

### **BAB III**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **A. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Laboratorium Teknologi Farmasi, Laboratorium Analisis Kimia, dan Laboratorium Bahan Alam Universitas An Nuur. Determinasi dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Uji aktivitas sediaan salep terhadap proses penyembuhan luka sayat pada kelinci dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Setia Budi. Dilakukan pada bulan Februari-September 2023.

##### **B. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan cara pengujian aktivitas salep ekstrak daun jambu air (*Syzygium semarangense*) terhadap penyembuhan luka sayat pada kelinci. Ekstak etanol daun jambu air didapatkan dengan metode meserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, dimana ekstrak kental yang didapatkan diuji kandungan senyawa kimianya. Pembuatan formulasi sediaan salep ekstrak daun jambu air (*Syzygium semarangense*) dengan basis hidrokarbon menggunakan *cera alba* dari tiga formulasi berbeda dengan perbandingan konsentrasi F1 (10%), F2 (15%), F3 (20%), setelah itu di uji mutu fisik sediaan salep dan selanjutnya diujikan pada hewan uji.

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kelinci *New Zealand* sebanyak 3 ekor. Sebelum pembuatan luka kelinci diaklimatisasi selama 5 hari dengan tujuan untuk membiasakan hidup pada lingkungan dan perlakuan yang baru. Sehari sebelum pembuatan luka, punggung kelinci dibersihkan dari bulu sampai licin dengan dibuat 5 area perlakuan. Area yang sudah dicukur dibersihkan dengan alkohol 70%, diamkan selama semalam atau 24 jam. Pada keesokan harinya, pada masing masing

bagian yang sudah ditandai kemudian disayat atau dilukai dengan benda tajam (pisau bedah) steril dengan panjang 2 cm dengan kedalaman  $\pm 0,2$  cm dengan cara memberi tanda pada pisau bedah yang telah diukur.

Pengujian aktivitas penyembuhan luka sediaan salep ekstrak daun jambu air dengan basis hidrokarbon konsentrasi (F1 (10%), F2 (15%), F3 (20%) F4: Kontrol *Negative*, F5: Kontrol Positif) dilakukan dengan cara mengoleskan salep sebanyak 2 kali sehari yaitu pagi dan sore hari pada tiap daerah luka. Kontrol *negative* yang dilakukan yaitu kelinci diberikan basis salep tanpa ekstrak sedangkan kontrol positif yang digunakan adalah *povidone iodine* 10%. Pengamatan penyembuhan luka dilakukan setiap hari sekali selama 2 minggu (14 hari). Pengamatan dilakukan hingga luka dinyatakan sembuh, dengan pengamatan makroskopik yaitu: panjang luka dengan satuan cm, waktu terbentuknya bopeng dan keropeng mengelupas sendirinya.

### **C. Populasi dan Sampel**

Populasi adalah keseluruhan unit atau individu dalam ruang lingkup yang ingin diteliti. Populasi dalam penelitian ini adalah daun jambu air yang berasal dari tanaman jambu air yang ditanaman di Tambakan, Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan Jawa Tengah. Sampel yang digunakan penelitian ini adalah daun jambu air yang diambil secara acak dengan memilih daun yang segar berwarna hijau.

### **D. Variabel Penelitian**

#### **1. Identifikasi Variabel Utama**

Variabel penelitian yaitu poin-poin yang akan menjadi karakteristik suatu penelitian (Sani, 2016). Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun jambu air yang diperoleh dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%.

## 2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

- a. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun jambu air dengan dosis.
- b. Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas penyembuhan luka sayat dalam parameter presentase penyembuhan luka sayat setelah kelinci diberi salep ekstrak etanol daun jambu air.
- c. Variabel terkendali merupakan variabel terkendali yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah pembuatan sediaan salep basis hidrokarbon, peralatan yang digunakan, lingkungan, luas luka yang dibuat, kedalaman pencungkuran bulu, kondisi fisik hewan uji, yang meliputi berat badan, usia, galur, lingkungan tempat tinggal dan laboratorium.

