

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi Biota Laut Spons Petrosia

Determinasi biota laut spons dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman. Hasil identifikasi menyatakan bahwasannya biota laut spons tersebut spesies asli yang berasal dari kelas *Demospongiae* dengan nama *Petrosia sp* dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Ekstraksi

Hasil ekstrak spons *petrosia sp* yang didapatkan setelah dibebaskan etanolkan, kemudian dihitung persen rendemen dan didapatkan hasil yang tertera pada table 4. 1

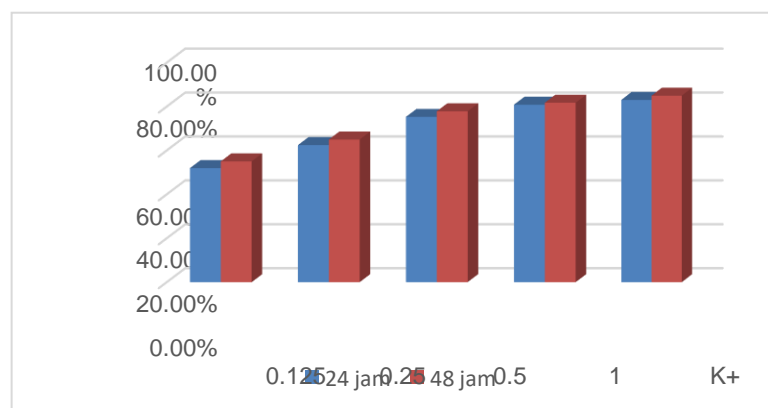
Tabel 4. 1 Hasil Rendemen Ekstrak Spons Petrosia sp

Bobot serbuk simplisia	Bobot Ekstrak Kental	Nilai Rendemen
Gram	120	7,05 %

3. Uji Antibiofilm *Staphylococcus aureus*

Hasil Uji antibiofilm *S. aureus terhadap ekstrak etanol 96% Spons Petrosia sp* dapat dilihat pada Gambar 4.1 fase pertengahan (24 jam) dan Gambar 4.2 Fase pematangan (48 jam)

a. Fase Pertengahan (24 jam) dan Fase Pematangan (48 jam)



Gambar 4. 1 Grafik Presentase penghambatan biofilm fase pertengahan (24 jam) dan fase pematangan (48 jam)

4. Formulasi Nanogel Ekstrak Etanol 96% Spons *Petrosia sp.*

Nanoemulgel dibuat dengan memakai teknik inkorporasi gel serta nanoemulsi. Pembuatan nanoemulgel atas tiga proses, yakni membuat nanoemulsi, basis gel, beserta inkorporasi nanoemulsi pada basis gel.

Tabel 4. 2 Komposisi Formula Nanoemulsi

Bahan	Konsentrasi
Ekstrak Etanol <i>Petrosia sp.</i>	1%
VCO	1%
Tween 80	7%
PEG 400	2%
Aquades	Ad 100

Tabel 4. 3 Komposisi Basis Gel

Bahan	Konsentrasi (%)
Karbopol 940	1
Gliserin	5
Metil Paraben	0,2
Aquades	ad 100

Tabel 4. 4 Inkorporasi Nanoemulsi kedalam Basis Gel

Bahan	Konsentrasi (%)		
	F1	F2	F3
Nanoemulsi	25	20	15
Basis Gel	75	80	85

1. Uji Organoleptis

Tabel 4. 5 Hasil Uji Organoleptis formulasi nanogel spons petrosia sp.

Tekstur	Konsistensi	Warna	Bau
halus	Homogen	Bening	Khas spons

2. Uji pH dan Homogenitas

Hasil uji pH dan hasil uji homogenitas nanogel ekstrak spons *petrosia sp.* Bisa diketahui pada table 4.6.

Tabel 4. 6 Hasil Uji pH dan Homogenitas

Ph	Homogenitas
5	Homogen

3. Uji Daya Lekat

Perolehan pengamatan uji daya lekat sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp.* Pada 0,5 gr didapatkan selama 7 detik.

4. Uji Daya Sebar

Perolehan uji daya sebar formulasi nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp.* Bisa diketahui pada table 4.7.

