

Uji Penetrasi Sediaan Salep Kombinasi Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) dan Madu Kelulut (*Trigona Sp.*) dengan Penetapan Kadar Protein Menggunakan Metode Biuret

Penetration Test for Combination Ointment Preparation of Snakehead Fish Water Phase Extract (*Channa striata*) and Kelulut Honey (*Trigona Sp.*) with Determination of Protein Content Using the Biuret Method

Wintari Taurina^{1*}, Mohamad Andrie¹, Istiqomah²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

²Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia

*E-mail: istiqomah26@student.untan.ac.id

Diterima:

Direvisi:

Disetujui:

Abstrak

Luka merupakan terputusnya kontinuitas jaringan akibat substansi jaringan yang rusak atau hilang sehingga dapat menyebabkan kerusakan fungsi perlindungan kulit dan dapat disertai dengan kerusakan jaringan lain. Salah satu bahan alam yang memiliki potensi dalam mempercepat penyembuhan luka adalah ikan gabus (*Channa striata*). Perawatan luka diperlukan untuk meningkatkan penyembuhan, mencegah kerusakan kulit lebih lanjut dan mengurangi risiko infeksi. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik menimbulkan ancaman serius, menyebabkan peningkatan kebutuhan untuk mencari alternatif pengobatannya seperti antibiotik yang berasal dari bahan alam. Madu merupakan salah satu bahan alam yang dipercaya memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Madu dapat dihasilkan salah satunya dari lebah *Trigona spp.*, lebah yang dikenal dengan nama kelulut. Pemanfaatan ikan gabus dan madu kelulut dalam penyembuhan luka dapat di optimalkan dalam bentuk sediaan salep. Salep merupakan sediaan setengah padat untuk pemakaian luar atau topikal dan mudah diaplikasikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah madu kelulut dapat mempengaruhi daya penetrasi protein dan asam amino pada sediaan salep fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan madu Kelulut (*Trigona Sp.*). Penelitian menggunakan sel difusi Franz untuk mengetahui jumlah kadar protein yang terpenetrasi melewati kulit tikus putih ditetapkan nilai fluks dan dianalisis secara deskriptif dengan penentuan kadar menggunakan metode Biuret. Hasil yang diperoleh yaitu madu dapat meningkatkan daya penetrasi dimana salep kombinasi madu memiliki nilai fluks lebih besar ($200,250 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) pada jam ke-24 dan salep tunggal memiliki nilai fluks lebih kecil ($188,269 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) pada jam ke-24. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan.

Kata kunci: Ikan gabus (*Channa striata*); Madu kelulut (*Trigona Sp.*); Daya penetrasi; Difusi franz

Abstract

Wound is a breakdown of tissue continuity due to damaged or missing tissue substances so that it can cause damage to the protective function of the skin and can be accompanied by damage to other tissues. One of the natural ingredients that have the potential to accelerate wound healing is snakehead fish (*Channa striata*). Wound care is needed to promote healing, prevent further skin damage and reduce the risk of infection. Bacteria that are resistant to antibiotics pose a serious threat, causing an increasing need to look for alternative treatments such as antibiotics derived from natural ingredients. Honey is one of the natural ingredients that is believed to have antibacterial activity. Honey can be produced, one of them from *Trigona spp.* bees, bees known as kelulut. The utilization of snakehead fish and kelulut honey in wound healing can be optimized in the form of ointment preparations. Ointment is a semi-solid preparation for external or topical use and is easy to apply. This study aims to determine whether kelulut honey can affect the penetration of protein and amino acids in water phase ointment preparations of snakehead fish extract (*Channa striata*) and kelulut honey (*Trigona Sp.*). The study used Franz diffusion cells to determine the amount of protein content that penetrated through the skin of white rats. The flux value was determined and analyzed descriptively by determining the concentration using the Biuret method. The results obtained are honey can increase the penetration power where honey combination ointment has a greater flux value ($200.250 \text{ g cm}^{-2} \text{ hours}^{-1}$) at 24 hours and single ointment has a smaller flux value ($188.269 \text{ g cm}^{-2} \text{ hours}^{-1}$) at the 24th hour. The results of the analysis showed that the groups gave results that were not significantly different.

