

BAB III METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan populasi yakni populasi daun alpukat (*Persea americana*). Populasi tersebut digunakan dalam keadaan yang segar, fisiknya tidak tua maupun muda, alpukat berwarna hijau tua, fisik tidak mengalami pembusukan, dan diharuskan dalam kondisi yang baik serta diperoleh dari dusun Pijenan, Bakalan, Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah daun alpukat yang diperoleh dari pohon yang tumbuh di dusun Pijenan, Bakalan, Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Pada penelitian ini, peneliti menggunakan beberapa variabel di dalamnya. Variabel utama, peneliti menggunakan variabel ekstrak daun alpukat. Variabel pertama ini memanfaatkan alpukat yang telah diekstraksi secara maserasi memanfaatkan pelarut etanol 96% serta fraksinasi.

2. Klasifikasi variabel utama

Berdasarkan beberapa hal yang sudah dijelaskan, variabel utama dalam penelitian ini bisa dikategorikan menjadi bermacam variabel. Beberapa variabel tersebut yaitu variabel bebas, tergantung, serta terkendali.

Variabel bebas merupakan variabel yang dengan sengaja dilakukan perubahan secara terus menerus untuk dijadikan pelajaran mengenai pengaruh pada variabel tergantung. Pada penelitian ini peneliti menggunakan variabel bebas layaknya variasi konsentrasi salep fraksi etil asetat daun alpukat serta waktu pengamatan.

Variabel tergantung merupakan titik pusat atau titik utama yang menjadi persoalan yang sekaligus menjadi kriteria penilaian. Peneliti menggunakan variabel tergantung berupa aktivitas pemulihan luka bakar melalui parameter diameter luka sesudah kelinci diberi salep fraksi etilasetat daun alpukat.

Variabel terkendali ialah suatu variabel yang memiliki pengaruh pada variabel tergantung, yang menjadikan hal ini perlu ditentukan

kualifikasinya supaya hasil yang diperoleh tidak tersebar serta bisa diulang peneliti lain dengan tepat. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan variabel terkendali yaitu laboratorium, lingkungan tempat tinggal, usia, berat badan yang menjadi bahan uji pada kondisi fisik hewan, serta dalamnya pencukuran buku, luas area, maupun lingkungan.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun alpukat dengan kondisi yang masih segar, tidak rusak, dan dalam kondisi baik yang diperoleh dari dusun Pijenan, Bakalan, Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, simplisia daun alpukat yaitu daun alpukat yang telah melewati beberapa tahapan seperti tahap sortasi basah, pencucian, perajangan, dan pengeringan.

Ketiga, serbuk daun alpukat adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan, dan pengayakan daun alpukat.

Keempat, ekstrak daun alpukat adalah hasil dari proses maserasi antara serbuk daun alpukat menggunakan etanol 96% sebagai bahan pelarut.

Kelima, fraksi etil asetat daun alpukat adalah fase etil asetat yang diperoleh dari fraksinasi cair-cair ekstrak etanol daun alpukat menggunakan pelarut etil asetat dan air sampai fraksi etil asetat jernih. Fase etil asetat diuapkan di atas waterbath.

Keenam, uji aktivitas luka bakar ialah kemampuan sediaan salep fraksi etil asetat daun alpukat dalam menyembuhkan luka bakar yang diukur dari diameter luka bakar dan mengamati ada tidaknya inflamasi.

Ketujuh, salep fraksi etil asetat daun alpukat ialah salep yang dibuat dengan beberapa campuran zat aktif etil asetat daun alpukat tiga variasi konsentrasi yaitu 1,5%, 3%, dan 6%.

Kedelapan, uji mutu fisik sediaan salep adalah uji dengan melihat organoleptis, homogenitas, viskositas, daya lekat, daya sebar, pH dan stabilitas.

