

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah emulgel ekstrak daun bandotan (*Agerantum conyzoides* L.).

2. Sampel

Sampel yang digunakan adalah emulgel dari ekstrak daun bandotan dengan berbagai variasi konsentrasi *gelling agent* HPMC.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun bandotan yang diperoleh dari hasil maserasi.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah variasi *gelling agent* HPMC dalam pembuatan emulgel ekstrak etanol daun bandotan.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah pengujian stabilitas mutu fisik dan penyembuhan infeksi emulgel ekstrak etanol daun bandotan terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi Variabel Utama

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dipengaruhi atau diubah - ubah untuk dipelajari. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi *gelling agent* HPMC dalam pembuatan sediaan emulgel.

Variabel tergantung adalah persoalan utama yang merupakan kriteria didalam penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah stabilitas fisik dari emulgel meliputi organoleptis, viskositas daya sebar, daya lekat, daya sebar,

homogenitas dan pH, penyembuhan infeksi pada kulit punggung kelinci dilihat dari kesembuhan luka dan diameter luka.

Variabel terkontrol adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar dapat diulang dalam penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah ekstrak dari daun bandotan, bakteri yang digunakan dalam pengujian yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, waktu inkubasi bakteri, proses pembuatan sediaan emulgel, dosis pemakaian emulgel, pemilihan hewan coba kelinci (jenis, berat badan, kesehatan serta kebersihan), tempat tumbuh tanaman, kondisi laboratorium, bahan - bahan yang digunakan, kondisi peneliti dan penelitian.

3. Definisi Operasional Variabel Utama

Pertama, daun bandotan adalah daun dari tanaman bandotan segar dan bebas hama yang diambil secara acak dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua ekstrak etanol daun bandotan adalah ekstrak hasil ekstraksi daun bandotan dengan menggunakan metode maserasi.

Ketiga konsentrasi *gelling agent* HPMC pada sediaan emulgel ekstrak daun bandotan berbeda - beda yaitu 2%, 3% dan 4%.

Keempat stabilitas fisik emulgel yang akan diuji meliputi organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya sebar dan daya lekat emulgel.

Kelima bakteri uji dalam penelitian adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan hewan uji.

Keenam, hewan uji yang digunakan adalah kelinci jantan putih (*New Zealand*) berumur \pm 3 bulan, bobot 2 - 3 kg dan kulit punggung kelinci yang telah dicukur.

Ketujuh, uji penyembuhan infeksi adalah daya penyembuhan terhadap pertumbuhan bakteri dengan cara menginfeksi secara subkutan, lalu ditutup dengan kasa steril dibiarkan sampai 48 jam sampai terjadi infeksi, kemudian dioleskan emulgel ekstrak etanol daun bandotan.

Kedelapan, kesembuhan adalah proses sembuhnya kelinci dari hilangnya eritema, tidak terbentuknya nanah dan keringnya luka dalam hitungan hari.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

1.1 Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah ekstrak etanol daun bandotan yang diperoleh dari daun bandotan yang masih segar dan terbebas dari hama.

1.2 Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan yaitu HPMC, Propilen glikol, Parafin cair, Metil Paraben, Propil Paraben, Tween 80, Span 80, Aqua destilata, Serbuk *Clindamycin*, *Clindamycin gel*, *Brain Heart Infusion*, *Vogel Johnson* Agar, Kalium telurit, Na₃SO₄ eksikatus, alkohol 70 %, cat kristal violet , lugol iodin, NaCl.

1.3 Bakteri Uji. Bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi Universitas Sebelas Maret.

1.4 Hewan Uji. Hewan uji yang digunakan kelinci putih jantan galur *New Zealand white* ± 3-5 bulan, dengan berat 2-3 kg.

2. Alat

Alat - alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan digital, botol maserasi, *rotary evaporator*, ayakan mesh no. 40, corong kaca, erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, kapas lidi steril, batang pengaduk, waterbath, pH meter, mortir, stamfer.

D. Jalanya Penelitian

1. Pengambilan Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bandotan (*Agerantum conyzoides* L) yang digunakan pada bagian daunnya. Daun bandotan (*Agerantum conyzoides* L) diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun bandotan (*Agerantum conyzoides* L) diambil daun yang tidak terlalu tua, tidak terlalu muda dan masih segar.

2. Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman yang dilakukan adalah dengan determinasi tanaman, dimana determinasi tanaman dilakukan untuk menetapkan dan memastikan

kebenaran sampel daun bandotan (*Agerantum conyzoides* L) dengan cara mencocokkan ciri morfologi tanaman yang akan diteliti dengan kunci determinasi, agar menghindari kesalahan penggunaan tanaman ketika penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Universitas Setia Budi.

3. Pembuatan Serbuk

Daun bandotan yang sudah kering kemudian digiling lalu diayak dengan ayakan mesh no. 40 dan disimpan dalam wadah yang kering kemudian ditutup rapat.

4. Identifikasi Serbuk Daun Bandotan

4.1 Pemeriksaan Organoleptis Serbuk Daun Bandotan. Pemeriksaan organoleptis serbuk daun bandotan meliputi pengamatan bentuk, warna, dan bau dari serbuk daun bandotan.

4.2 Penetapan Susut Pengerinan Serbuk Daun Bandotan. Penetapan susut pengerinan serbuk daun bandotan dilakukan dengan cara serbuk daun bandotan ditimbang sebanyak 2 gram kemudian diukur kadar airnya dengan satuan % menggunakan alat *moisture balance*.

4.3 Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Bandotan. Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi toluen. Toluena yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, setelah itu dikocok dan didiamkan, kedua lapisan air dan toluena akan memisah kemudian lapisan air dibuang. Sebanyak 20 gram serbuk ditimbang dengan seksama, kemudian dimasukkan pada labu alas bulat dimasukkan 200 ml toluena pada labu. Labu dipanaskan secara hati-hati selama 15 menit, setelah toluena mendidih atur penyulingan dengan kecepatan penyulingan kurang lebih 2 tetes/detik, hingga sebagian besar air tersuling. Kecepatan penyulingan ditingkatkan hingga kurang lebih 4 tetes/detik. Bagian pendingin pada alat dibilas dengan toluena jenuh air setelah semua air tersaring. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, kemudian didinginkan tabung pada suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluena memisah secara sempurna.

5. Pembuatan Ekstrak Daun Bandotan

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70% dengan perbandingan pelarut 1 :7,5. Maserasi

dilakukan selama 5 hari, setelah itu disaring dan dipisahkan antar filtrat dan ampas. Ampas yang diperoleh dibilas dengan sisa pelarut dan digabungkan dengan filtrat yang pertama, kemudian dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kental.

6. Identifikasi Ekstrak Daun Bandotan

6.1 Pemeriksaan Organoleptis. Pemeriksaan organoleptis ekstrak daun bandotan dengan mengamati bentuk, warna dan bau dari ekstrak daun bandotan.

6.2 Penetapan Kadar Air Ekstrak. Penetapan kadar air dilakukan dengan cara destilasi toluen. Toluena yang digunakan dijenuhkan dengan air terlebih dahulu, setelah itu dikocok dan didiamkan, kedua lapisan air dan toluena akan memisah kemudian lapisan air dibuang. Sebanyak ± 10 gram ekstrak ditimbang dengan seksama, kemudian dimasukkan pada labu alas bulat dimasukkan 200 ml toluena pada labu. Labu dipanaskan secara hati-hati selama 15 menit, setelah toluena mendidih atur penyulingan dengan kecepatan penyulingan kurang lebih 2 tetes/detik, hingga sebagian besar air tersuling. Kecepatan penyulingan ditingkatkan hingga kurang lebih 4 tetes/detik. Bagian pendingin pada alat dibilas dengan toluena jenuh air setelah semua air tersaring. Penyulingan dilanjutkan selama 5 menit, kemudian didinginkan tabung pada suhu ruang. Volume air dibaca setelah air dan toluena memisah secara sempurna.

6.3 Uji Bebas Alkohol Ekstrak Daun Bandotan. Uji bebas alkohol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak yang digunakan tidak mengandung alkohol. Prosedur uji bebas alkohol yaitu dengan menambahkan ekstrak dengan asam asetat (CH_3COOH) dengan asam sulfat (H_2SO_4) pekat lalu dipanaskan. Ekstrak yang bebas alkohol tidak berbau ester (Depkes RI 1995).

6.4 Identifikasi Kandungan Kimia.

6.4.1 Flavonoid. Sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,1 mg, 2 ml HCl dan 0,4 mL amil alkohol kemudian campuran dikocok. Pembentukan warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan hasil flavonoid (Harborne 1987).

