutnya yaitu sifat karakteristik gel luka bakar yang menjadi syarat dalam suatu formulasi sediaan gel yaitu nilai pH karena syarat diterimanya sediaan oleh kulit mendekati netral, artinya jika Nilai pH gel bersifat terlalu asam hal ini akan mengakibatkan terjadinya iritasi pada kulit dan akan mengakibatkan rasa nyeri pada luka bakar sebaliknya kalau pH bersifat basa dapat mengakibatkan kulit menjadi bersisik. Range pH kulit berdasarkan standar SNI No. 06-2588 yaitu 4,5 – 6,5. Hasil uji pH yang dilakukan pada sediaan gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin dengan konsentrasi yang berbeda dan basis, dapat disimpulkan masing masing masuk dalam rentang prsyaratannya. Pengujian pH dilanjutkan selama empat minggu untuk memastikan pH sediaan masih memenuhi persyaratan karena perubahan pH bisa mempengaruhi viskositas sediaan.

### **Pengujian viskositas**

Pada sediaan gel bertujuan untuk mengukur berapa besar tahanan yang dihasilkan oleh sediaan gel untuk mengalir. Jika Viskositas suatu sediaan semakin tinggi maka sediaan tersebut semakin sukar mengalir ketika akan digunakan dan daya sebar semakin akan semakin kecil. Hasil Uji viskositas pada RPM 60 didapat viskositas FII 8180 cps dan FIII 6570 cps. hasil tersebut memenuhi persyaratan yang ditentukan SNI 500 – 10000 cps (SNI 16-4946.2-1998)

### **Uji efektivitas**

Hewan tikus yang diperoleh dari IPB dilakukan aklimitisasi selama 5 hari bertujuan supaya hewan tikus mudah beradaptasi dengan lingkungan yang baru sehingga tidak mudah stress. Perlakuan luka bakar diawali pencukuran rambut tikus perlakuan luka bakar agar memudahkan dalam perlakuan. Pencukuran dilakukan dibagian punggung tikus karena memiliki luas permukaan yang lebar dan memudahkan dalam pengamatan, tikus diperlakukan luka bakar derajat II yang ditandai dengan adanya cairan bula, kerusakan jaringan pada dermis, nyeri. Perlakuan pada penelitian ini dilakukan kontrol negatif dengan pemberian basis gel yang tidak mengandung zat



aktif. Sedangkan kelompok kontrol positif diberikan gel bioplacenton yang digunakan untuk mengobati luka bakar dan infeksi. obat ini memiliki kandungan ekstrak placenta yang bekerja membantu pembentukan jaringan baru untuk penyembuhan luka dan mengandung neomycin bekerja dengan mencegah atau mengatasi infeksi bakteri Gram negatif pada area luka.

Proses percepatan penyembuhan luka dilakukan dengan Pengamatan terbentuknya dan terlepasnya keropeng yang dilakukan secara visual dan pengukuran diameter luka. Pembentukan keropeng sebagai tanda proses penyembuhan luka memasuki tahap awal fase proliferasi. Pada tahap ini luka mengandung sel-sel radang, fibroblast, dan kolagen yang membentuk jaringan berwarna kemerahan dengan permukaan yang tidak rata atau yang dikenal dengan jaringan granulasi.

Persentase penyembuhan luka dilakukan dengan pengukuran luas luka pada hari ke-0,2,4,6,8,10,12, dan 14. Persentase yang tinggi menunjukan proses penyembuhan luka yang efektif dengan semakin mengecilnya ukuran luka selama 14 hari pengukuran. Pengamatan penyembuhan luka bakar diawali dari terbentuk dan terlepasnya keropeng yang dilakukan secara visual pada keempat kelompok uji yaitu kelompok kelompok basis (F0), kontrol positif (F1) dan kelompok uji 10% (F2), kelompok uji 15 % (F3).

Penggunaan astaxantin alami yang berasal dari mikroalga *H. pluvialis* pada formulasi gel dalam penelitian ini memiliki peran mempercepat fase inflamasi karena pada fase tersebut sangat berkontribusi terhadap pemulihan luka yang lebih baik. Mekanisme Astaxantin dalam mempercepat fase inflamasi dengan mekanisme menyeimbangkan stress oksidatif yang terjadi akibat ketidakseimbangan ROS dengan antioksidan didalam tubuh hal ini dikarenakan pada fase awal penyembuhan luka produksi ROS secara signifikan lebih tinggi dari biasanya untuk bertahan melawan mikroorganisme yang menyerang dan mentransmisikan sinyal antar sel yang mendukung proses peradangan, astaxantin sebagai pemberi elektron pada radikal bebas, Sehingga dapat meredam ROS yang berlebihan, secara konsisten akibatnya, aktivasi jalur NF-kB dapat dicegah, dan menyebabkan penurunan transkripsi gen pro-inflamasi dan produksi sitokin pro-inflamasi. Struktur kimia astaxantin terdiri dari dua cincin dimana masing masing cincin memiliki kelarutan yang berbeda yaitu icncin larut dalam lemak sedagkan yang satunya larut dalam air. Kedua cincin tersebut dihubungkan dengan ikatan rangkap terkonjugasi yang berperan sebagai antioksidan kuat dengan mendonorkan electron yang akan bereaksi dengan radikal bebas untuk menguba menjadi

produk yang lebih stabil dan menghentikan reaksi berantai radikal bebas di berbagai organisme hidup