Tabel 4. 7 Hasil uji daya sebar formulasi nanogel ekstrak spons *petrosia sp.*

Berat beban	Vertical	Horizontal
0 gr	5 cm	5,3 cm
50 gr	5,5 cm	5,7 cm
100 gr	6 cm	6,2 cm
150 gr	6,6 cm	6,7 cm

5. Uji Viskositas

Pada uji viskositas dilakukan dengan menggunakan jarum spindel nomor 6 dan didapatkan hasil 312,3 Poise.

6. Uji Pra-Klinik

Pada uji pra-klinik dilakukan pengamatan pengaruh pemberian sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp.* Terhadap *foot* ulkus diabetikum pada mencit Jantan dengan menggunakan kontrol positif salep kloramfenikol. Hasil data kadar glukosa pada mencit yang didapatkan sebelum serta setelah induksi aloksan dapat dilihat pada table 4.7.

a. Kadar glukosa pada mencit

Tabel 4. 8 Kadar glukosa pada mencit

kelompok perlakuan	sebelum perlakuan		setelah perlakuan	
	BB/gr	kadar glukosa mg/dl	BB/gr	kadar glukosa mg/dl
K(+)	24 g	41 mg/dl	26 g	313 mg/dl
Formulasi nanogel ekstrak spons <i>petrosia sp</i>	26 g	48 mg/dl	27 g	340 mg/dl

Keterangan :

K(+) = Perlakuan kloramfenikol salep

b. Uji penghambatan biofilm *foot* ulkus diabetikum padamencit

Hasil uji didapatkan lama waktu pada tahapan luka biofilm *Staphylococcus aureus* pada ulkus diabetikum terhadap mencit bisa diketahui pada table 4.7 dan gambar 4.3.

Tabel 4. 9 Uji penghambatan biofilm *foot* ulkus diabetikum padamencit

	Tahapan Luka (Hari)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
K(+)	●●	●*	●*+	●+	●+	++	++	√		
F1	●*	●*	●*+	●+	●+	●+	●+	++	++	√

Keterangan :

● Eritema, fase pertengahan (24 jam)

* Penyebaran luka, terdapat cairan (pigmen kuning), fase pematangan (48 jam)

+ : Luka mulai kering, fase penghambatan Luka menutup dan kering

√ : Luka menutup dan kering



Gambar 4. 2 Uji penghambatan biofilm foot ulkus diabetikum pada mencit

B. Pembahasan

1. Uji Antibiofilm *Staphylococcus aureus*

Pada uji biofilm ini yaitu untuk menentukan $MBIC_{50}$ dari ekstrak spons *petrosia sp* terhadap pembentukan bakteri *S. aureus* dengan menggunakan pembacaan *Optical Density* (OD) yang dilakukan pada Panjang gelombang 620 nm. Kemudian, data yang telah didapatkan hasil dari analisis penghambatan biofilm yaitu berupa nilai OD dari masing-masing konsentrasi senyawa yang diujikan maupun kontrol tanpa adanya senyawa uji yang diperoleh dari pembacaan *microplate reader*.

Hasil dari uji biofilm bakteri *S. aureus* dengan ekstrak spons *petrosia sp* menunjukkan adanya penurunan pertumbuhan biofilm bakteri *S.aureus* dengan peningkatan konsentrasi ekstrak spons *petrosia sp* yang digunakan. Penurunan pertumbuhan biofilm dapat diketahui dari adanya penurunan nilai OD seiring dengan adanya peningkatan konsentrasi ekstrak. Nilai OD tertinggi dapat dilihat pada konsentrasi 1% sebesar 80,81% yang terjadi pada fase pertengahan atau 24 jam dan pada fase pematangan atau 48 jam adalah sebesar 81,72%.