6.4.2 Alkaloid. Ekstrak sebanyak 0,1 gram ditambahkan 10 mL kloroform dan ditambahkan beberapa tetes amonia. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan beberapa tetes H_2SO_4 pekat. Fraksi asam diambil dan dibagi

menjadi 3 tabung, kemudian ditambahkan pereaksi *Dragendorf*, *Mayer*, dan *Wagner*. Keberadaan alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi *Mayer*, endapan merah pada pereaksi *Dragendorf*, dan endapan coklat pada endapan pereaksi *Wagner* (Harborne 1987).

6.4.3 Saponin.Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang stabil selama 10 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin (Harborne 1987).

6.4.4 Tanin.Ekstrak sebanyak 1 gram ditambahkan 10 mL akuades kemudian dididihkan. Setelah dingin filtrat ditambahkan 5 mL FeCl₃ 1 % (b/v). Apabila terjadi perubahan warna menjadi biru tua atau hijau kehitaman, berarti sampel mengandung tanin (Harborne 1987).

7. Penetapan Rendemen

Persen rendemen diperoleh dengan ekstrak daun bandotan ditimbang kemudian dibagi berat serbuk dan di kalikan 100%

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

8. Formula Emulgel

Formulasi dirancang dengan variasi konsentrasi *gelling agent* HPMC pada tiap formula.

Tabel 1. Formula emulgel

Bahan	Konsentrasi (%)
Carbomer 940	0,5
Parafincair	7,5
Setil Alkohol	5
Span 80	3
Tween 80	3
Propilen Glikol	5
Nipagin	0,03
Nipasol	0,01
TEA	Qs
Aqua destilata	ad 100

(Sumber : Riski *et al* 2016)

Tabel 2. Rancangan formula emulgel yang telah dimodifikasi

Bahan	Satuan	Konsentrasi (%)			
		Negatif	F1	F2	F3
Ekstrak daun bandotan	Gram	-	20	20	20
HPMC	Gram	4	2	3	4
Parafin cair	Gram	7,5	7,5	7,5	7,5
Span 80	Gram	1,5	1,5	1,5	1,5
Tween 80	Gram	1,5	1,5	1,5	1,5
Propilen glikol	Gram	5	5	5	5
Nipagin	Gram	0,03	0,03	0,03	0,03
Nipasol	Gram	0,01	0,01	0,01	0,01
Aqua destilata	Gram	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

9. Pembuatan Emulgel

9.1. Pembuatan Emulsi.Fase minyak dibuat dengan meleburkan nipasol, parafin cair dan span 80 secara berturut - turut dalam cawan poselin diatas hotplate hingga suhu 70°C. Fase air dibuat dengan cara melarutkan nipagin, tween 80, propilenglikol dan sedikit air pada suhu 70°C. Fase air dituang ke mortir tambahkan sedikit demi sedikit fase minyak diaduk pelan - pelan dengan stamfer, tambah sedikit demi sedikit ekstrak kental daun bandotan, aduk lagi sampai terbentuk massa emulsi (Riski 2016).

9.2. Pembuatan Gel.HPMC dikembangkan dalam mortir dengan aqua destilata panas secukupnya, diamkan selama 5 - 10 menit agar mengembang. Setelah 5 - 10 menit aduk dengan stamfer sampai membentuk massa gel.

9.3. Pembuatan Emulgel.Masa emulsi dicampurkan dengan gel sedikit demi sedikit menggunakan homogenizer kemudian diaduk sampai homogen dan membentuk massa emulgel yang diinginkan (Riski 2016).

10. Pembuatan Kontrol

10.1 Kontrol Positif. Kontrol positif adalah gel *Clindamycin* 1,2 %.

10.2 Kontrol Negatif. Kontrol negatif adalah emulgel yang tidak mengandung ekstrak etanol daun bandotan.

10.3 Kontrol Normal. Kontrol normal adalah kulit punggung kelinci tanpa perlakuan apapun.

11. Pengujian Sifat Fisik

11.1 Uji Organoleptis. Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati : bentuk, bau, serta warna dari sediaan emulgel.

11.2 Uji Homogenitas. Uji dilakukan dengan mengoleskan 3 bagian atas, tengah dan bawah emulgel pada kaca transparan. Homogenitas ditunjukkan dengan tidak adanya butiran kasar.