Penggunaan ekstrak ikan gabus pada sediaan gel, dikarenakan ekstrak ikan gabus yang memiliki kadar protein yang tinggi dan memiliki peran dalam memperbaiki sel sel Malondialdehida (MDA) pada tikus bakar derajat II luas 20-30%, melalui mekanisme, yaitu dengan meningkatkan aktivitas makrofag melalui respon sistem imun dan secara langsung menekan reaksi inflamasi yang berlebihan. Ekstrak ikan gabus mengandung albumin yang berperan untuk menggantikan albumin yang hilang dan terjadi penurunan akibat luka bakar. Dampak dari luka bakar dapat memicu trauma, infeksi dan inflamasi sehingga menyebabkan lepasnya hormon yang memicu stress dan mediator sel radang (IL-1, TNF $\alpha$ , IL-2) yang disertai perubahan metabolisme protein ditandai dengan terjadinya katabolisme protein khususnya otot, infesistensi metabolisme Karbohidrat dan lemak serta meningkatkan permeabilitas vaskuler sehingga albumin keluar dari sirkulasi dan terjadi penurunan albumin intravaskuler dan katabolisme. Albumin memiliki kemampuan mengikat dengan PUFA yang berperan dalam mencegah dan mengurangi pembentukan peroksidasi lipid sehingga menghindari kerusakan dari radikal bebas.

Ekstrak ikan gabus mengandung arginin dan glutamate dalam yang berkhasiat dalam proses penyembuhan luka. Glutamate diubah menjadi Glutamin dengan bantuan enzim glutathione synthetase sebagai yang tripeptide yaitu glutamat, glisin, dan sistein, sebagai antioksidan intraseluler<sup>44</sup>. Glutamin kemungkinan sebagai sumber energi bagi sel yang mengalami penggandaan seperti eritrosit dan limfosit serta memperbaiki fungsi gastrointestinal associated lymphoid tissue (GALT) dengan cara menekan jalur peradangan seperti NF-kB, kinase protein, penghambatan ekspresi peningkatan iNOS<sup>45</sup>. serta bertindak sebagai regulator negatif penting untuk rangsangan inflamasi, penghambatan fosforilasi dan degradasi I $\kappa$ B $\alpha$  sebuah penghambatan protein yang terikat pada NF-kB, menghindari translasi ke nucleus.

Pada pengamatan kelompok tikus yang diolesi gel uji menunjukkan pembentukan dan terlepasnya keropeng lebih cepat dibanding kelompok Kontrol positif dan negatif hal ini menunjukkan selama fase proliferasi dan remodeling astaxantin menunjukkan potensi signifikan untuk mengurangi ukuran luka selama proses penutupan dan berhubungan dengan peningkatan ekspresi pertumbuhan *fibroblast* yang berperan penting dalam pembentukan jaringan granulasi, reepitelisasi, pembentukan matriks, dan remodeling, yang merupakan kejadian utama selama fase

proliferasi dan remodeling. selama reepitelisasi, mendorong migrasi fibroblas, dan menstimulasi mereka untuk memproduksi kolagenase. Penelitian ini juga menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan penelitian yang menggunakan ekstrak ikan gabus tunggal dalam sediaan salep dengan masa perlakuan 16 hari yang menunjukkan kurang lebih 80% penyembuhan luka.(Andrie, n.d.2017)

Pada akhir percobaan, tikus pada kedua kelompok uji menunjukkan penutupan luka sempurna tanpa bekas luka yang terlihat atau luka kronis dan tidak ada tikus yang dikeluarkan dari penelitian dan tidak ada luka yang menunjukkan tanda-tanda infeksi.

### **Analisa data**

Data hasil pengukuran diameter luka bakar dibuat persentase penyembuhan terlebih dahulu untuk mengukur persentase terbesar pada penyembuhan luka bakar dihasilkan oleh formula gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin. Berdasarkan hasil rata-rata persentase penyembuhan luka bakar menunjukkan bahwa kelompok gel bahan aktif F II (15% : 0,063), memiliki persentase yang lebih tinggi yaitu dari pada kelompok lainnya yaitu kontrol positif dan kontrol negatif.