Berdasarkan hasil uji antibiofilm diatas didapatkan bahwa semua konsentrasi yang diuji adalah 1%, 0,05%, 0,25%, 0,125% dan kontrol positif menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan biofilm bakteri *S.aureus*. Hasil uji aktivitas antibiofilm ekstrak spons *petrosia sp* bisa dilihat pada gambar 4.1 Konsentrasi ekstrak 1% menunjukkan adanya aktivitas penghambatan tertinggi yaitu 80,81% pada fase pertengahan dan 81,72% pada fase pematangan, hal ini sesuai dengan penelitian nandi & setiawan (2021) dimana pada fase pematangan biofilm lebih sukar ditembus dibandingkan pada fase pertengahan dikarenakan pada fase pematangan ini agen antimikroba akan lebih kesulitan untuk menembus pertahanan biofilm. Menurut Famuid dkk (2019), ekstrak yang digolongkan memiliki aktivitas antibiofilm yang tinggi ialah apabila presentasinya $\geq 50\%$, sedangkan presentase 0-49% dikategorikan dengan aktivitas antibiofilm yang lemah. Selain itu, menurut Hamzah dkk (2021) menyatakan bahwa konsentrasi sampel uji yang dapat menghambat paling tidak adalah sebesar 50% terhadap pembentukan biofilm dan dinyatakan sebagai *Minimal Biofilm Inhibition Concentration* 50 ($MBIC_{50}$). Maka diketahui dari hasil yang didapatkan oleh peneliti ekstrak spons *petrosia sp* memiliki aktivitas antibiofilm yang tinggi dalam menghambat pertumbuhan biofilm *S. aureus* dan $MBIC_{50}$ dari uji penghambatan pembentukan biofilm ini ada dikonsentrasi.

2. Formulasi Sediaan Nannogel Ekstrak Etanol 96% Spons *Petrosia sp*

Pada penelitian ini untuk mendapatkan hasil terbaik dalam pembuatan formulasi nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp* menggunakan konsentrasi 1% mengapa demikian, karena konsentrasi 1% mempunyai penghambatan antibiofilm serta antibakteri tertinggi.

Pembuatan sediaan nanogel dengan cara inkorporasi nanoemulsi pada basis gel dengan 3 formula dimana F1 memiliki stabilitas yang baik. Nanoemulsi yang dibuat mempergunakan teknik emulsifikasi energi rendah karena emulsi otomatis terbentuk karena adanya fase

minyak serta air mempergunakan *magnetic stirrer* dengan suhu 45°C dan 250 rpm selama 2 jam. Viskositas nanoemulsi yang rendah bisa membatasi penetrasi zat aktif melewati kulit. Dengan demikian inkorporasi nano emulsi dalam matriks hydrogel yang dinamakan system nanoemulgel dibutuhkan dalam mengatasi perihal tersebut.

Nanoemulgel bisa memperpanjangnya waktu kontak sediaan pada kulit. Sehingga bisa mengatasi keterbatasan aplikasi nanoemulsi yang mempunyai kecenderungan untuk mengalir dikarenakan rendahnya viskositas.

3. Uji Organoleptis

Hasil uji organoleptis formulasi nanogel ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* menunjukkan formulasi yang dibuat stabil homogen (tidak memisah) pada penyimpanan dengan suhu ruangan selama 7 hari pengamatan. Dapat dilihat pada table 4.4

4. Uji pH dan Homogenitas

Pengukuran pH dilaksanakan selaku parameter sifat fisikokimia dari suatu zat yang penting pada suatu sediaan nanogel karena berkaitan dengan efektivitas zat aktif. Hasil uji pH formulasi sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* terdapat pada pH 5 dengan menggunakan indikator pH universal. Uji pH tersebut dilakukan untuk mengetahui sifat dari formulasi sediaan dalam mengiritasi kulit. Sediaan nanogel yang digunakan untuk mengaplikasikan pada kulit memiliki nilai pH antara 4,5 sampai 6,5 (Naibaho dkk, 2013)

Uji homogenitas bertujuan untuk mengetahui homogenitas pada sediaan nanogel yang dibuat tercampur merata antara basis gel dan nanoemulsi. Hasil uji homogenitas formulasi sediaan ekstrak etanol 96% spons *Petrosia sp* menunjukkan hasil yang homogen atau tidak memisah yang dioleskan pada kaca objek, dapat dilihat pada Lampiran

5. Uji Daya Lekat

Perolehan pada observasi uji daya lekat sediaan nanogel ekstrak

spons *petrosia sp* didapatkan hasil selama 7 detik. Uji daya lekat ini dilaksanakan supaya melihat waktu yang diperlukan oleh gel supaya melekat pada kulit. Syarat uji daya lekat yang tidak baik kurang dari 4 detik.