11.3 Uji pH. Pengukuran pH emulgel menggunakan alat pH meter dengan prosedur penetapan sebagai berikut : emulgel sebanyak 2 g, dimasukkan ke dalam beaker glass kemudian diencerkan dengan 20 mL aqua destilata. Selanjutnya pH meter dicelupkan kedalam emulgel yang telah diencerkan dan dilihat nilai pH yang tertera pada alat.

11.4 Uji Viskositas. Pengujian viskositas dengan alat *viskotester*, prosedur ujinya adalah sebagai berikut : alat disiapkan pada posisi horisontal dan rotor dapat diatur sedemikian rupa sehingga jarum penunjuk tepat horisontal, emulgel yang diukur (100 g) diletakkan dalam cup *Viskotester*. Rotor dicelupkan dalam emulgel tersebut hingga batas yang tertera pada rotor. *Viskotester* dihidupkan dan rotor akan mulai bergerak atau berputar, biarkan beberapa saat hingga jarum penunjuk stabil.

11.5 Uji Daya Lekat. Emulgel diletakkan diatas kaca obyek yang telah ditentukan luasnya. Kaca obyek yang lain diletakkan di atas emulgel tersebut dan ditekan dengan beban 1 kilogram selama 5 menit, setelah itu beban diangkat dan tarik tuas sambil *stopwatch* dinyalakan. Waktu dihitung saat tuas ditarik dan dihentikan ketika kaca obyek terlepas. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula.

11.6 Uji Daya Sebar. Emulgel sebanyak 0,5 gram di letakkan hati-hati diatas kaca tranparan, kemudian ditutup dengan kaca tranparan yang lain dan diberikan beban secara bertahap 50 gram, 100 gram, dan 150 gram setiap penambahan beban diberikan waktu 1 menit dan diukur diameternya. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali pada tiap formula.

11.7 Uji Stabilitas *Freeze-Thaw*. Uji stabilitas *freeze-thaw* dilakukan setelah 48 jam (2 hari) pembuatan sediaan emulgel. Siklus pertama dilakukan pendinginan selama 16 jam pada *freezer* dengan suhu sekitar -5°C lalu setelah pendinginan, dilakukan penyimpanan selama 8 jam pada suhu ruangan (25°C).

Penyimpanan dan pengujian pada tiap siklus dilakukan secara berulang hingga lima siklus (Utami 2016).

12. Sterilisasi

Sterilisasi media dan alat - alat gelas seperti beaker glass, gelas ukur, erlenmeyer yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, sedangkan alat seperti jarum ose dipanaskan langsung dalam api bunsen dan inkas disterilkan dengan disemprot menggunakan formalin.

13. Pembuatan Konsentrasi Larutan Uji

Pada pengujian aktivitas antibakteri ekstrak daun bandotan, konsentrasi yang dibuat berdasarkan pada penelitian Harun (2017). Ekstrak daun bandotan dibuat menjadi 4 variasi konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30% dan 40%. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak dibuat dari larutan induk yaitu dengan menimbang 4 gram ekstrak kemudian dilarutkan dalam DMSO 5% sampai 10 ml. Kemudian dari larutan induk diencerkan menjadi 10 %, 20% dan 30%. Kontrol positif menggunakan serbuk klindamisin, pembuatan dosis kontrol positif berdasarkan sediaan injeksi yang ada di pasaran yaitu 150 mg/ml, menimbang klindamisin sulfat 600 mg kemudian dilarutkan dalam aqua pro injeksi sebanyak 4 ml kemudian dilakukan pengenceran sesuai dengan konsentrasi disk cakram yaitu sebesar 2µg atau setara dengan 0,2%. Kontrol negatif menggunakan larutan DMSO 100% yang diencerkan menjadi konsentrasi 5%.

14. Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhanya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri dengan standar Mc Farland 0,5 adalah agar bakteri yang digunakan sama selama penelitian.

15. Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

15.1 Identifikasi Dengan Media Selektif. Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah siap diinokulasikan pada medium

VJA yang sudah ditambahkan 3 tetes kalium telurit 1% kemudian diinkubasi selama 48 - 72 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium kuning (Hadioetomo 1985).