Keywords: Snakehead fish (*Channa striata*); Kelulut honey (*Trigona Sp.*); Penetration; Franz diffusion cell.

PENDAHULUAN

Luka merupakan suatu bentuk kerusakan jaringan pada kulit yang disebabkan kontak dengan sumber panas (seperti bahan kimia, air panas, api, radiasi, dan listrik), hasil tindakan medis, maupun perubahan kondisi fisiologis. Luka menyebabkan gangguan pada fungsi dan struktur anatomi tubuh⁽¹⁾. Berdasarkan waktu dan proses penyembuhannya, luka dapat diklasifikasikan menjadi luka akut dan kronik. Bahan alam yang biasa digunakan sebagai sumber bahan obat alami untuk penyembuhan luka adalah ikan gabus. Ikan gabus adalah sumber albumin yang baik bagi penderita hipalbumin (rendah albumin) dan penyembuhan luka pasca operasi maupun luka bakar⁽²⁾.

Penyembuhan merupakan proses alami tubuh dalam regenerasi kerusakan jaringan kulit dan epidermal namun tingkat penyembuhannya sangat lambat dan memungkinkan adanya infeksi mikroba⁽³⁾. Bakteri yang resisten terhadap antibiotik menimbulkan ancaman serius, sehingga diperlukan obat alternatif untuk mengganti dengan beralih ke bahan alam yang ketersediaannya melimpah di Indonesia, salah satunya adalah madu⁽⁴⁾. Pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri memerlukan obat dari bahan alam (obat tradisional) secara umum dinilai lebih aman dari pada penggunaan obat modern. Madu dipercaya memiliki aktivitas antibakteri. Madu dapat dihasilkan salah satunya dari lebah *Trigona* spp., lebah yang dikenal dengan nama kelulut di Kalimantan ini mudah ditemukan di lingkungan sekitar⁽⁵⁾.

Salep adalah sediaan setengah padat yang mudah dioleskan dan digunakan sebagai obat luar⁽⁶⁾. Salep terdiri dari bahan obat yang terlarut ataupun terdispersi didalam basis atau basis salep sebagai pembawa zat aktif⁽⁷⁾. Basis salep yang satu dengan basis lainnya mempunyai sifat yang berbeda sebab komposisi bahan yang berbeda, sehingga pemilihan basis sangat penting sebab akan berpengaruh terhadap penetrasi obat. Sehingga dapat diperkirakan variasi basis salep akan menyebabkan sifat fisik sediaan

salep yang berbeda dan akan berpengaruh pada penyembuhan⁽⁸⁾. Peneliti memilih menggunakan basis jenis absorpsi, yaitu adeps lanae dengan zat aktif yang digunakan adalah fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan madu kelulut (*Trigona* Sp.). Formulasi salep untuk dapat memberikan efek penyembuhan maka obatnya harus lepas dari basis salep kemudian berpenetrasi ke dalam kulit⁽⁹⁾. Maka dari itu peneliti merasa tertarik ingin mengetahui pengaruh madu terhadap daya penetrasi asam amino pada fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dalam sediaan salep dapat berdifusi melalui membran sel difusi franz yang selanjutnya protein dan asam amino tersebut dianalisis menggunakan metode biuret.

METODE

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain gelas beaker 500 mL (Pyrex® IWAKI TE-32), gelas ukur 250 mL (Pyrex® IWAKI TE-32), labu ukur 10 mL (Pyrex® IWAKI TE-32), tabung reaksi (Pyrex® IWAKI TE-32), penangas air (Memmert®), timbangan analitik (Precisa), mortar dan stamper, seperangkat alat uji difusi Franz modifikasi, hotplate (IKA), Spektrofotometer UV (Shimadzu 2450).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain madu kelulut (*Trigona* Sp.), fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*), metil paraben (PT. Brataco), propil paraben (PT. Brataco), dan adeps lanae (PT. Brataco, J0836/15).