Kesembilan, pengukuran presentase penyembuhan luka untuk melihat diameter kesembuhan luka bakar pada kelinci sesudah perlakuan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Peneliti menggunakan berbagai alat pendukung meliputi, wadah salep, penggaris, lempeng logam diameter 2 cm, pencukur bulu, gunting, kapas, kasa steril, kertas saring, sudip, mortar dan stamper, *waterbath*,

timbangan analitik, cawan porselin, batang pengaduk, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung reaksi, beerglass, gelas ukur, alat uji data lekat, pH meter, corong, botol maserasi, ayakan mess no 40, perangkat ekstraksi, *aluminium foil*, *rotary evaporator*, blender, serta oven.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah daun alpukat (*Persea americana* Mill) yang masih *fresh* serta memiliki warna hijau pekat dan berasal dari daerah Jumapolo, Kabupaten Karanganyar, Provinsi Jawa Tengah. Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini yakni kelinci *New Zealand* umur 2-3 bulan, berat badan antara 1,2-1,5 kg, lempeng logam. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah salep Mebo®, FeCl₃ 1%., HCl 2N, HCl pekat, serbuk Mg, amil alkohol, etanol 96%, akuadest, propilenglikol, gliserin, propil paraben, metil paraben, dinatrium EDTA, vaselin album, serta adeps lanæ.

D. Formulasi Salep Fraksi Etil Asetat Daun Alpukat

Proses penelitian yang akan dilakukan ini menggunakan 3 variasi konsentrasi fraksi etil asetat daun alpukat. Ketiga konsentrasi tersebut dibuat dalam bentuk sediaan salep yang berbasis salep, lalu salep tersebut terdiri dari adeps lanæ serta vaselin album. Salep Mebo® digunakan sebagai obat pembanding pada penelitian ini.

Sediaan salep yang akan dirancang tersebut terdiri atas 3 variasi konsentrasi ekstrak daun alpukat yang meliputi, 1,5%, 3%, serta 6%, kontrol negatif berbasis salep, serta kontrol positif akan diberikan pengobatan salep Mebo®.

Tabel 1. Rancangan formulasi salep fraksi etil asetat daun alpukat

Bahan	Konsentrasi			Fungsi
	F1 (%)	F2 (%)	F3 (%)	
Fraksi etil asetat	1,5	3	6	Zat aktif
Dinatrium EDTA	0,1	0,1	0,1	Pengkompleks
Metil paraben	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Propil paraben	0,05	0,05	0,05	Pengawet
Gliserin	1,5	1,5	1,5	Penstabil
Propilenglikol	1	1	1	Humektan
Adeps lanæ	12	12	12	Emolien
Vaselin allbum	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Basis salep

E. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman daun alpukat

Proses identifikasi daun alpukat yaitu membandingkan atau menyamakan sampel daun dengan tanaman yang sudah dikenal, tanaman

di determinasi di Balai Besar Penelitian Tanaman Obat dan Obat Tradisional Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Tujuannya untuk mengetahui kebenaran bahwa daun alpukat memiliki keterkaitan dengan ciri morfologi yang terdapat di perpustakaan.

2. Pengambilan daun alpukat

Sampel uji berupa daun alpukat diperoleh melalui dusun Pijenan, Bakalan, Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun yang digunakan untuk penelitian merupakan daun dengan kondisi masih segar, tidak terlalu tua maupun terlalu muda, warna hijau pekat atau tua, kualitas tidak rusak, dan kondisinya baik.

3. Pengeringan daun alpukat

Apabila daun alpukat telah dipetik, selanjutnya daun tersebut harus dibersihkan dahulu serta dikeringkan menggunakan oven pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ atau dapat menggunakan sinar matahari dengan penutup kain hitam. Proses pengeringan harus dipastikan kering dengan baik (Winangsih, *et. al.*, 2013). Pada proses ini, daun kering akan ditimbang dan disebut sebagai berat kering. Setelah itu presentase bobot daun yang kering tersebut akan dijumlahkan dan dihitung bersama dengan daun basah.