15.2 Pewarnaan Gram. Pewarnaan gram dilakukan dengan menggunakan kristal violet (Gram A) sebagai pewarna utama, didiamkan kurang lebih selama 1 menit, dicuci dengan aqua destilata mengalir dan ditetesi lugol Iodine (Gram B sebagai mordant/penguat warna) diamkan kurang lebih 1 menit, dicuci kembali menggunakan aqua destilata mengalir dan dikeringkan, kemudian tetesi dengan gram C (sebagai peluntur), diamkan kurang lebih 30 detik, dicuci aqua destilata kemudian ditetesi gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup) dan didiamkan kurang lebih 1 menit, lalu dicuci dengan dengan aqua destilata mengalir dan preparat dikeringkan diudara. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 positif bila berwarna ungu, berbentuk bulat, dan bergerombol seperti anggur waktu diamati dibawah mikroskop (Volk & Wheller 1998).

15.3 Uji Biokimia. Uji biokimia ada 2 cara yaitu dengan uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditambah dengan hidrogen peroksida 3%, hasil positif bila terlihat pembentukan gelembung. Uji koagulase dilakukan dengan cara plasma darah yang telah disentrifugasi, kemudian dicampur dengan suspensi bakteri dan diinkubasi pada suhu 37⁰C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan massa 1 - 4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung test dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Radji 2011).

16. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Pada masing – masing ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda – beda, modifikasi formula I-IV, kontrol negatif, kontrol positif, nipagin, nipasol dan aquadest diambil sebanyak 50 µL dengan menggunakan mikropipet kemudian dimasukkan dalam sumuran pada media yang sebelumnya telah ditanam atau dioles dengan suspensi bakteri pada BHI kemudian ditunggu selama 15 menit agar suspensi bakteri terdifusi pada media MHA kemudian di lubangi dengan *boorprof*. Kemudian ekstrak dimasukkan dalam sumuran. Setelah itu di inkubasi selama 24-

48 jam dengan suhu 37⁰C. Hasil daya uji antibakteri didasarkan pada pengukuran Diameter Daerah Hambat (DDH) pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling sumuran.

17. Pengujian Penyembuhan Infeksi

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci sebanyak 5 ekor dengan umur \pm 3 bulan dengan berat 2-3 kg. Hewan uji kelinci yang sudah diaklimatisasi selama 5 hari dicukur bulu pada punggung kelinci kemudian dipilih 5 lokasi penyuntikan dibagian kiri dan kanan dengan jarak masing-masing lokasi \pm 5 cm. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada masing - masing lokasi kulit pada punggung kelinci yang telah disiapkan. Emulgel diberikan setelah 48 jam pada daerah yang diinfeksi. Emulgel ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi HPMC 2%, 3%, dan 4% dioleskan pada 3 lokasi di punggung kiri kelinci, 2 lokasi di punggung kanan sebagai kontrol negatif dioleskan basis emulgel, kontrol positif dioleskan gel *clindamycin* 1,2%, kontrol normal tanpa perlakuan. Emulgel dioleskan 2 kali sehari, pengamatan waktu penyembuhan infeksi berdasarkan hilangnya nanah dan mengecilnya diameter luka (Naibaho *et al.* 2013).

18. Pengamatan Pengujian Penyembuhan Infeksi

Efek dari penyembuhan infeksi dapat dilihat secara makroskopis dengan mengamati diameter luka infeksi, waktu penyembuhan infeksi dalam beberapa hari yang ditandai dengan hilangnya nanah pada kulit punggung kelinci yang diinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 setelah diberikan sediaan emulgel ekstrak daun bandotan dengan variasi konsentrasi *gelling agent* HPMC.

Persentase penyembuhan luka diperhitungkan dengan rumus :