## E. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat – alat gelas (gelas ukur, beaker glass), kertas saring, pipet, batang pengaduk, oven, timbangan analitik, baskom, *rotary evaporator*, skapel (silet / mata pisau), pisau cukur, ayakan mesh 40, alat-alat kromatografi lapis tipis, wadah pakan, kandang, alat tulis, kamera, penggaris, stemper dan mortir, pot, corong, batang pengaduk, kaca arloji, objek gelas, blender, neraca

analitik, pH universal, tabung reaksi, rak tabung, spatula, cawan porselin, pot salep.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun jambu air yang segar berwarna hijau dan dipetik dalam keadaan bebas dari penyakit yang diperoleh dari Tambakan, Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan Jawa Tengah, ekstrak daun jambu air, *Nipagin*, *Cera alba*, *vaselin album*, sarung tangan steril, air suling (*aquades*), *Povidone iodine 10%*, asam sulfat pekat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), ammonia, HCl, NaCl, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Dragendroff*, pereaksi *Wagner*, serbuk Mg, kloroform,  $\text{FeCl}_3$  5% atau  $\text{FeCl}_3$  10%, Etil asetat, methanol, air, piperin, n-butanol, asam asetat, kuarsetin, piperin, kloroform, methanol, *Lieberman Burchard*, sapogenin, *methylene blue*, katekin, kelinci *New Zealand*.

## F. Definisi Oprasional Variabel Utama

1. Daun jambu air (*Syzygium semarangense*) yang diperoleh dari tanaman jambu air yang berasal dari Tambakan, Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan Jawa Tengah dengan kondisi segar, berwarna hijau dan dipetik dalam keadaan bebas dari penyakit.
2. Serbuk daun jambu air adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan penggilingan dan pengayakan daun jambu air.
3. Ekstrak etanol daun jambu air adalah ekstrak yang dihasilkan penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% kemudian dipekatkan dengan suhu  $60^{\circ}\text{C}$ .
4. Pembuatan sediaan salep ekstrak daun jambu air dengan variasi konsentrasi basis hidrokarbon menggunakan basis *cera alba* dari tiga formulasi berbeda dengan perbandingan konsentrasi F1 (10%), F2 (15%), F3 (20%),
5. Hewan uji yang digunakan adalah kelinci *New Zealand*.

6. Uji aktivitas sediaan salep basis hidrokarbon ekstrak daun jambu air adalah untuk mengetahui aktivitas dari salep basis hidrokarbon ekstrak daun jambu air terhadap diameter luka sayat.
7. Luka sayat merupakan salah satu jenis luka yang sulit sembuh di karenakan gangguan pada pembekuan darah. Luka yang dijadikan sampel penelitian adalah luka sayat yang disayat dengan menggunakan alat scapel steril dengan panjang 3 cm dan kedalaman luka  $\pm 0,2$  cm pada kelinci *New Zealand*.

## **G. Jalannya Penelitian**

### **1. Pengambilan Bahan**

Daun jambu air (*Syzygium semarangense*) yang diperoleh dari perkebunan di Tambakan, Kecamatan Gubug, Kabupaten Grobogan Jawa Tengah.

### **2. Determinasi Tanaman**

Tahap awal dalam penelitian ini adalah determinasi tanaman daun jambu air (*Syzygium semarangense*) dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan serta kemungkinan tercampur bahan tanaman lain.

### **3. Pembuatan Serbuk Daun Jambu Air**

Daun jambu air (*Syzygium semarangense*) yang diambil secara acak dengan memilih daun yang segar, berwarna hijau dan bebas dari penyakit, dicuci bersih dengan air mengalir hingga bersih agar kotoran yang menempel pada daun terlepas. Selanjutnya ditiriskan dan diangin anginkan. Daun jambu air dipotong kecil – kecil lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan didalam suhu kamar dan sesekali dikeluarkan dijemur dibawah sinar matahari dan ditutup menggunakan kain hitam, setelah kering daun diblender sampai halus dan diayak menggunakan ayakan mesh nomor 40 sehingga diperoleh serbuk daun

jambu air. Simplisia yang diperoleh kemudian ditimbang dan disimpan didalam wadah yang kering dan bersih. Serbuk siap untuk diekstraksi.