Prosedur kerja

Sebanyak ±3,0 kg ikan gabus dibersihkan bagian kepala serta isi perutnya dan dikukus dalam panci 30 menit dengan kisaran suhu 65°C sampai 70°C. Kemudian daging ikan gabus dibungkus dengan kain katun dan di masukkan ke dalam alat press hidrolik, dilakukan pengepresan dengan tekanan tinggi untuk mengambil ekstrak ikan gabus. Ekstrak ikan gabus yang telah di dapat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diambil fase air ekstrak ikan gabus. Selanjutnya disimpan dalam wadah dan

ditutup dengan *aluminium foil* dan *clean pack*, dan dilakukan pengeringan menggunakan metode *Freeze dry*.

Formulasi Salep Madu Kelulut (*Trigona Sp.*)

R/ Salep Tunggal	
Fase air ekstrak ikan gabus	40 %
Propil paraben	0,02%
Metil paraben	0,18%
Propilenglikol	qs.
Adeps Lanae	59,8%
R/ Salep Kombinasi	
Fase air ekstrak ikan gabus	40 %
Madu kelulut	30 %
Propil paraben	0,02%
Metil paraben	0,18%
Propilenglikol	qs.
Adeps Lanae	29,8%

Pembuatan salep dengan zat aktif fase air ekstrak ikan gabus dan madu kelulut dimulai dengan penimbangan bahan-bahan yang digunakan. Langkah awal yaitu Adeps Lanae dileburkan dengan suhu 70°C. Peleburan adeps lanae agar mempermudah pengerusan sediaan yang akan dicampurkan. Alasan menggunakan suhu 70°C untuk peleburan karena pada suhu tersebut tidak melampaui titik lebur bahan. Suhu yang melampaui titik lebur bahan dapat mendegradasi secara fisika dan kimia bahan tersebut. Setelah lebur Adeps Lanae dimasukkan ke dalam lumpang digeris perlahan hingga homogen. Setelah Adeps Lanae berubah warna menjadi putih kekuningan, masukkan Madu sedikit demi sedikit gerus hingga homogen. Masukkan fase air ekstrak ikan gabus demi sedikit kedalam lumpang sambil digeris sampai homogen. Kemudian tambahkan Propil paraben dan Metil paraben sedikit demi sedikit dan ditambahkan Propilenglikol secukupnya. Sediaan jadi, dimasukkan ke dalam pot salep untuk mencegah faktor luar seperti udara dan cahaya yang dapat mempengaruhi kualitas sediaan.

Pembuatan Larutan Induk

Ditimbang 0,10 gram *Bovin Serrum Albumin* (BSA), dilarutkan dengan air suling

dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 10.000 ppm.

Penentuan *Operating Time*

Larutan standar sebanyak 1 ml di tambahkan 6 ml reagen biuret dan di ad kan 10 ml aquadest dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas hingga didapat 1000 ppm, divortex dan diinkubasi kemudian discanning dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang maksimum biuret 595 nm selama 30, 35, 40, 45, 50, 55 dan 60 menit.

Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan standar sebanyak 1 ml ditambahkan 6 ml reagen biuret dan di ad kan 10 ml aquadest dalam labu ukur 10 ml sampai tanda batas, diperoleh konsentrasi 1000 ppm, kemudian divortex dan diinkubasi pada *operating time* yang diperoleh, discanning dengan spektrofotometri UV pada panjang gelombang 400-800 nm.