4. Pembuatan serbuk daun alpukat

Langkah selanjutnya melakukan sortasi kering yaitu penghalusan menggunakan blender, serbuk kering kemudian disaring dengan menggunakan ayakan mess no. 40 guna menetapkan ukuran serbuk halus yang sama (Sentat dan Rizky, 2015). Lalu hasil tersebut akan disimpan menggunakan plastik dengan ukuran yang besar dan digunakan untuk skringing fitokimia (Kartika, *et. al.*, 2020).

5. Pembuatan ekstrak kental daun alpukat

FHI edisi II memaparkan bahwa proses produksi ekstrak dilakukan melalui pemasukan satu bagian serbuk kering simplisia pada botol maserasi. Setelah itu, proses dilanjutkan dengan menambahkan bagian pelarut etanol dengan kandungan 96% atau 800 g sebanyak 10 bagian atau dapat menggunakan 800 g simplisia yang berarti harus menggunakan 8 liter etanol 96%. Ekstrak diaduk setiap 6 jam sekali dan diamkan selama kurang lebih 18 jam. Lakukan penyaringan dengan memakai kain flanel atau kertas saring, ulangi proses maserasi minimal sekali dengan menggunakan jenis pelarut yang sama, volume total pelarut adalah setengah dari volume pelarut pada ekstraksi pertama, apabila telah selesai lanjutkan proses dengan mengumpulkan seluruh

maserat yang ada, lalu gunakan alat penguap vakum atau alat penguap tekanan rendah (*rotary evaporator*) untuk menguapkan sampai diperoleh ekstrak yang kental. Setelah itu hitunglah rendemen yang didapatkan dengan presentase berat antara berat (b/b) dan berat serbuk simplisia yang dipakai. Rendemen setidaknya harus memenuhi persyaratan sesuai dengan monografi (Kemenkes RI, 2017).

6. Identifikasi serbuk dan ekstrak daun alpukat

6.1. Identifikasi serbuk daun alpukat. Langkah selanjutnya yaitu proses identifikasi serbuk daun alpukat. Peneliti menggunakan metode analisis organoleptis, proses analisis berjalan dengan menentukan ukuran, warna, bentuk, serta aroma yang dihasilkan daun alpukat.

6.2. Identifikasi ekstrak daun alpukat. Ekstrak kental daun alpukat tersebut diidentifikasi secara organoleptis berdasarkan dari aroma ekstrak daun alpukat yang diuji, warna, serta bentuknya.

7. Susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun alpukat

Susut pengeringan serbuk dan ekstrak menggunakan alat *moisture balance* dengan suhu 105°C. Langkah pertama yang harus dilakukan pada tahap ini yaitu dengan menimbang 2 g serbuk dan ekstrak. *Moisture balance* diatur pada suhu 105°C, kemudian dibaca sampai angkanya muncul dalam persen. Sampel dapat dikatakan telah memenuhi syarat dalam penetapan susut pengeringan apabila kadar air dari serbuk daun alpukat tidak lebih dari 10%. Proses penetapan susut pengeringan akan dilakukan pada lokasi yang sama yaitu, Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi.

8. Kadar air serbuk dan ekstrak daun alpukat

Penentuan kadar air serbuk daun alpukat menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Prinsip alat ini dikerjakan melalui cara 10 g serbuk didalam labu destilat ditambahkan 200 mL toluena jenuh air kemudian dipasangkan dalam alat *Sterling Bidwell*. Panaskan labu dengan api kecil dalam waktu 15 menit, proses pemanasan dihentikan hingga tetesan air tidak terlihat lagi. Kemudian lihat volume air pada sekala yang tertera pada alat *Sterling Bidwell*.