$$Px = \frac{dx_1^2 - dx_n^2}{dx_1^2} \times 100\%$$

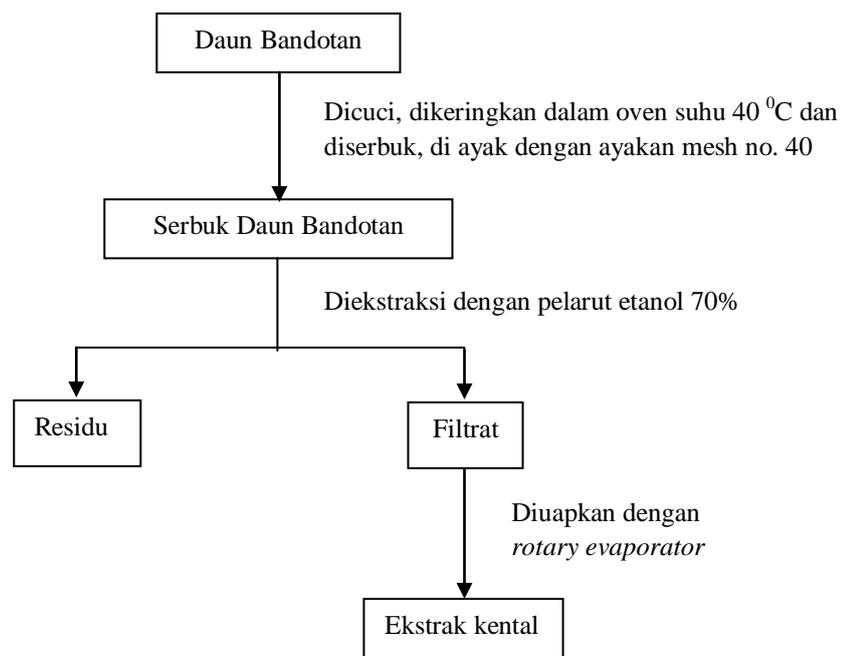
Keterangan :

- Px = presentase penyembuhan luka hari ke-x
- dx1 = diameter luka hari ke pertama (cm)
- dxn = diameter luka hari ke n (cm)