Pembuatan Kurva Standar

Pembuatan kurva standar untuk menentukan persamaan regresi linier, dengan menggunakan BSA (*Bovin Serum Albumin*) sebagai baku standar. Dilakukan dengan disiapkan enam labu takar ukuran 10 ml, selanjutnya tabung pertama diisi dengan larutan blanko (pelarut). Pada tabung yang lain diisi dengan konsentrasi BSA (ppm) 1000, 1200, 1400, 1600, dan 1800 ppm dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum setelah diinkubasi sesuai *operating time* dan dibuat kurva sehingga didapatkan persamaan linier.

Penetapan Kadar Sampel Menggunakan Uji Difusi Franz

Uji *in vitro* dilakukan dengan sel difusi Franz dan di lakukan penyiapan kulit tikus. Alasan digunakan kulit tikus sebagai membran adalah kulit tersebut lebih mudah didapat dibandingkan kulit manusia dan memiliki permeabilitas yang mirip dengan manusia sebesar 92,27 cm/jam x 10⁵, sedangkan kulit tikus yang sudah dicukur bulunya memiliki koefisien permeabilitas sebesar 103,08 cm/jam x 10⁵(10). Tikus dikorbankan, diambil kulit punggungnya

digunakan sebagai model membran. Lemak pada lapisan kulitnya dihilangkan, dipotong bentuk bulat dengan ukuran diameter sesuai dengan ukuran sel difusi. Kulit yang sudah dipotong dan dibentuk, lalu direndam dalam larutan dapar fosfat pada pH 7,4 untuk proses hidrasi selama 1 jam⁽¹¹⁾.

Potongan kulit dipasang di antara kompartemen donor dan reseptor. Stratum corneum-nya menghadap ke kompartemen reseptor diisi 13,0 mL larutan dapar fosfat pH 7,4 dan komponen donor diisi 2 gram salep fase air ekstrak ikan gabus dan madu kelulut. Pengadukan dilakukan di kompartemen reseptor dengan kecepatan 1500 rpm dan suhu dipertahankan pada 37°C. Suhu ini mirip dengan suhu tubuh normal manusia. Suhu harus dijaga konstan karena perubahan suhu akan mempengaruhi penetrasi zat aktif dari sediaan tersebut. Semakin tinggi suhu, maka akan semakin cepat dan semakin banyak zat aktif yang masuk ke dalam kompartemen reseptor karena membran kulit menjadi lebih permeabel. Kecepatan 1500 rpm digunakan karena dianggap kecepatan yang sesuai untuk mempercepat proses homogenisasi dari zat yang terpenetrasi ke dalam cairan pada kompartemen reseptor. Perbedaan kecepatan pengadukan akan mempengaruhi analisis hasil penetrasi. Pengadukan berkecepatan tinggi menjadikan larutan cepat homogen dibandingkan kecepatan rendah. Oleh karena itu, kecepatan pengadukan harus dijaga agar tetap konstan. Sampel larutan di kompartemen reseptor diambil 1 mL setelah 1 jam, 3 jam, 6 jam, 9 jam, 12 jam, 15 jam, 18 jam, 21 jam dan 24 jam. Volume sampel yang diambil 1 mL tiap kali pengambilan dan volume yang diambil diganti dengan larutan dapar fosfat dengan volume 1,4 mL pada jam ke-1 dan mL pada jam ke-3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, dan 24 agar tetap konstan. Sampel yang telah diambil dianalisis menggunakan metode Biuret untuk mendapatkan absorbansi kadar protein.

Analisis Data

Kadar protein dan asam amino yang melewati difusi Franz dari sediaan salep tunggal fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan salep kombinasi fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan madu kelulut

(*Trigona Sp.*) kemudian dibuat grafik kadar protein terhadap waktu, yang selanjutnya akan ditetapkan jumlah kumulatif dan nilai fluks menggunakan analisis deskriptif yang akan ditampilkan dalam bentuk grafik.