#### 4. Susut pengeringan

Susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batas maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. nilai susut pengeringan adalah kurang dari 10%. Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan alat *moisture balance*. Timbang serbuk sebanyak 2 gram dan ratakan serbuk dalam cawan timbang, kemudian masukan ke dalam alat *moisture balance* yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu 105°C dan telah ditara. Ratakan ekstrak dalam cawan timbang, kemudian dimasukkan kedalam ruang pengering *moisture balance*, Tutup alat dan keringkan suhu penetapan hingga alat membaca secara otomatis (Rosidah, 2020).

#### 5. Pembuatan Ekstrak

Ekstrak daun jambu air (*Syzygium semarangense*) menggunakan metode maserresi. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara menimbang 1000 gram serbuk simplisia kering dan 10L (10.000 ml) pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:10, kemudian masukan kedalam meserator. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemdian diamkan selama 18 jam. Saring maserat dengan kertas saring. Filtrat 1 dipakai kembali untuk meserasi kedua dengan pelarut etanol 70% sebanyak 5L (5000 ml). Kumpulkan semua maserat, kemudian uapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 60<sup>0</sup> C untuk mendapatkan ekstrak daun jambu air (Kemenkes RI, 2017). Ekstrak yang diperoleh dipanaskan di atas waterbath hingga menghasilkan ekstrak kental (Wahyuni, 2021). Kemudian ekstrak kental yang diperoleh kemudian dihitung % rendemannya dengan rumus:

$$\text{Rendeman} = \frac{\text{Bobot Ekstrak}}{\text{Bobot Simplisia}} \times 100\%$$

## 6. Uji Bebas Etanol

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara menimbang 1 gram ekstrak daun jambu air lalu ditambahkan 1 ml asam sulfat ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) dan 1 ml asam asetat ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Setelah campuran tersebut dihomogenkan kemudian dipanaskan dengan api bunsen. Jika pada hasil uji tersebut tidak tercium bau ester, maka ekstrak positif bebas etanol. (Kurniawati, 2015).

## 7. Pemeriksaan Fitokimia Daun Jambu Air

Pemeriksaan fitokimia ekstrak etanol daun jambu air meliputi:

### a. Uji alkaloid

Ekstrak etanol sebanyak 5 ml ditambahkan 5 tetes ammonia pekat. kemudian disaring dan ditambahkan 2 ml asam sulfat 2 N selanjutnya dibagi larutan yang dihasilkan menjadi tiga tabung reaksi dan masing – masing tabung ditetesi 3 tetes reagen Mayer, Dreagendrof dan Wagner. Pada tabung pertama dimasukan pereaksi Mayer, hasil dinyatakan (+) jika terbentuk endapan putih. Pada tabung kedua dimasukan pereaksi Dragendroff, hasil dinyatakan (+) bila terbentuk endapan merah jingga. Pada tabung ketiga dimasukan pereaksi Wagner, hasil dinyatakan (+) bila terbentuk endapan coklat. (Harborne, 1987).

### b. Uji flavonoid

Ekstrak etanol sebanyak 5ml ditambahkan 5 ml etanol, dipanaskan selama 5 menit kemudian disaring. Hasil filtrate diambil sebanyak 5 ml dan ditambahkan 0,5 gram serbuk Mg dan 1 ml HCl. Apabila positif menghasilkan warna kuning, merah, atau jingga (Sastrawan, *et al.*, 2013).