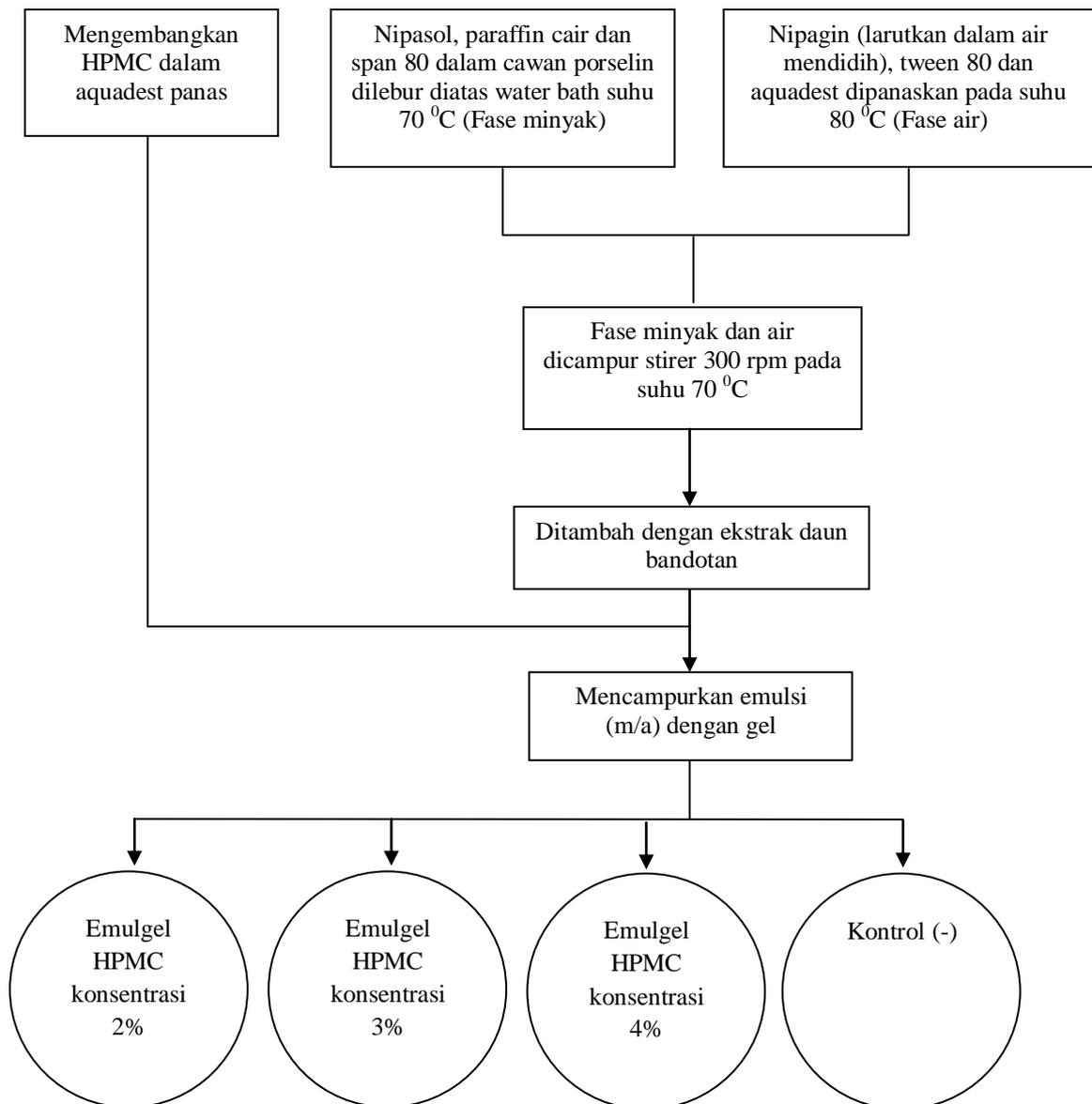
E. Analisis Data

Data hasil pengujian efek emulgel ekstrak etanol daun bandotan dengan konsentrasi HPMC 2%, 3% dan 4% dengan mengecilnya diameter luka infeksi dan lamanya waktu penyembuhan infeksi dianalisis secara statistik menggunakan metode Kolmogorof- Smirnov. Hasil terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan metode analysis of varian (ANOVA) dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%, selanjutnya dengan uji Tukey untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ($p< 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan Mann-Whitney untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya.

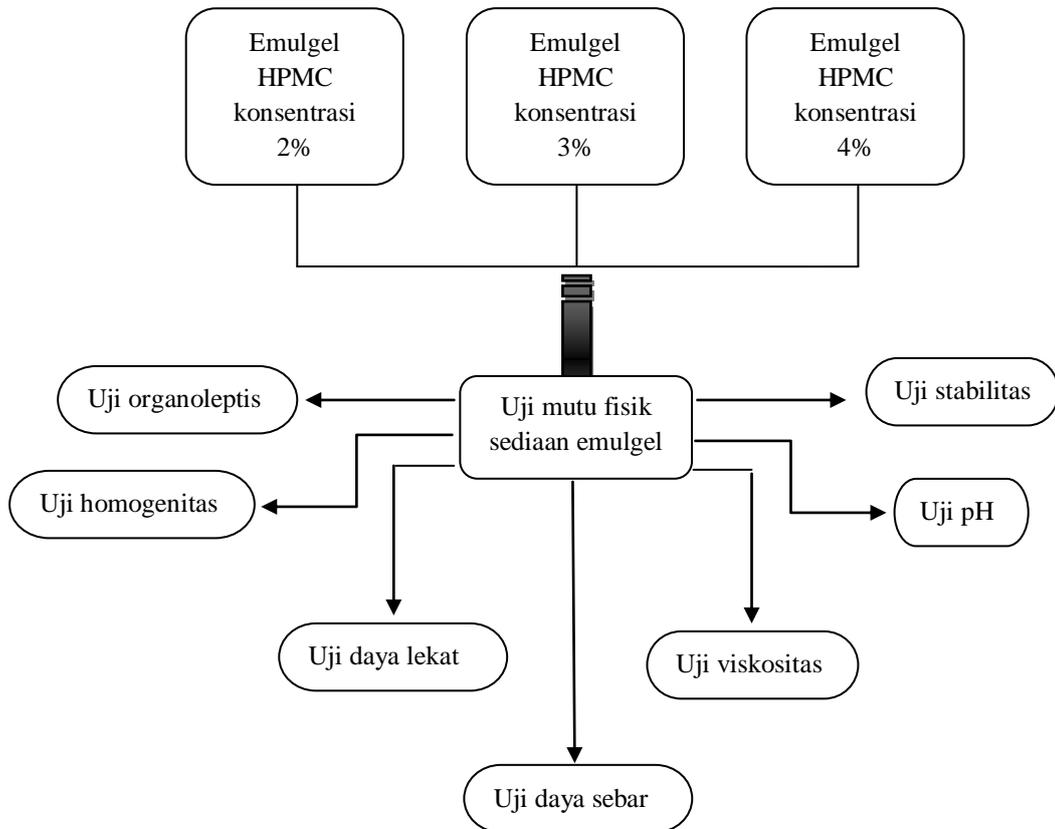
Data uji daya sebar, daya lekat, pH, dan viskositas sediaan emulgel ekstrak daun bandotan dianalisis menggunakan uji Kolmogorof-Smirnov, jika terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan uji ANOVA dua jalan dengan taraf kepercayaan 95%. Hasilnya jika tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilanjutkan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney H_0 ditolak atau ($p>0,05$).



