

## Uji Stabilitas Protein Salep Kombinasi Ikan Gabus (*Channa striata*) dan Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle L.*) Menggunakan Metode Kjeldahl

### (Stability Test of Ointment Protein Combination Snakehead Fish (*Channa striata*) and Ethanol Extract Leaves (*Piper betle L.*) Using Kjeldahl Method)

MOHAMAD ANDRIE\*, WINTARI TAURINA, MAYA WIDYA ASTUTI WULANDARI

Fakultas Farmasi, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia.

Diterima 3 Desember 2019, Disetujui 30 Agustus 2021

**Abstrak:** Ikan gabus (*Channa striata*) secara endemik dipercaya dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Daun sirih hijau (*Piper betle L.*) memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Penyembuhan luka membutuhkan kondisi yang lembab dan kontak obat yang lebih lama. Salep merupakan sediaan berbahan dasar lemak serta dapat melembabkan kulit atau area luka karena kontak yang lebih lama terhadap kulit sehingga absorbansi dan efektivitasnya meningkat. Konsentrat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dengan cara menghilangkan lemak dan air, sehingga menghasilkan konsentrat protein yang tinggi. *Freeze drying* merupakan salah satu metode yang dapat digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui stabilitas kadar protein dalam sediaan salep kombinasi *freeze dry* ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle L.*) menggunakan metode Kjeldahl. Data dianalisis menggunakan aplikasi SPSS versi 25. Terdapat perbedaan signifikan kadar protein salep *freeze dry* dengan salep kombinasi *freeze dry* fase air dan ekstrak etanol daun sirih hijau dengan rata-rata kadar protein pada hari ke 28 adalah 6,321% dan 6,630%, sehingga dapat disimpulkan salep kombinasi *freeze dry* fase air dan ekstrak etanol daun sirih hijau lebih stabil dengan kadar protein yang lebih tinggi dibanding salep *freeze dry* ekstrak ikan gabus.

**Kata kunci:** ikan gabus, sirih hijau, *freeze dry*, salep, metode Kjeldahl.

**Abstract:** The endemic snakehead fish (*Channa striata*) supposed to speed up wound healing. Antibacterial properties of green betel leaf (*Piper betle L.*) are well known. Wound healing necessitates moist circumstances and prolonged medication contact. Such the fact that ointment fat-based preparation that can moisturize skin or wound area due to extended contact with the skin, increasing absorbance and effectiveness. Fish protein concentrate high-protein concentrate obtained by eliminating fat and water from fish. One way that can used is freeze drying. Using Kjeldahl method, this study intends investigate protein stability of combination freeze dry ointment extract of snakehead fish (*Channa striata*) and ethanol extract green betel leaf (*Piper betle L.*). The data was analyzed using the SPSS version 25 app. On day 28, average protein content of freeze dry ointment and a combination of freeze dry ointment in aqueous phase and ethanol extract of green betel leaf was 6.321 % and 6.630 %, respectively, indicating substantial difference in protein content. As result, the freeze dry ointment including aqueous phase and ethanol extract of green betel leaf more stable and has larger protein content than the freeze dry ointment containing snakehead fish extract.

**Keywords:** snakehead fish, green betel leaf, freeze dry, ointment, Kjeldahl method.

---

\*Penulis korespondensi:

Email: andrie@pharm.untan.ac.id

## PENDAHULUAN

IKAN gabus (*Channa striata*) merupakan salah satu jenis ikan buas yang hidup di air tawar maupun air payau yang banyak ditemui di sungai, rawa, danau dan saluran-saluran air hingga ke sawah-sawah<sup>(1)</sup>. Popularitas ikan gabus (*Channa striata*) sebagai agen terapeutik yaitu berkaitan dengan kepercayaan masyarakat akan khasiatnya dalam mengobati luka, mengurangi rasa sakit, memulihkan energi pada orang tua dan pemulihan diri dari persalinan normal atau operasi<sup>(2)</sup>.