### c. Uji saponin

Sebanyak 2 ml larutan uji dimasukan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml aquades panas. Campurkan dan kocok sampai muncul buih dan didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya

ditambahkan dengan 2 tetes HCl 2 N dan dikocok lagi sampai berbentuk buih. Adanya senyawa saponin ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama kurang 10 menit (Handayani, 2020).

d. Uji tanin

Sebanyak 2 ml larutan uji dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi, tabung 1 sebagai kontrol dan tabung 2 ditambahkan beberapa tetes larutan  $\text{FeCl}_3$  5%, tanda positif tanin jika terbentuk warna biru kehitaman dinamakan tanin galat dan warna hijau kehitaman dinamakan tanin katekol (Putri, *et al.*, 2015).

## 8. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam yang dipakai yaitu silika GF<sub>254</sub> ukuran 10x2 cm, kemudian diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 110<sup>0</sup> C selama 15 menit. Ekstrak etanol daun jambu air ditotolkan pada fase diam dengan bantuan pipa kapiler. Untuk fase gerak pada setiap senyawa diidentifikasi berdasarkan golongan senyawa:

a. Golongan alkaloid

Fase gerak : Etil asetat, methanol dan air (6:4:2)

Baku pembanding : piperin

Penampak noda : Pereaksi Dragendorff

Jika timbul warna coklat atau jingga, kuning setelah penyemprotan pereaksi *Dragendorff* menunjukkan adanya alkaloid dalam ekstrak (Devi, 2020).

b. Golongan flavonoid

Fase gerak : n-butanol: asam asetat: air (4:1:5)

Baku pembanding : Kuarsetin

Penampak noda : Pereaksi semprot amonia (Devi, 2020).

Jika timbul warna kuning, hijau kuning atau coklat, biru muda, merah atau jingga, fluoresensi hijau kuning, atau hijau biru, fluoresensi biru muda terang hingga muda setelah penyemprotan pereaksi amonia (Nirwana *et al.*, 2015).



c. Golongan saponin

Fase gerak : kloroform: methanol: air (13:7:2)

Penampak noda : *Lieberman Bouchardat*

Baku pembanding : sapogenin

Jika timbul warna hijau, biru setelah penyemprotan *Lieberman Bouchardat* menunjukkan adanya senyawa saponin jenis steroid dalam ekstrak (Nafisah *et al.*, 2014).

d. Golongan Tanin

Fase gerak : methanol : air (6:4)

Penampak noda : Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5 %.

Baku prmbanding : Katekin

Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya noda berwarna hitam (Banu dan Nagarajan, 2014).

Setelah itu masing - masing dimasukkan ke dalam chamber dan dibiarkan sampai jenuh. Lalu chamber dijenuhkan dengan kertas saring setelah jenuh silika  $\text{GF}_{254}$  yang sudah ditotol dimasukkan kedalam chamber, setelah noda sampai pada batas atas lempeng kemudian diambil dan diamati hasil bercak noda dibawah sinar  $\text{UV}_{254}$  nm dan  $\text{UV}_{366}$  nm. Lalu Nilai  $R_f$  (*Retention faktor*) dan HRF dihitung dari bercak yang didapat. Harga  $R_f$  dihitung dengan menggunakan perbandingan sebagaimana persamaan sebagai berikut (Gandjar dan Rohman, 2007).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat yang diteliti}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Kemudian fase gerak disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot yaitu pereaksi amonia untuk golongan Flavonoid, penyemprotan pereaksi *Dragendorff* untuk golongan alkaloid, reaksi *Lieberman burchard* untuk deteksi golongan saponin, dan penyemprotan reaksi  $\text{FeCl}_3$  untuk deteksi golongan tannin.