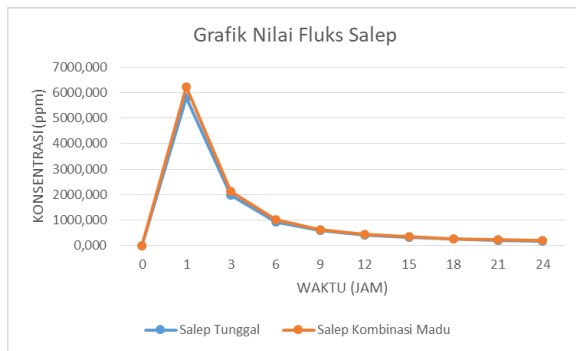
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji penetrasi sel difusi franz dilakukan dengan cara pengambilan sampel penetrasi dari tiap jam yang ditentukan sampai waktu pengambilan sampel yang diinginkan. Hasil yang diperoleh dari kedua salep berbeda, baik dari jumlah kumulatif yang terpenetrasi dan nilai fluks.

JAM	KONSENTRASI PROTEIN SALEP TUNGGAL ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	KONSENTRASI PROTEIN SALEP KOMBINASI MADU ($\mu\text{g cm}^{-2}$)
0	0	0
1	2188,697	2355,363
3	2061,424	2231,121
6	1952,333	2103,848
9	1855,363	2006,878
12	1776,575	1909,909
15	1706,878	1843,242
18	1652,333	1770,515
21	1615,970	1728,091
24	1582,636	1682,636

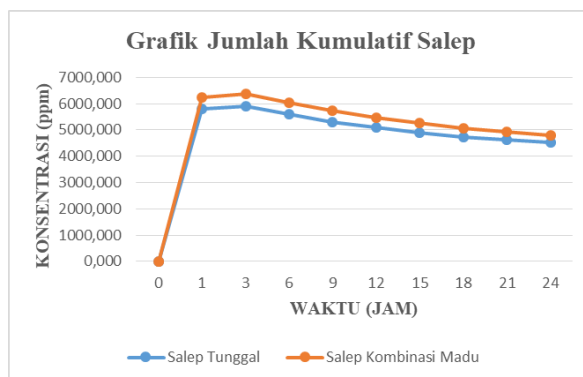
Tabel 1. Konsentrasi Salep dengan Penetrasi

Perbandingan hasil fluks tiap jam dari kedua salep dapat dilihat pada **Gambar 1** dan perbandingan hasil kumulatif tiap jam dapat dilihat pada **Gambar 2**. Hasil uji SPSS yang didapat dari *Independent Sampel T-Test* dan ANOVA menunjukkan nilai signifikansi (2-tailed) adalah 0,207 ($p > 0,05$) sehingga salep tunggal fase air dan salep kombinasi madu tidak mengalami perubahan yang signifikan (berarti). Berdasarkan statistika deskriptif salep tunggal fase air dan salep kombinasi madu terbukti bahwa salep kombinasi madu lebih tinggi, sehingga dapat disimpulkan madu kelulut dapat meningkatkan penetrasi.



Gambar 1. Grafik Nilai Fluks Salep

Hasil yang diperoleh dari salep tanpa madu memiliki jumlah kumulatif terpenetrasi sebesar $4518,476 \mu\text{g cm}^{-2}$, fluks pada jam ke 24 sebesar $188,269 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$, koefisien difusi sebesar $0,0832 \text{ cm}^2/\text{Jam}$, permeabilitas sebesar $0,2773 \text{ cm}/\text{jam}$, waktu lag sebesar $0,1803 \text{ jam}$, dan koefisien partisi sebesar $1,00 \text{ cm}^2 \text{ Jam}$. Hasil yang diperoleh dari salep dengan madu memiliki jumlah kumulatif terpenetrasi sebesar $4806,018 \mu\text{g cm}^{-2}$, fluks pada jam ke 24 sebesar $200,250 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$, koefisien difusi sebesar $0,0519 \text{ cm}^2/\text{Jam}$, permeabilitas sebesar $0,173 \text{ cm}/\text{jam}$, waktu lag sebesar $0,2890 \text{ Jam}$, dan koefisien partisi sebesar $1,00 \text{ cm}^2 \text{ Jam}$.