Kadar protein ikan gabus mencapai 25,5% dibandingkan protein ikan lainnya, albumin ikan gabus cukup tinggi mencapai 6,22% dan daging ikan gabus mengandung mineral seng dengan kadar 1,74 mg/100 gram<sup>(2)</sup>. Penelitian sebelumnya membuktikan salep kombinasi fase air-minyak ekstrak ikan gabus 10% memiliki efektivitas penyembuhan luka akut stadium II terbuka dengan nilai AUC 874,901% x hari<sup>(3)</sup>. Pemanfaatan hasil samping berbasis protein terus dikembangkan, salah satunya adalah konsentrat protein ikan (KPI). Konsentrat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dengan cara menghilangkan lemak dan air, sehingga menghasilkan konsentrat protein yang tinggi<sup>(4)</sup>.

*Freeze drying* merupakan salah satu metode yang dapat digunakan. *Freeze drying* dapat menghasilkan produk dengan mutu relatif lebih tinggi dibandingkan dengan pengeringan lain. Hasil produk dari *freeze drying* memiliki struktur yang kaku akibat proses sublimasi, sehingga tidak mengerut pada saat kering, dan saat rehidrasi kondisinya sama dengan bentuk segarnya<sup>(5)</sup>. Penelitian sebelumnya membuktikan pengeringan dengan menggunakan metode *freeze dryer* terlihat bahwa pengeringan pada hari pertama dan kedua kandungan protein sampel yang dihasilkan mengalami kenaikan yaitu hari pertama sebesar 4,11% dan hari kedua 4,42%<sup>(6)</sup>.

Daun sirih hijau digunakan dalam pengobatan tradisional sebagai obat kumur, penyegar mulut, pengobatan luka, antibakteri, antijamur, antioksidan, dan mengurangi pembentukan plak gigi<sup>(7)</sup>. Daun sirih merupakan bahan alam yang memiliki kandungan aktif seperti tanin, minyak atsiri, flavonoid, dan fenol yang mempunyai kemampuan untuk membantu proses penyembuhan luka<sup>(8)</sup>. Daun sirih hijau juga mengandung saponin yang memacu pembentukan kolagen, yaitu protein struktur yang berperan dalam proses reepitelisasi<sup>(9)</sup>. Daya antibakteri minyak atsiri daun sirih hijau disebabkan kandungan senyawa fenol dan turunannya yang dapat mendenaturasi protein

sel bakteri<sup>(10)</sup>. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran sitoplasma mengalami lisis<sup>(11)</sup>. Hasil penelitian sebelumnya uji aktivitas antibakteri terhadap salep ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi 5% menunjukkan konsentrasi sebanding dengan kontrol positif (gentamicin), dengan indikasi lama kesembuhan luka tidak berbeda signifikan yaitu sebesar  $6,00 \pm 0,71$  hari<sup>(12)</sup>.

Berdasarkan aktivitas yang dimiliki ikan gabus (*Channa striata*) sebagai agen penyembuh luka maka perlu ditambahkan antibakteri alami yang diharapkan dapat meningkatkan efektivitasnya, salah satunya adalah antibakteri alami dari tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) yang dikembangkan menjadi suatu sediaan farmasi untuk meningkatkan penggunaannya dalam bentuk sediaan salep kombinasi. Namun, tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki kandungan senyawa fenol yang menurut literatur dapat mendenaturasi protein<sup>(10)</sup>. Sehingga perlu dilakukan uji stabilitas kadar protein ikan gabus (*Channa striata*) yang dikombinasikan dengan tanaman sirih hijau dalam sediaan salep, didukung dengan kelebihan salep dibanding bentuk sediaan lain, dimana salep merupakan sediaan berbahan dasar lemak serta dapat melembabkan kulit atau area luka karena konaknya yang lebih lama terhadap kulit sehingga absorpsinya dan efektivitasnya meningkat<sup>(13)</sup>.