6. Uji Daya Sebar

Hasil pengamatan uji daya sebar dengan berat 0 gr, 50 gr, 100 gr, dan 150 gr dapat dilihat pada table 4.6. Parameter daya sebar yang baik adalah 5-7 cm. Uji daya sebar dilaksanakan guna melihatnya daya penyebaran nanogel pada kulit, dimana suatu basis gel yang baik mempunyai daya sebar yang baik dalam menjamin pemberian obat yang memuaskan.

7. Uji Viskositas

Pengujian viskositas formulasi sediaan nanogel ekstrak etanol 96% spons *petrosia sp* menggunakan jarum spindel no 6 dengan hasil 312,3 *Poise* pada alat viskotester. Hasil tersebut menunjukkan bahwa viskositas pada nanogel ekstrak spons memiliki viskositas yang baik dan memenuhi persyaratan. Pengujian viskositas ini bertujuan untuk mengetahui daya alir atau kekentalan pada suatu zat cair atau semi padat.

8. Uji Praklinik

a. Induksi Aloksan pada mencit

Pada uji pra klinik induksi diabetes pada mencit menggunakan metode induksi aloksan dengan dosis tinggi yakni 100 mg/kg BB yang dikonversikan dengan berat badan mencit (mg) menjadi 9,08 mg/0,5cc secara intraperitoneal. Aloksan dipilih sebagai diabetogen pada penelitian ini karena aloksan pada tubuh mengoksidasi reduksi menghasilkannya radikal bebas dan radikal aloksan yg menyebabkan sel beta pancreas mengalami kerusakan. Sehingga menyebabkan insulin dependent diabetes melitus atau alloxan diabetes pada hewan percobaan.

Proses aloksan menginduksi respon glukosa secara selektif ditunjukkan dalam beberapa fase yaitu perubahan terbalik

konsentrasi insulin, perubahan sel beta secara structural dilanjutkan dengan nekrosinya sel beta pancreas. Tahapan awal yang muncul pada hewan uji mencit dimenit-menit awal paska injeksi aloksan adalah hipoglikemik sementara yang berlangsung maksimal 30 menit. Hal ini terjadi akibat adanya respon insulin sementara karena penghambatan fosforilasi glukosa melalui penghambatan glucokinase (Rohilla & Ali, 2012).

Fase kedua ialah saat terjadinya kenaikan kadar glukosa darah setelah 1 jam penginduksian aloksan. Selain itu, Konsentrasi insulin plasma juga menurun pada saat yang sama. Fase ini merupakan fase hiperglikemi pertama setelah sel beta kontak dengan aloksan yang berlangsung selama 24 jam. Proses ini terjadi akibat adanya toksisitas aloksan (Rohilla & Ali,2012).

Fase ketiga merupakan fase hiperglikemik yang terjadi pada 4-8 jam kemudian dan bisa berlangsung beberapa jam. Proses ini terjadi akibat adanya aloksan yang menghancurkan organela sel seperti badan golgi mikrondria sehingga membrane sel beta pancreas rupture. Fase keempat ialah fase hiperglikemik permanen dimana setelah 24-48 jam kemudian (Rohilla & Ali,2012).

Diabetes tipe ini mempunyai karakter seperti diabetes tipe 1 pada manusia, sehingga menghasilkannya kondisi diabetes eksperimental (efek diabetogonik) pada hewan percobaan.

Pemilihan dosis tinggi pada pemberian aloksan diharapkan agar sel-sel beta Langerhans masih bisa memproduksi. Selanjutnya aloksan dilarutkan dengan NaCl 0,9% lalu diinduksikan kemencit melalui intrapetoneal yang telah dipuasakan.