## 9. Pembuatan Salep

### a. Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Jambu Air

Pada penelitian akan dibuat sediaan salep ekstrak etanol dan jambu air (*Syzygium semarangense*) dengan variasi konsentrasi basis hidrokarbon yaitu *Cera Alba* 10%, 15%, dan 20%. Masing masing formulasi mengandung 4,5% ekstrak daun jambu air (*Syzygium semarangense*) dengan bobot salep 100 gram, sehingga diharapkan dapat menghasilkan sediaan salep yang baik dan stabil. Salep akan dibuat formulasi 100 gram dengan variasi konsentrasi basis hidrokarbon sebagai berikut:

No	Bahan	Jumlah yang digunakan %				Keterangan
		F1	F2	F3	Basis	
1.	Ekstrak Etanol Daun Jambu Air ( <i>Syzygium semarangense</i> )	4,5	4,5	4,5	-	Zat aktif
2.	Cera alba	10	15	20	20	Basis/pemadat
3.	Nipagin	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
4.	Vaselin album	Add 100	Add 100	Add 100	Add 100	Basis/pelembab

**Tabel 3.1 Formulasi Salep Hidrokarbon Ekstrak Daun Jambu Air**

### b. Pembuatan Sediaan Salep Ekstrak Daun Jambu Air

Pembuatan Salep Hidrokarbon sebagai berikut (Shintya *et al.*, 2022)

1. Siapkan alat dan bahan yang ingin digunakan untuk membuat salep.
2. Fase I *Cera alba* dan *Vaselin album* dimasukan ke dalam cawan porselin lalu dilebur diatas penangas air 75<sup>0</sup>-80<sup>0</sup>C. Setelah meleleh hasil leburan dimasukan kedalam lumping dan digerus hingga homogen.
3. Fase II nipagin dilarutkan oleh etanol setelah itu di tambahkan bahan utama yaitu ekstrak daun jambu air (*Syzygium semarangense*) diaduk sampai homogen.
4. Setelah fase II sudah homogen di tambahkan fase I dicampur sampai homogen kedua fase tersebut. Sediaan salep yang sudah jadi dimasukkan dalam wadah/pot salep. Selanjutnya dilakukan

uji mutu fisik sediaan salep dan uji aktivitas penyembuhan luka sayat pada kelinci

## 10. Uji Mutu Fisik Salep

### a. Uji Organoleptis

Sediaan diamati tekstur dan warna secara visual dan bau secara penciuman Menurut Depkes RI, spesifikasi salep yang harus dipenuhi adalah memilih bentuk setengah padat, warna harus sesuai dengan spesifikasi pada saat pembuatan awal salep dan baunya tidak tengik (Lasut *et al.*, 2019).

### b. Uji Homogenitas

Sediaan salep sebanyak 0,5 gram diletakkan di atas obyek gelas kemudian diratakan, dan diamati secara visual (Naibaho *et al.*, 2013). Sediaan salep mempunyai homogenitas yang baik dan memenuhi persyaratan yaitu jika salep dioleskan pada sekeping kaca atau bahan transparan lain yang cocok harus menyebar merata dan menunjukkan susunan yang homogen yang dapat dilihat dengan tidak adanya partikel yang bergerombol (Voight, 1995).

### c. Uji Daya Sebar

Sebanyak 0,5 gr salep diletakkan diatas kaca bulat dengan kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1 menit. Diameter sebar salep diukur. Setelahnya, 100 gram beban ditambahkan dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameter yang konstan. Diameter daya sebar salep yang baik antara 5-7 cm (Pratimasari *et al.*, 2015).

### d. Uji pH

Pengukuran nilai pH menggunakan alat pH meter yang dicelupkan ke dalam 0,5 g salep yang telah diencerkan dengan 5 mL aquadest. Nilai pH salep yang baik adalah 4,5 - 6,5 atau sesuai dengan nilai pH kulit manusia (Lasut *et al.*, 2019).

e. Uji Viskositas

Sediaan salep sebanyak 100 gram, dimasukkan dalam cawan pengukur lalu diukur viskositasnya menggunakan alat Viskometer. Pengukuran viskositas salep dilakukan dengan menggunakan spindhel No.4 dan rotor dijalankan dengan kecepatan 12 rpm. Nilai kisaran sediaan salep oleh (SNI) 1995 nilai Viskositasnya berada dalam kisaran 2000-50.000CPs. Viskositas dilihat pada skala dalam alat setelah tercapai kestabilan (Depkes RI, 1995).