Penetapan kadar air ekstrak menggunakan metode *gravimetri* dengan cara menimbang 10 g sampel, masukkan pada wadah yang sudah ditara. Keringkan pada suhu 105°C selama 5 jam, serta timbang. Lalu, pengeringan serta timbang di selang waktu 1 jam hingga perbedaan dua penimbangan berturut tidak lebih dari 0,25%.

9. Uji bebas alkohol

Pengujian menggunakan cara esterifikasi untuk mengetahui bahwa ekstrak yang digunakan dalam penelitian bisa terbebas dari. Proses pengujian dilakukan dengan memasukkan ekstrak ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan pereaksi pekat asam sulfat serta asam asetat, kemudian dipanaskan. Hasil uji negatif alkohol ditandai dengan tidak terciumnya aroma ester (Kurniawati, 2015).

10. Fraksinasi

Setelah didapat ekstrak kental, kemudian proses selanjutnya fraksinasi terhadap ekstrak kental yang didapatkan. Sebanyak 10 g ekstrak kental dilarutkan pada 5 mL etanol tambahkan 70 mL akuadest, masukan kedalam corong pisah selanjutnya tambahkan 75 mL *n*-heksan lalu gojog. Kemudian lakukan pemisahan antara fase *n*-heksan serta fase air berkali-kali hingga *n*-heksan menjadi bening. Masukan fase air kedalam corong pisah lalu tambahkan pelarut etil asetat sebanyak 75 mL lalu gojog. Kemudian lakukan pemisahan antara fase etil asetat dan fase air berkali-kali hingga etil asetat mempunyai warna bening. Pada tahap ini fase yang diambil ialah fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat lalu dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental fraksi etil asetat.

11. Identifikasi ekstrak daun alpukat

Senyawa yang diidentifikasi adalah golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, serta saponin. Proses skrining fitokimia senyawa dilakukan sebagai berikut

11.1. Flavonoid. Identifikasi kandungan senyawa ini dapat dilakukan dengan memasukkan sebanyak 10 tetes ekstrak pada tabung reaksi, lalu tambahkan sebanyak 2 tetes HCl pekat, serbuk Mg, serta alkohol sebanyak 2 tetes. Apabila bentuk yang dihasilkan berwarna kuning, jingga, maupun merah, maka dapat disimpulkan bahwa pada lapisan amil alkohol menunjukkan petunjuk bahwa ada flavonoid (Sentat dan Rizky, 2015).

11.2. Alkaloid. Proses tersebut dilakukan dengan mengambil 10 tetes ekstrak daun alpukat dan masukan pada tabung reaksi. Apabila telah tercampur semua, tambahkan sebanyak 2 tetes pereaksi Mayer serta akan menghasilkan bentuk endapan putih atau kuning. Langkah berikutnya yaitu ambil sebanyak 10 tetes ekstrak daun alpukat dan masukan ekstrak tersebut dalam sebuah tabung reaksi serta tambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat yang menjadikan terbentuk endapan coklat

sampai hitam, selanjutnya ekstrak daun alpukat tersebut dimasukan pada tabung reaksi sebanyak 10 tetes dan tambahkan pereaksi Dragendrof sebanyak 2 tetes. Hal ini dapat menciptakan bentuk endapan yang berwarna jingga hingga merah coklat. Apabila hasil tersebut menghasilkan sedikitnya 2 dari 3 pereaksi yang mengandung endapan sama, maka dapat disimpulkan bahwa positif mengandung alkaloid (Sentat dan Rizky 2015).

11.3. Saponin. Masukan ekstrak tersebut ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 tetes ekstrak. Lalu tambahkan air panas secukupnya dan kocok ekstrak selama kurun waktu 15 menit, setelah di kocok ditambahkan HCl 2 N sebanyak 2 tetes. Positif adanya saponin akan terlihat ketika ekstrak di kocok selama 10 menit dan akan mengeluarkan buih (Sentat dan Rizky, 2015).