Data persentase kemudian dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas. Hasil statistik uji normalitas menggunakan shapiro-wilk data dinyatakan normal jika nilai ( $p > 0,05$ ). Berdasarkan hasil tabel 5.17. didapatkan nilai signifikan dari kontrol positif (0,625), kontrol negatif (0,328), F2 gel 10 % (0,173), F 3 gel 15% (0,525), maka dapat disimpulkan bahwa data seluruhnya terdistribusi normal. Pada hasil uji homogenitas menggunakan uji Levene dengan nilai ( $p > 0,05$ ) yaitu 0,039, hal ini menunjukkan bahwa data persentase penyembuhan luka bakar tidak terdistribusi homogen. Didalam pengujian annova satu arah uji homogenitas bukan menjadi syarat mutlak namun annova satu arah masih bisa dilakukan yang penting data yang digunakan terdistribusi normal

Analisis data selanjutnya yaitu dilakukan uji One Way ANOVA dengan nilai ( $p > 0,05$ ) yaitu 0,365 yang berarti bahwa data persentase penyembuhan luka bakar pada hari ke-14 tidak berbeda secara signifikan. Analisis statistik kemudian dilanjutkan dengan uji Post Hoc menggunakan uji tukey yaitu untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok satu dengan kelompok lainnya. Hasil uji Post Hoc dari semua kelompok perlakuan, didapatkan nilai signifikan ( $p > 0,05$ ) gel 15 % (0,453) dan kontrol negatif (0,445) dari dua kelompok tersebut tidak berbeda secara signifikan yang berarti aktivitas penyembuhan luka bakar tidak berbeda secara signifikan.

sedangkan untuk kontrol positif, gel 10 % dan 15 % nilai  $p > 0,05$  yang berarti tidak ada perbedaan yang nyata atau aktivitasnya sebanding.

## **KESIMPULAN**

1. Hasil standarisasi dan evaluasi komposisi bahan aktif sediaan gel memenuhi syarat yang ditetapkan BPOM dan SNI
2. Hasil evaluasi sediaan gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin memenuhi syarat yang ditetapkan BPOM dan SNI
3. Gel ekstrak ikan gabus dan astaxantin pada FII dengan komposisi ekstrak ikan gabus 15 % dan astaxantin 0,063 mg memiliki persentase menyembuhkan luka bakar derajat II lebih baik dibandingkan FI, kontrol positif dan basis gel, namun memiliki aktivitas penyembuhan yang sebanding pada semua kelompok.

## **DAFTAR PUSTAKA**

- Andrie, M. (2017). Efektivitas Sediaan Salep yang Mengandung Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) pada Proses Penyembuhan Luka Akut Stadium II Terbuka pada Tikus Jantan Galur Wistar The Effectiveness of Snakehead (*Channa striata*) Extract-Containing Ointment on Healing Process of Acute Stage II Opened Wound on Male Wistar Rats.
- Chasanah, E., Nurilmala, M., Ratih Purnamasari, A., Diini Fithriani, dan, Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, B., Tubun Petamburan VI, J. K., Pusat, J., Teknologi Hasil Perairan, D., Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, F., & Penulis, K. (n.d.). *Komposisi Kimia, Kadar Albumin Dan Bioaktivitas Ekstrak Protein Ikan Gabus (Channa Striata) Alam Dan Hasil Budidaya (Chemical Composition, Albumin Content and Bioactivity of Crude Protein Extract of Native and Cultured Channa striata)*.
- Diegelmann, R. F., & Evans, M. C. (2004). Wound Healing: An Overview Of Acute, Fibrotic And Delayed Healing. In *Frontiers in Bioscience* (Vol. 9).
- Dulak, J., Józkowicz, A., Dembinska-Kiec, A., Guevara, I., Zdzenicka, A., Zmudzinska-Grochot, D., Florek, I., Wójtowicz, A., Szuba, A., & Cooke, J. P. (2000). *Nitric Oxide Induces the Synthesis of Vascular Endothelial Growth Factor by Rat Vascular Smooth Muscle Cells*. <http://www.atvbaha.org>

- Gibran, N. S., Wiechman, S., Meyer, W., Edelman, L., Fauerbach, J., Gibbons, L., Holavanahalli, R., Hunt, C., Keller, K., Kirk, E., Laird, J., Lewis, G., Moses, S., Sproul, J., Wilkinson, G., Wolf, S., Young, A., Yovino, S., Mosier, M. J., Wiggins, B. (2013). American Burn Association consensus statements. *Journal of Burn Care & Research : Official Publication of the American Burn Association*, 34(4), 361–385.  
<https://doi.org/10.1097/bcr.0b013e31828cb249>
- Santhose, I., Kanna, R., & Elumalai, S. (2016). Antioxidant and Anti-skin cancer potential of a Ketocarotenoid pigment Astaxantin isolated from a green microalga *Haematococcus pluvialis* Flotow. *International Journal of Scientific & Engineering Research*, 7(6).  
<http://www.ijser.org>
- Suwandi, R., Winem, M., Teknologi, D., Perairan, H., Perikanan, F., & Kelautan, I. (2014). Body Parts Proportion and Proximate Levels of Snakehead on Various Sizes. In *JPHPI 2014* (Vol. 17, Issue 1).
- Syamsuhidajat. (2005). *Buku ajar ilmu bedah* (edisi 4).
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Farmasi* (V). Gadjah Mada Press.
- Witte, M. B., Thornton, F. J., Tantry, U., & Barbul, A. (2002). L-arginine supplementation enhances diabetic wound healing: Involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 51(10), 1269–1273.  
<https://doi.org/10.1053/meta.2002.35185>