f. Uji Daya lekat

Salep diletakkan secukupnya diatas gelas objek yang telah diketahui luasnya. Diletakkan gelas objek yang lain diatas salep tersebut. Kemudian ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Kemudian dilepaskan beban seberat 50 gram dan dicatat waktunya hingga kedua gelas objek ini terlepas. Syarat daya lekat salep yang baik tidak kurang dari 4 detik. Semakin lama waktu daya lekat pada kulit maka semakin baik pula efek terapi yang diinginkan (Zukhri *et al.*, 2018).

## 11. Uji Tipe Salep

Salep yang telah dibuat dimasukkan kedalam gelas piala kemudian ditetesi beberapa tetes larutan *methylene blue*. Jika warna biru segera terdispersi keseluruh emulsi maka tipe emulsinya M/A sebaliknya jika warna biru tidak terdispersi seluruhnya maka tipe emulsinya A/M (Pratasik, 2019).

## 12. Pembuatan Luka Sayat Pada Punggung Kelinci

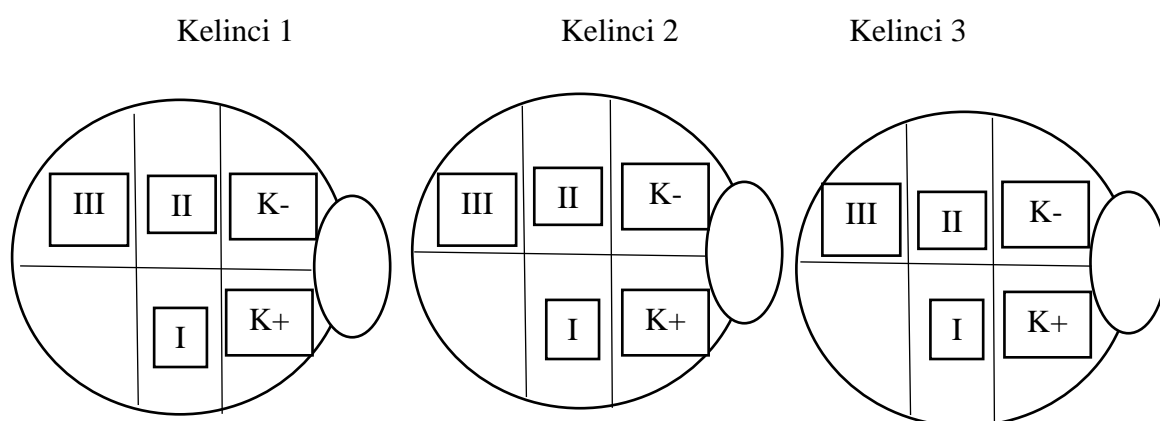
Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kelinci *New Zealand* sebanyak 3 ekor. Sebelum pembuatan luka kelinci diaklimatisasi selama 5 hari dengan tujuan untuk membiasakan hidup pada lingkungan dan perlakuan yang baru. Sehari sebelum pembuatan luka, punggung kelinci dibersihkan dari bulu sampai licin dengan dibuat 5 area perlakuan. Area yang sudah dicukur dibersihkan dengan

alkohol 70%, diamkan selama semalam atau 24 jam. Pada keesokan harinya, pada masing masing bagian yang sudah ditandai kemudian disayat atau dilukai dengan benda tajam (pisau bedah) steril dengan panjang 2 cm dengan kedalaman  $\pm 0,2$  cm dengan cara memberi tanda pada pisau bedah yang telah diukur. Pemberian masing-masing salep ekstrak daun jambu air dilakukan sehari setelah pembuatan luka sampai hari ke 14 dan di berikan 2 kali sehari setiap pagi dan sore dengan cara dioleskan rata pada punggung kelinci yang telah dibuat luka. Kemudian ditutupi dengan kain kasa steril dan plester untuk mengurangi kontaminasi bakteri.