11.4. Tanin. Identifikasi tannin akan ditunjukkan dengan cara memasukan 10 tetes ekstrak dengan mencampurkan 10 mL air suling di dalamnya. Setelah itu saring ekstrak dan encerkan filtrat dengan air suling sampai tidak lagi mempunyai warna, lalu ambil filtrat 2 mL serta tambahkan preaksi FeCl_3 sebanyak 1 hingga 2 tetes. Mulai dari proses tersebut akan terlihat, ketika tannin terkandung di dalamnya akan mengeluarkan bentuk berwarna biru tua atau hijau kehitaman (Sentat dan Rizky, 2015).

12. Identifikasi fraksi etil asetat daun alpukat secara KLT

12.1. Identifikasi flavonoid. Dilakukan dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya etil asetat:kloroform (4:6). Baku pembanding yang digunakan adalah kuersetin. Bercak yang terbentuk setelah penotolan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.

12.2. Identifikasi alkaloid. Dilakukan dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase geraknya toluena:etil asetat:dietil amina (7:2:1) sebanyak 10 mL. Baku pembanding yang digunakan adalah piperin. Bercak yang terbentuk setelah penotolan diamati dibawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm.

13. Pembuatan sediaan salep fraksi etil asetat daun alpukat

Apabila ingin mencampurkan beberapa bahan yang akan dipakai, sebelumnya bahan tersebut harus ditimbang dawlau sesuai dengan formula yang telah ditentukan. Basis hidrokarbon berupa vaselin album akan digunakan sebagai basis pada penelitian ini. Zat yang bisa dilarutkan pada pencampuran lemak harus dilarutkan di dalamnya, hal ini dilakukan sesuai dengan aturan pembuatan salep yang benar. Pertama masukan

vaselin album serta adeps lanae pada mortar aduk terlebih dahulu sampai seragam. Lalu, tambahkan metil paraben dan propil paraben dengan sedikit demi sedikit. Setelah itu tambahkan dinatrium EDTA dan aduk terlebih dahulu hingga homogen dan membentuk tekstur salep. Terakhir tambahkan daun alpukat, pastikan ekstrak ini ditambahkan secara terakhir dikarenakan bentuk sediaannya berupa ekstrak kental. Setelah seluruh proses telah selesai, salep yang sudah homogen dimasukan pada pot salep.

14. Pengujian mutu fisik sediaan salep

14.1. Uji organoleptis. Pada proses uji organoleptis ini, sediaan salep harus dilakukan pengamatan dari segi penampilan fisiknya. Pengamatan tersebut dilakukan secara visual meliputi bentuk, warna, bau (Naibaho, *et. al.*, 2013).

14.2. Uji homogenitas. Pada uji homogenitas, sediaan salep akan diambil dan diratakan di sebuah objek berupa gelas sebanyak 0,5 g salep. Lalu setelah itu peneliti harus mengamati secara visual permukaan yang rata tersebut. (Naibaho, *et. al.*, 2013).

14.3. Uji pH. Uji pH dalam penelitian ini menggunakan alat pH meter yang dimasukan dalam sediaan salep. Proses pertama yang harus dilakukan yaitu siapkan sediaan salep yang akan diukur, lalu celupkan alat ukur pH ke dalamnya. Catat dan lihat hasil nilai pH setelah mencapai nilai yang stabil dan lakukan sebanyak 3 kali (Izzati, *et. al.*, 2015).

14.4. Uji viskositas. Uji viskositas penelitian ini menggunakan alat uji viskositas yang disebut dengan *Viskometer Brookfield*. Sediaan salep dimasukan ke dalam sebuah wadah dan kemudian masukan *spindle* yang selaras pada wadah berisi salep hingga tenggelam, setelah dimasukan rotor akan dinyalakan dan tunggu sampai jarum hasil menunjukkan angka stabil (Sugiyono, *et.al.*, 2016).