Pengecekan kadar gula darah mencit 5 hari setelah dilakukan penginduksian aloksan pada hewan uji mencit, yang mana kadar glukosa darah meningkat ≥ 140 mg/dL.

b. Uji penghambatan biofilm foot ulkus diabetikum pada mencit

Uji penghambatan biofilm ulkus diabetikum terhadap formulasi

sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* menggunakan hewan uji berupa mencit yang telah diinduksikan aloksan dan telah dinyatakan hiperglikemia. Bulu mencit dicukur pada bagian paha untuk diberi luka sayat sepanjang 0,5 cm. Setelah diberikan luka sayat kemudian ditempelkan bakteri *S. aureus* dengan pengamatan 1x24 jam fase pertengahan pembentukan biofilm pada bakteri dan diamati Kembali pada 1 x 48 jam pada fase pematangan bakteri. Setelah itu dilakukan pengolesan sediaan uji (nanogel ekstrak spons *petrosia sp*).

Tahapan hasil pengamatan luka pada hewan uji mencit menunjukkan adanya eritema pada hari pertama awal sayatan hingga pelekatan bakteri, hasil pengamatan 1 x 24 jam setelah pelekatan bakteri pada luka masih menunjukkan adanya eritema, pada pengamatan 1 x 48 jam menunjukkan fase pematangan bakteri yang menimbulkan penyebaran disertai keluarnya cairan pada luka. Pada fase pematangan ini, nanogel ekstrak spons *petrosia sp* ini dioleskan dengan melihat pengaruh penghambatan bakteri. Dilakukan 2 x sehari hingga luka menutup dan kering dengan indicator tidak adanya eritema disertai keluarnya cairan pada luka dan penyebaran luka oleh bakteri.

Pembuatan kontrol positif yang dipakai terhadap penelitian ini ialah salep kloramfenikol untuk melihat pengaruh nanogel ekstrak spons *petrosia sp* terhadap luka ulkus diabetikum pada hari ke 5 setelah pengolesan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* menunjukkan tidak adanya penyebaran disertai keluarnya cairan pada luka oleh bakteri, hingga pengamatan ke 10 hari luka telah menutup dan kering

Infeksi pada ulkus diabetikum terjadi karena ulserasi. Kaki ialah lokasi yang rumit karena mempunyai banyak kompartemen yang saling berhubungan dan mempunyai banyaknya jaringan lunak yang mudah terkena infeksi. Infeksi bisa menyebar secara Inter-kompartemen (Nair et al.,2022)

Menurut International *Working Group on the Diabetic Foot* (2015), *S. aureus* ialah bakteri yang biasanya terdapat pada perolehan kultur ulkus diabetikum (Lipsky et al, 2015). Kemampuan *S. aureus* untuk mengakibatkan ulkus diabetikum dijelaskan pada beberapa faktor virulensinya misalnya toksin yang memiliki peran penting. Toksin ini mencakup *pore-forming toxins* (PFT), *exfoliatins*, *superantigen exotoxins* (SAg) dan *epidermalcell differentiation inhibitors* (EDIN) (Remy Dunyachet al, 2016).

Menurut Argamula (2008), mengemukakan bahwasanya proses penutupan luka setelah keropeng terlepas. Perihal tersebut memperlihatkan adanya perkembangan sel baru dan tepi luka yang rapat. Proses pelepasan keropeng yang mana jaringan dibawah sudah mengering serta tepitepi luka tertarik ketengah.

Dari peroleh penelitian ini, pemberian sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* dengan yang diperlukan dengan mengoles 2 x sehari dibagian luka pada jam 7 pagi dan jam 5 sore menggunakan salep kloramfenikol sebagai kontrol positif. Perolehan penelitian ini menunjukkan bahwa dengan sediaan nanogel ekstrak spons *petrosia sp* mampu menyembuhkan luka ulkus diabetikum pada mencit. Hal ini dikarenakan spons *petrosia sp* memiliki kandungan senyawa bioaktif sebanyak 50% sebagai antibakteri.

C. Keterbatasan Penelitian

Berdasarkan proses penelitian yang berjalan kurang lebih 5 bulan, terdapat beberapa hal yang menjadi kendala sehingga proses penelitian ini tidak berlangsung selaras dengan jadwal yang sudah dibuat, salah satunya yaitu dalam pembuatan formulasi nanogel ekstrak spons *petrosia sp* yang tidak mudah karena diperlukan ketelitian. Serta pencarian bahan zat aktif dalam formulasi yang jauh berada dipulau Maratua.