### 13. Perlakuan Pada Kelinci

Kelompok perlakuan dibagi menjadi 5 area kelompok luka yaitu:

- Kelompok Kontrol *negative*, kelinci yang diberikan basis salep
- Kelompok Kontrol positif, kelinci diberikan *povidone iodine 10%*
- Kelompok perlakuan I, kelinci diberikan salep hidrokarbon F1
- Kelompok perlakuan II, kelinci diberikan salep hidrokarbon F2
- Kelompok perlakuan III kelinci diberikan salep hidrokarbon F3



Ket :

K- = kelinci diberikan basis salep hidrokarbon (tanpa ekstrak)

K+ = kelinci diberikan povidone iodine 10%

I = kelinci diberikan salep hidrokarbon F1 (10%)

II = kelinci diberikan salep hidrokarbon F2 (15%)

III = kelinci diberikan salep hidrokarbon F3 (20%)

**Gambar 3.1 Perlakuan Pada Kelinci**

Luka yang telah dibuat dioles dengan sediaan salep dan *povidone iodine 10%* yang berikan 2 kali sehari setiap pagi dan sore dengan cara dioleskan rata pada punggung kelinci yang telah dibuat luka. Kemudian ditutupi dengan kain kasa steril dan plester untuk mengurangi kontaminasi bakteri.