14.5. Uji daya lekat. Pengujian daya lekat yaitu dengan meletakkan sediaan salep disebuah lempeng pada alat uji daya lekat 0,5 g. Lempeng yang digunakan tidak hanya satu, melainkan ada lempeng lain yang digunakan untuk menekan salep dengan diletakkannya di atas sediaan salep. Tekan lempeng dengan beban 1 kg kurun waktu 5 menit. Selanjutnya, beban yang diletakan di atas lempeng diangkat serta lempeng yang saling menempel di lepas dengan beban 80 gram. Ketika kedua lempeng tersebut lepas, peneliti harus mencatat waktu lepasnya kedua lempeng tersebut (Izzati, *et. al.*, 2015).

14.6. Uji daya sebar. Uji daya sebar, sediaan salep akan ditimbang 0,5 g diletakan di atas pusat antara kedua lempeng *extensometer* berada. Lalu, biarkan kurang lebih 1 menit dan hitung diameter salep yang menyebar tersebut. Pada lempeng bagian sebelah atas, tambahkan timbangan sebesar 50, 100, 150 dan 200 g dan diamkan terlebih dahulu dalam waktu 1 menit. Lakukan hal yang sama dengan sebelumnya yaitu mencatat lebar salep yang menyebar. Agar hasil yang didapatkan akurat, lakukan pengujian sebanyak 3 kali (Izzati, *et. al.*, 2015).

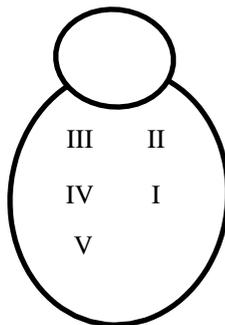
14.7. Uji stabilitas. Dilakukan dengan menggunakan metode *cycling test* melalui penyimpanan sampel di suhu 4°C selama 24 jam. Lalu sampel dipindahkan pada oven dengan suhu 40°C selama 24 jam dan dilakukan dengan 1 siklus dengan percobaan dilakukan sampai 6 siklus, setiap siklus dilakukan pengamatan pada perubahan organoleptis, pH, viskositas (Lasut, *et. al.*, 2019).

15. Pengelompokan hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah kelinci *New Zealand* umur 2-3 bulan, berat badan antara 1,2-1,5 kg yang telah diadaptasikan selama 1 minggu selama proses adaptasi dengan tujuan membiasakan hidup pada lingkungan dan perlakuan yang baru (Megawati, *et. al.*, 2020).

Terdiri 5 kelinci dengan perlakuan 5 luka pada kulit punggung kelinci:

- | | |
|----------|---|
| Luka I | : dioleskan basis salep (kontrol negatif) |
| Luka II | : dioleskan salep Mebo (kontrol positif) |
| Luka III | : dioleskan formula 1 |
| Luka IV | : dioleskan formula 2 |
| Luka V | : dioleskan formula 3 |



Gambar 5. Pengelompokan hewan uji

16. Perlakuan hewan uji penyembuhan luka bakar

Hewan uji yang digunakan adalah 5 ekor kelinci putih dipilih bebas dari rasa takut, bebas dari luka, bebas dari rasa panas maupun tidak nyaman, serta bebas dari lapar serta haus. Kelinci ditempatkan pada kandang secara individual sesuai kelompok perlakuan, kelinci diberi pakan perhari dan diberikan minum berupa air secukupnya. Kelinci dilakukan adaptasi selama 7 hari dan diberikan perlakuan yang sama dengan adaptasi pada saat penelitian dan sesudah penelitian.

17. Pembuatan luka bakar pada kelinci

Guna meminimalisir rasa sakit yang dirasakan oleh kelinci saat memberikan perlakuan di punggung kelinci, peneliti harus melakukan anestesi terlebih dahulu. Kelinci dicukur dan dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% diulas memakai kapas di daerah punggung kelinci lalu diberikan anestesi lokal menggunakan *ethyl chloride* 2-3 kali semprot. Lakukan pengukuran diameter pada punggung kelinci selebar luka yang akan dibuat. Gunakan lempeng logam dengan ukuran diameter sebesar 2 cm untuk membuat perlakuan luka di punggung kelinci. Cara membuat perlakuan luka tersebut yaitu panaskan logam pada api biru selama kurang lebih 3 menit dan tempelkan logam panas tersebut pada punggung kelinci selama kurang lebih 5 detik tanpa menggunakan penekanan (Mappa, 2013).