Salep merupakan sediaan farmasi yang sering digunakan untuk penyembuhan luka. Salep merupakan sediaan semisolid berbahan dasar lemak ditujukan untuk kulit dan mukosa. Salep digunakan untuk pengobatan lokal pada kulit, melindungi kulit pada luka agar tidak terinfeksi serta dapat melembabkan kulit<sup>(13)</sup>.

Ketidastabilan suatu sediaan farmasi dapat dideteksi melalui perubahan sifat fisika, kimia serta penampilan dari suatu sediaan farmasi. Besarnya perubahan kimia sediaan farmasi ditentukan dari laju penguraian obat melalui hubungan antara ada atau tidaknya penurunan kadar obat<sup>(14)</sup>. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas kadar protein dalam sediaan salep kombinasi *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.). Untuk menguji protein dalam sediaan salep kombinasi dilakukan uji penetapan kadar terhadap protein menggunakan metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl digunakan untuk menganalisis kadar protein kasar dalam bahan makanan secara tidak langsung, karena yang dianalisis dengan uji ini adalah kadar nitrogennya<sup>(15)</sup>.

## BAHAN DAN METODE

**BAHAN.** Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, terbagi menjadi beberapa kelompok, antara lain bahan untuk ekstraksi seperti simplisia daun sirih hijau dan etanol 96%. Bahan pembuatan sediaan salep yakni ekstrak daun sirih hijau, adeps lanae (Brataco®), dimethyloldimethyl hydantoin (Clorogreen®), metil paraben, dan propil paraben. Bahan dalam analisis seperti asam borat p.a (Merck®), asam klorida p.a (Merck®), asam sulfat pekat p.a (Merck®), aquadest, natrium hidroksida p.a (Merck®), copper (II) sulfat p.a (Merck®), natrium sulfat p.a (Merck®).

**Alat.** Alat yang digunakan dalam penelitian ini, terbagi menjadi beberapa kelompok, antara lain alat pembuatan ekstrak ikan gabus seperti panci yang telah dimodifikasi, spatula, termometer dan kompor. Alat pembuatan sediaan seperti seperangkat alat gelas, penangas air (Memmert®), timbangan analitik (Precisa), sudip, sendok tanduk, wrapping plastic, mortir, stamper, dan pot salep. Alat yang digunakan dalam analisis seperti seperangkat alat Kjeldahl (Buchi).

**METODE. Ekstraksi Ikan Gabus.** Sebanyak 3 kg ikan gabus di bersihkan bagian kepala serta isi perutnya dan dikukus dengan kisaran suhu 60 °C sampai 70 °C di dalam panci selama 30 menit. Kemudian daging ikan gabus di bungkus dengan kain katun dan di masukkan ke dalam alat press hidrolik, dilakukan pengepresan dengan tekanan tinggi untuk mengambil ekstrak fase air ikan gabus. Ekstrak fase air ikan gabus yang telah di dapat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ekstrak fase air ikan gabus disentrifugasi selama 60 menit pada kecepatan 6000 rpm, lapisan atas yang mengandung minyak dipisahkan, dan diambil fase air ekstrak ikan gabus. Fase air ekstrak ikan gabus kemudian di *freeze dry* untuk mendapatkan konsentrat protein murni<sup>(16)</sup>.

**Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau.** Pengolahan daun sirih hijau dilakukan dengan mencuci dengan air yang bersih dan mengalir lalu daun dipisahkan dari batangnya, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dan terlindung dari sinar matahari secara langsung untuk menghindari rusaknya zat kimia yang terkandung dalam simplisia akibat panas sinar matahari<sup>(17,18)</sup>. Tujuan dari pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dalam simplisia sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Selain itu pengeringan juga mencegah terjadinya reaksi enzimatik. Setelah kering daun sirih hijau diserbukkan dengan menggunakan *blender*. Penyerbukan dilakukan untuk memperluas

permukaan simplisia sehingga pelarut dengan mudah menyerap ke dalam simplisia sehingga senyawa aktif yang tertarik lebih maksimal<sup>(17,18)</sup>.

Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia kedalam pelarut etanol 96%, sampai terendam seluruhnya. Perendaman pelarut dilakukan hingga bening dengan pengadukan dan penggantian pelarut selama 3x24 jam, kemudian disaring dengan kertas penyaring. Ekstrak hasil maserasi atau filtrat yang dihasilkan, ditampung dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan panci yang telah dimodifikasi menyerupai *rotary evaporator* pada suhu 40 °C, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung nilai rendemen<sup>(17,18,19)</sup>.

**Pembuatan Salep Kombinasi Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.).** Formula pembuatan salep yaitu:

R/ Fase Air Ikan Gabus	40%
Ekstrak Sirih Hijau	5%
Propil Paraben	0,02%
Metil Paraben	0,18%
DMDM Hidantoin	1%
Propilenglikol	qs
Adeps Lanae	ad 100%

Pembuatan sediaan salep dengan melebur basis disuhu 70 °C, basis kemudian digerus didalam lumpang sambil digerus bersama ekstrak etanol daun sirih hijau hingga homogeny. *Freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus dilarutkan kedalam air dan ditambahkan DMDM Hidantoin. Dilarutkan metil dan propil paraben kedalam propilenglikol. Kemudian campurkan semua bahan satu persatu hingga homogen. Sediaan salep yang telah dibuat diberi label tanggal pembuatan dan disimpan dalam lemari khusus dengan suhu yang terjaga (30 °C dengan kelembaban 75%)<sup>(20)</sup>. Dilakukan pengukuran kadar pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, dan 28 menggunakan metode Kjeldahl<sup>(21,22,23)</sup>.

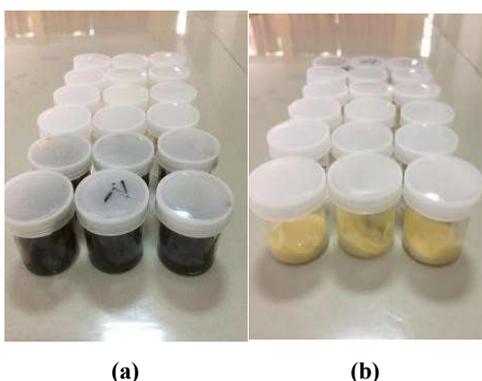
**Analisis Hasil.** Stabilitas kadar protein sediaan salep kemudian diukur pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, 28. Kadar protein kemudian diukur menggunakan metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl terdiri dari 3 tahapan yaitu destruksi, destilasi dan titrasi. Kadar yang didapat kemudian dianalisis menggunakan aplikasi SPSS, kemudian dibandingkan kadar protein dari hari per hari menggunakan *One Way ANOVA*. Kemudian dibandingkan kadar protein pada hari ke 28 untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan signifikan kadar salep *freeze dry* dan salep kombinasi *Freeze dry* ekstrak ikan gabus dan ekstrak etanol daun sirih.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

**Hasil Ekstraksi Ikan Gabus.** Fase air ekstrak ikan gabus yang didapat sebanyak 394 mL. Setelah dilakukan proses *freeze dry* didapat fase air ekstrak ikan gabus yaitu sebanyak 24,6 g.

**Hasil Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau.** Daun sirih hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi. Dan rendemen ekstrak daun sirih yang didapatkan sebanyak 30,632%.

**Pembuatan Salep Kombinasi Fase Air Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.).** Salep yang telah jadi kemudian dimasukkan kedalam lemari dengan suhu dan kelembaban yang terjaga, suhu yang digunakan didalam adalah 30 °C dengan kelembaban 75%. Hasil salep dan tempat penyimpanan salep diperlihatkan pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. (a) Salep kombinasi freeze dry ekstrak ikan gabus dan ekstrak etanol daun sirih, (b) Salep freeze dry ekstrak ikan gabus.



Gambar 2. Lemari penyimpanan salep.

**Hasil Analisis.** Pengujian stabilitas dilakukan untuk melihat kadar pada sediaan salep pada waktu tertentu. Uji stabilitas sediaan salep dilakukan selama 28 hari, dimana kadar protein pada salep diukur pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, 28. Pengujian ini dilakukan untuk melihat stabilitas kadar protein didalam salep. Salep disimpan didalam lemari dengan suhu dan kelembaban yang terjaga (30 °C, 75%).