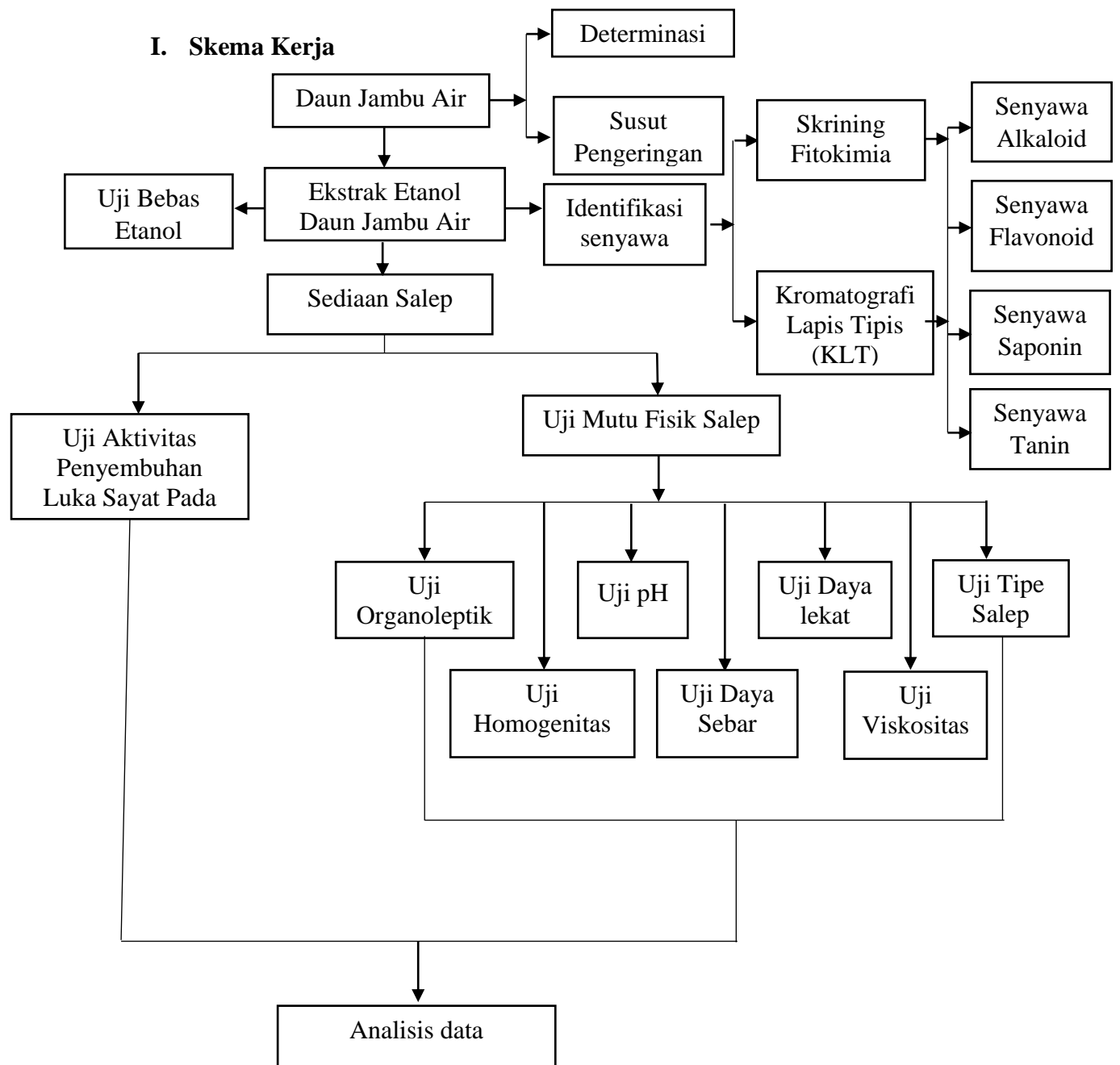
#### **14. Pengamatan Luka**

Pengamatan penyembuhan luka dilakukan setiap hari sekali selama 2 minggu (14 hari). Pengamatan dilakukan hingga luka dinyatakan sembuh, dengan pengamatan makroskopik yaitu: panjang luka dalam satuan cm, waktu terbentuknya bopeng dan keropeng mengelupas sendirinya.

#### **H. Metode Analisis Data**

Pada penelitian ini, data yang diperoleh dari hasil pengamatan panjang luka sayatan yang telah diberi perlakuan akan ditabulasikan dalam bentuk table dan disajikan secara deskriptif, untuk memastikan keakuratan hasil, data dianalisis secara statis menggunakan analisis SPSS yaitu *ANOVA*. *Analysis of variance* atau *ANOVA* merupakan salah satu teknik analisis multivariate yang berfungsi untuk membedakan rerata lebih dari dua kelompok data dengan cara membandingkan variansinya. Analisis varian termasuk dalam kategori statistik parametrik. Sebagai alat statistika parametrik, maka untuk dapat menggunakan rumus *ANOVA* harus terlebih dahulu uji normalitas menggunakan *Test of Normality (Kolmogorof-Smirnof)*. Setelah itu dilakuka uji homogenitas menggunakan *Homogeneity of Variances (Levene Statistic)*. Jika data homogen dilakukan uji *ANOVA*. Tapi jika data yang diperoleh tidak homogen maka dilakukan uji non parametrik *Mann-Whitney*. Data yang memiliki perbedaan signifikan diuji lenih lanjut dengan uji *Post-Hoc* dengan drajat kepercayaan 95% ( $p < 0,05$ ). Apabila data tidak normal dan tidak homogen maka menggunakan pengolahan data non parametrik dengan uji *Kruskall-Wallis* (Ghozali, 2009).

Analisis data hasil pengujian sediaan salep meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji luka sayat. Data hasil uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji viskositas, uji daya sebar, uji daya lekat dan uji luka sayat dianalisis menggunakan program SPSS. Data uji SPSS yang dianalisis di uji normalitas menggunakan Uji *Kolmogorov-smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Homogeneity of Variances (Levene Statistic)* dan apabila didapatkan data yang terdistribusi homogen dan normal ( $P>0,05$ ), maka akan dilanjutkan uji parametik *One Way Anova* dan Uji *Post-Hoc*. Jika data tidak terdistribusi homogen dan normal, maka dilakukan analisis menggunakan Uji *Kruskal-Wallis* (Halim, 2021).



Gambar 3.3 Skema Kerja