Gambar 2. Grafik Jumlah Kumulatif Sediaan Salep

Uji penetrasi ini dilakukan dengan cara yaitu dilakukan uji penetrasi dari jam ke-0 sampai dengan jam ke-24. Hasil yang diperoleh dari sediaan salep tunggal dan salep kombinasi madu memiliki jumlah nilai fluks dan kumulatif yang sedikit berbeda. Perbedaan ini mungkin disebabkan karena variasi-variasi dalam uji penetrasi seperti perbedaan membran kulit yang digunakan, dan adanya sedikit kandungan protein didalam madu.

KESIMPULAN

Madu dapat meningkatkan daya penetrasi dimana salep kombinasi madu memiliki nilai fluks lebih besar ($200,250 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) pada jam ke-24 dibandingkan salep tunggal memiliki nilai fluks lebih kecil ($188,269 \mu\text{g cm}^{-2} \text{jam}^{-1}$) pada jam ke-24. Hasil analisis menunjukkan bahwa kelompok memberikan hasil yang tidak berbeda signifikan.

DAFTAR RUJUKAN

1. Purnama H, Sriwidodo, Ratnawulan S. Review Sistematis: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka. *Jurnal Farmaka*; 15(2): h. 251-258.
2. Fitriyani E, dan Deviarni IM. Pemanfaatan Ekstrak Albumin Ikan Gabus (*Channa striata*) sebagai Bahan Dasar Cream Penyembuh Luka. *Vokasi*. 2013;9(3): h.166-167.
3. Sugiyono, Hernani Y, Mufrod. Formulasi Salep Ekstrak Air Tokek (*Gekko gekko* L.) untuk Penyembuhan Luka. *Jurnal Media Farmasi Indonesia*; 11(2): h. 1093-1106.
4. Dewi M.A, Kartasasmita R.E, Wibowo M.S. Uji Aktivitas Antibakteri Beberapa Madu Asli Lebah Asal Indonesia Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2017; 5(1).
5. Ma'ruf M, Mawaddah G.A, Eriana N.N.A, Swari F.I, Aslamiah S, Lutpiatina L. Madu Lebah Kelulut (*Trigona* Spp.) dalam Aktifitas Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Resisten. *Jurnal Skala Kesehatan*. Januari 2018; 9(1): E-ISSN: 2615 - 2126, P-ISSN: 2087 – 152X.
6. Ma'ruf M, Mawaddah GA, Eriana NNA, Swari FI, Aslamiah S, Lutpiatina L. Madu Lebah Kelulut (*Trigona* Spp.) dalam Aktifitas Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Resisten. *Jurnal Skala Kesehatan*. Januari 2018; 9 (1): ISSN: 2615 - 2126, P-ISSN: 2087 – 152X.
7. Al-Qassem, R., and Robinson, R. K., 2003, Some special nutritional properties of honey – a brief review, *Nutrition & Food Science*, Vol 33, 254-260.
8. Sari A, Maulidya A. Formulasi Sediaan

- Salep Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* Linn). SEL. Juli 2016; 3(1): h.17.
9. Anief M. Farmasetika. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 2007.
 10. Wahyuningrum C, Djajadisastra J, Iswandana R. Uji Aktivitas Antioksidan, Stabilitas Fisik dan Pengaruh Konsentrasi Dimetikon dan Siklometikon Terhadap Daya Penetrasi Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) pada Krim Antikerut. Fakultas Farmasi. Universitas Indonesia.
 11. Damayanti RA, Yuwono T. Dimetilsulfoksid sebagai Enhancer Transpor Transdermal Teofilin Sediaan Gel. Jurnal Ilmiah Kefarmasian. 2013; 3(1): h. 61-69.