Pengukuran kadar protein dilakukan menggunakan metode Kjeldahl, dimana metode ini sering digunakan untuk mengukur kadar protein dengan melihat Atom N. Dengan mengalikan hasil analisis tersebut dengan angka konversi 6,25 yang merupakan angka konversi untuk albumin dimana 6,25 setara dengan 0,16 g nitrogen per gram protein<sup>(15)</sup>. Rangkaian alat Kjeldahl diperlihatkan pada Gambar 3.

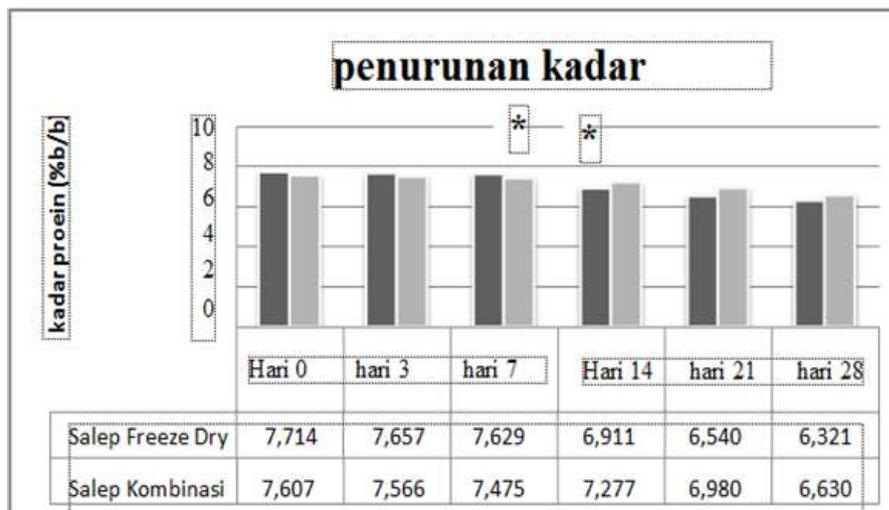


Gambar 3. Rangkaian alat Kjeldahl.

Pada hari ke 28 kadar rata-rata protein dalam salep *freeze dry* adalah 6,321% dan pada salep kombinasi adalah 6,630% dengan selisih perbedaan kadar sebesar 0,309%. Hasil penurunan kadar protein diperlihatkan pada Tabel 1.

Penurunan kadar protein ini diduga dapat disebabkan oleh lamanya penyimpanan dan suhu yang digunakan, menurut hasil penelitian Emingtyas (2006), nilai kadar protein selama penyimpanan pada suhu ruang mengalami penurunan karena mengalami degradasi akibat aktivitas enzim, degradasi proteindari molekul kompleks menjadi molekul-molekul sederhana seperti asam amino, amoniak dan unsur-unsur nitrogen yang lain, senyawa ini pada umumnya mudah menguap sehingga terjadi pengurangan nilai total nitrogen (N) yang terukur pada pengukuran kadar protein<sup>(24)</sup>.

Tabel 1. Grafik penurunan kadar protein.



Keterangan:

Salep FD: salep freeze dry ekstrak ikan gabus.

Salep kombinasi: salep kombinasi freeze dry ekstrak ikan gabus dan ekstrak etanol daun sirih.

tanda (\*) menandakan terjadi penurunan signifikan.

Kadar protein sampel yang sudah diukur menggunakan metode Kjeldahl kemudian dibandingkan hari per hari menggunakan aplikasi SPSS, kemudian dibandingkan kadar pada hari ke-28 untuk melihat perbedaan kadar pada masing-masing sampel. Penerimaan hipotesis jika nilai  $p < 0,05$ , maka  $H_a$  diterima yang artinya ada perbedaan secara signifikan antara kadar protein salep *freeze dry* dan salep kombinasi, dan  $H_0$  ditolak yang artinya tidak ada perbedaan secara signifikan antara kadar protein salep *freeze dry* dan salep kombinasi.