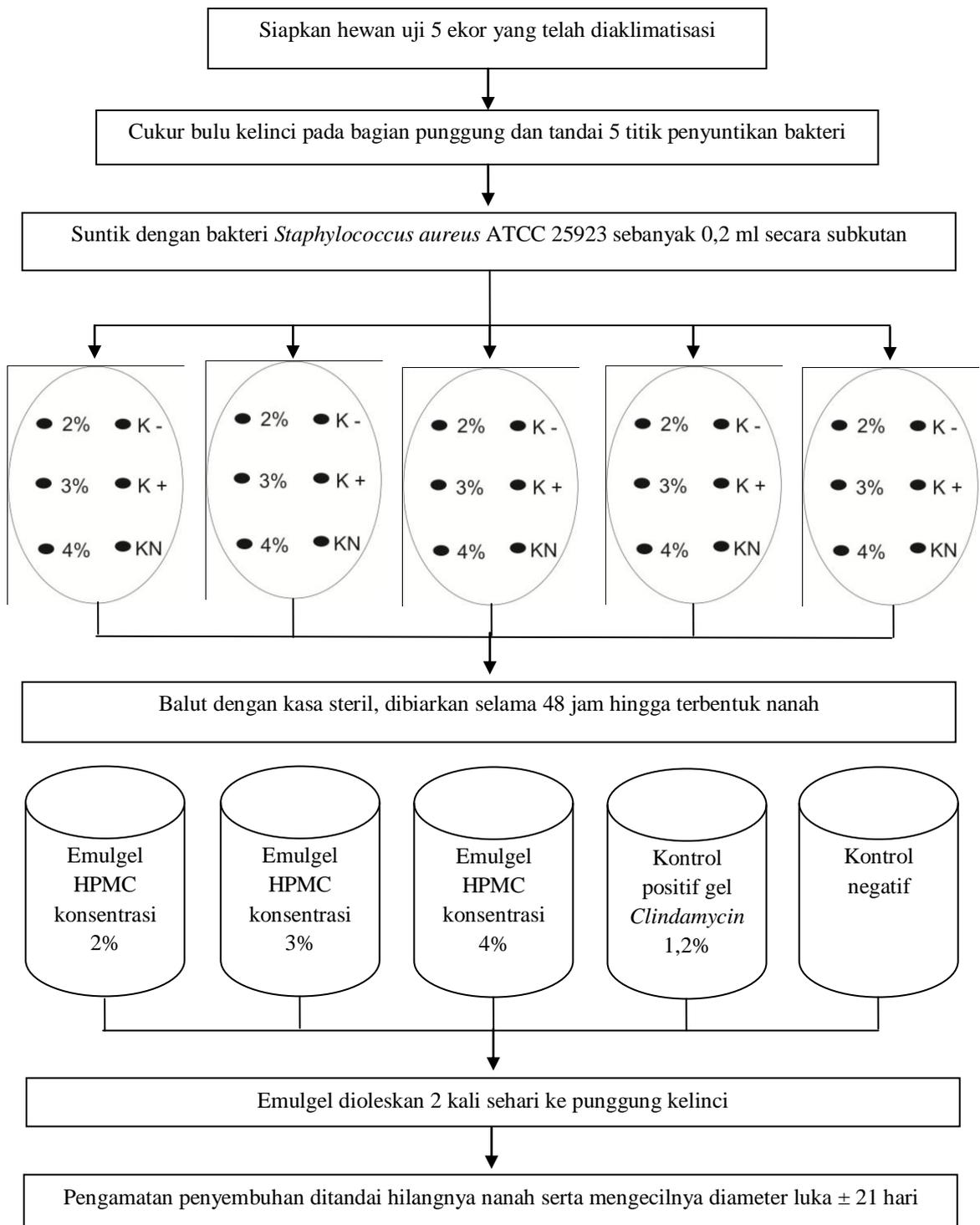
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak daun bandotan



Gambar 3. Skema pembuatan emulgel ekstrak daun bandotan



Gambar 4. Skema uji mutu fisik emulgel ekstrak daun bandotan



Gambar 5. Skema pengujian emulgel ekstrak daun bandotan