Hasil pengukuran kadar protein didalam salep kemudian diuji menggunakan aplikasi SPSS versi 25. Hasil uji normalitas pada sediaan salep *freeze dry* menunjukkan bahwa data yang didapat terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji Homogeneity of Variances, didapatkan bahwa hasil data kadar protein sediaan salep *freeze dry* adalah homogen 0,061 ( $p > 0,05$ ).

Analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *One Way ANOVA* karena data telah memenuhi syarat yaitu terdistribusi normal dan homogen. Hasil uji parametrik menunjukkan bahwa mulai terjadi penurunan signifikan kadar salep Freeze Dry pada hari ke 14. Penurunan kadar protein ini diduga dapat disebabkan oleh adanya aktivitas mikroorganisme. Menurut hasil penelitian Andayani (2011), semakin lama penyimpanan maka kadar protein semakin menurun, hal ini disebabkan oleh proses proteolitik dan lepolitik menjadi substansi yang bisa dimanfaatkan oleh bakteri misalnya energi, pada mekanisme perubahan tersebut biasanya akan menghasilkan air dan secara otomatis konsentrasi produk protein akan menurun<sup>(25)</sup>.

Hasil uji normalitas pada sediaan salep kombinasi menunjukkan bahwa data yang didapat terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ). Selanjutnya dilakukan uji *Homogeneity of Variances*, didapatkan bahwa hasil data kadar protein sediaan salep kombinasi adalah homogen 0,356 ( $p > 0,05$ ). Analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik yaitu *One Way ANOVA* karena data telah memenuhi syarat yaitu terdistribusi normal dan homogen.

Hasil uji parametrik menunjukkan bahwa mulai terjadi penurunan signifikan kadar salep kombinasi pada hari ke 7. Penurunan kadar protein ini diduga dapat disebabkan oleh lamanya penyimpanan dan suhu yang digunakan. Selanjutnya dilakukan uji *T-test Independent* untuk melihat ada atau tidak perbedaan signifikan pada kadar salep di hari 28. Kadar protein rata-rata salep freeze dry pada hari ke 0 adalah 7,714% sedangkan kadar protein rata-rata salep kombinasi adalah 7,607% dengan selisih kadar protein salep freeze dry dan salep kombinasi pada hari ke 0 adalah 0,107%.

Perbedaan kadar protein pada hari ke 0 ini diduga dapat disebabkan oleh senyawa fenol yang ada didalam ekstrak sirih, yang dapat mempengaruhi kadar protein. Mekanisme antibakteri senyawa fenol dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan

ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel sehingga sel menjadi lisis<sup>(26)</sup>.

Sedangkan pada hari ke 28 kadar rata-rata protein dalam salep *freeze dry* adalah 6,321% dan pada salep kombinasi adalah 6,630% dengan selisih perbedaan kadar sebesar 0,309%. Setelah dilakukan uji T-test Independent terdapat perbedaan signifikan dengan nilai sig-2 tailed <0,05, perbedaan kadar pada hari ke 28 dengan kadar salep kombinasi lebih tinggi daripada salep *freeze dry*. Jika dilihat dari stabilitasnya salep *Freeze dry* mulai mengalami penurunan signifikan di hari ke 14, sedangkan salep kombinasi di hari ke-7. Namun, jika dilihat kadar pada hari ke 28, salep kombinasi lebih mampu mempertahankan kadar protein. Hal ini diduga dapat disebabkan sirih mengandung senyawa tanin yang dapat membentuk ikatan silang yang stabil dengan protein dan biopolimer lain seperti selulosa dan pektin. Bila terikat pada protein, senyawa tanin merupakan penghambat enzim yang kuat sehingga tidak mudah terdegradasi.

Menurut Manitto (1992), senyawa- senyawa tanin sejak dahulu digunakan untuk mengubah kulit hewan menjadi kedap air sehingga menjadi lebih awet (zat penyamak kulit) sehingga peruraian ikatan peptida protein pada ikan oleh enzim proteolitik bakteri akan dihambat<sup>(27)</sup>. Penyebab lainnya diduga karena konsentrasi ekstrak daun sirih yang digunakan dapat meningkatkan efek antibakteri pada salep namun konsentrasinya belum berpengaruh besar terhadap denaturasi protein.

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Kusuma (2010) membuktikan semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sirih yang digunakan maka semakin besar daya hambat antibakterinya<sup>(28)</sup>. Menurut hasil penelitian Pradan (2017) zona hambat minimal bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* terbentuk pada konsentrasi 20% ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.)<sup>(29)</sup>. Pada penelitian Bustanussalam (2015) konsentrasi ekstrak daun sirih yang memiliki efek antibakteri yang paling efektif yaitu pada konsentrasi 25% dengan cara maserasi, sedangkan cara refluks yaitu pada konsentrasi 20%<sup>(30)</sup>.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan kadar rata-rata salep kombinasi *freeze dry* fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) dan ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) pada hari ke 0, 3, 7, 14, 21, 28 adalah masing-masing sebesar 7,607%, 7,566, 7,475%, 7,277%, 6,980%, 6,630% dan terdapat perbedaan signifikan antara

salep kontrol dan salep kombinasi pada hari ke 28 dengan melihat nilai sig-2 tailed <0,05, dimana kadar protein rata-rata salep *freeze dry* pada hari ke 28 sebesar 6,321% sedangkan salep kombinasi sebesar 6,630%. sehingga dapat disimpulkan salep kombinasi *freeze dry* fase air dan ekstrak etanol daun sirih hijau lebih stabil dengan kadar protein yang lebih tinggi dibanding salep *freeze dry* ekstrak ikan gabus.

### DAFTAR PUSTAKA

1. Ulandari, A. D., Kurniawan dan A.S. Putri. Potensi protein ikan gabus dalam mencegah kwashiorkor pada balita di provinsi Jambi. Universitas Jambi. Jambi. 2011. p. 6.
2. Fitriyani, E. dan Deviarni, I.M. Pemanfaatan ekstrak albumin ikan gabus (*Channa striata*) sebagai bahan dasar *cream* penyembuh luka. Jurusan Ilmu Kelautan dan Perikanan, Politeknik Negeri Pontianak. 2013. 09(03):166- 174.
3. Andrie, M. Sihombing, D. Efektivitas sediaan salep yang mengandung ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) pada proses penyembuhan luka akut stadium II terbuka pada tikus jantan galur wistar. Pharm Sci Res ISSN 2407- 2354. 2017. 4(2):88-101.
4. Riewpassa FJ, Santoso J, Trilaksana W. Karakterisasi sifat fungsional kosentrat protein telur ikan cakalang (*Katsuwonus Pelamis*). Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis. 2013. 5(2):299-310.
5. Fitriyani N, Hintono A, Pramono YB. Sifat fungsional *whole egg* hasil *freeze drying* dengan umur telur yang berbeda. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan. 2017. 6(3):1-4.
6. Yulvianti M, Ernayati W, Tarsono, Alfian MR. Pemanfaatan ampas kelapa sebagai bahan baku tepung kelapa tinggi serat dengan metode *freeze drying*. Jurnal Integrasi Proses. 2015. 5(2).
7. Fannani MZ, Nugroho T. Pengaruh salep ekstrak etanol daun sirih (*Piper Betle*) terhadap penyembuhan luka iris pada tikus putih jantan (*Rattus Norvegicus*). JKKI. 2014. 6(1):19-26.
8. Mun'im A, Azizahwati, Fimani A. Pengaruh pemberian infusa daun sirih merah (*Piper cf. fragile*, Benth) secara topikal terhadap penyembuhan luka pada tikus putih diabet. Hibah Awal DRPM Universitas Indonesia. No Kontrak: 2512/H2.R12/PPM.01 SumberPendanaan/2010. Depok: UI; 2010.
9. Vikash C, Shalini T, Verma NK, Singh DP, Chaudhary SK, Asha R. *Piper betle* : phy-tochemistry, traditional use & pharmaco-logical activity- a review. International Journal of Pharmaceutical Research and Development (IJPRD). 2012. 4(4):216-223.
10. Novita W. Uji aktivitas antibakteri fraksi daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus Mutans* secara *in vitro*. JMJ. 2016. 4(2):140- 155.

11. Nadhila NF. The activity of antibacterial agent of honey against *Staphylococcus aureus*. J MAJORITY. 2014. 3(7):94- 101.
12. Vifta RL, Wansyah MAP, Hati AK. Aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2017. 5(2):56-61.
13. Kusumawardhani AD, Kalsum U, Rini IS. Pengaruh sediaan salep ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn.) terhadap jumlah fibroblas luka bakar derajat IIA pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar. Majalah Kesehatan FKUB. 2015. 2(1):16- 28.
14. Umar S, Selfia M, Azhar R. Studi kestabilan fisika dan kimia dispersi padat ketoprofen-urea. Jurnal Farmasi Higea. 2014. 6(2):162- 173.
15. Rosiani H, Rasyid R, Hagramida V. Penetapan kadar protein secara kjeldahl beberapa makanan olahan kerang remis (*Corbiculla moltkiana* Prime.) dari danau singkarak. Jurnal Farmasi Higea. 2015.7(2).
16. Saputro PA, Andrie M, Taurina W. Penetapan kadar protein fase air ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) sebelum dan sesudah *freeze dryer* menggunakan metode kjeldahl. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak; 2018.
17. Orsat V, Raghavan GSV. Dehydration technologies to retain bioactive components. Dalam: Shi J, editor. Functional Food Ingredients and Nutraceuticals: Processing Technologies. Boca Raton: CRC Press; 2006.
18. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2000.
19. Maleta HS, Indrawati R, Limantara L, Brotosudarmo THP. Ragam metode ekstraksi karotenoid dari sumber tumbuhan dalam dekade terakhir (Telaah Literatur). Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan. 2018. 13(1).
20. Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical product. Annex 2 to WHO Technical Report Series No.953. Updated 6 March 2015.
21. Gadri A, Priani SE. Stabilitas kadar dan laju disolusi ketoprofen dalam sediaan kapsul gelatin dan HPMC-karagenan. Jurnal Sains, Teknologi Dan Kesehatan. 2012. 3(1):87- 94.
22. Pamudji JS, Darijanto ST, Rosa S. Formulasi dan evaluasi mikroemulsi minyak dalam air betametason 17- valerat. Acta Pharmaceutica Indonesia. 2012. XXXVII(4):146- 152.
23. Abdassah M, Noviardani T, Levitta J, Suherman SE. Formulasi dan uji stabilitas tetes mata sulfasetamida. IJPST. 2015. 2(1):33-44.
24. Eminingtyas R. Perubahan mutu ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) asap selama penyimpanan. Skripsi. Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. Bogor; 2006.
25. Andayani R, Yenti R, Gustiva W. Pengaruh lama penyimpanan pada suhu kamar dan lemari pendingin terhaap kandungan protein pada dadih kerbau dengan metode kjeldahl. SCIENTIA. 2011. 1(1).
26. Carolina N, Noventi W. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) sebagai alternatif terapi *Acne vulgaris*. MAJORITY. 2016. 5(1).
27. Susilowati, Harningsih. Potensi ekstrak daun salam (*Syzygium polyanthum*) sebagai pengawet pada ikan layur (*Trichiurus* Sp.). Jurnal Kesehatan Kusuma Husada. 2017. 2(2):116-112.
28. Kusuma RBBE. Pengaruh daya antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Streptococcus mutans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta; 2010.
29. Pradana BB. Perbandingan daya hambat konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Bandar Lampung; 2017.
30. Bustanussalam, Apriasi D. Efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Fitofarmaka. 5(2).