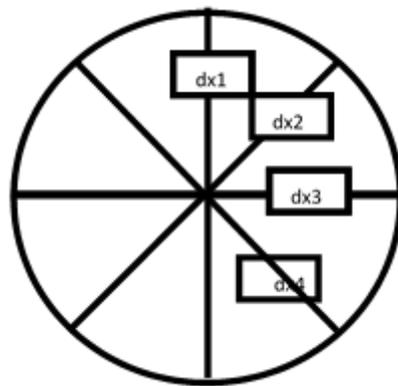
18. Perawatan luka bakar pada kelinci

Setelah melakukan pembuatan luka kelinci akan dirawat berdasarkan dengan kelompoknya. Proses perawatan luka ini dilakukan dengan mengoleskan salep pada area luka yaitu punggung kelinci yang dimulai dari hari ke-2 setelah luka dibuat. Proses penyembuhan luka ini akan dilakukan selama kurang lebih 21 hari. Pengamatan tersebut dilakukan 2 kali sehari pagi serta sore membersihkan luka dan berikan salep fraksi etil asetat daun alpukat serta salep mebo di area luka. Pembalut kassa steril tersebut harus diganti setiap hari guna mencegah terjadinya infeksi. Menurut Pranoto (2022), Dengan mengamati keadaan luka pada tiap kelompok, khususnya dengan memeriksa kondisi koreng pada luka serta memperkecil lebar luka, bisa ditinjau kemajuan terapi serta penyembuhannya. Selama proses perawatan, peneliti harus mengamati proses pemulihan luka bakar dengan jarak sehari ketika hewan uji diberikan perlakuan. Pengamatan dimulai sejak hari pertama sesudah adanya luka serta lanjut ke hari ke-2 sampai ke-21 hari melalui

pengukuran diameter luka menggunakan jangka sorong (Maharani, 2016)

19. Pengukuran presentase penyembuhan luka bakar

Ukur diameter luka bakar pada hewan kelinci yang digunakan sebagai bahan pengujian untuk mengetahui hasil presentase penyembuhan luka tersebut. Proses pengukuran luka dilakukan pada hari ke-2 setelah perlakuan luka dilakukan. Pengukuran diameter luka harus diamati mulai dari hari ke-2 hari secara berturut-turut secara makroskopik. Perkembangan pemulihan luka tersebut dilakukan pengukuran luas dengan menggunakan jangka sorong. Luka bakar kelinci sebagai hewan uji dirawat hingga pulih. Pemulihan tersebut dapat dilihat dengan luka yang tertutup atau rapat. Luka bakar dapat dinilai berhasil apabila membaik dan menjadi presentasi kesembuhannya.



$$dxn = \frac{dx1 + dx2 + dx3 + dx4}{4}$$

Gambar 6. Cara pengukuran diameter luka bakar

Keterangan:

dx1: pengukuran dilakukan secara horizontal dari atas ke bawah

dx2: pengukuran dilakukan dari kemiringan sudut 45°

dx3: pengukuran dilakukan secara vertical dari kanan ke kiri

dx4: pengukuran dilakukan dari kemiringan sudut 135°

dxn: diameter luka bakar pada hari ke-n

Presentase pemulihan luka bakar di hari ke-x tersebut menjadi parameter yang harus dilakukan dalam pengukuran. Presentase perhitungan tersebut dapat diperhitungan melalui rumus:

$$px = \frac{(dx1)^2 - (dxn)^2}{(dx1)^2} \times 100\%$$

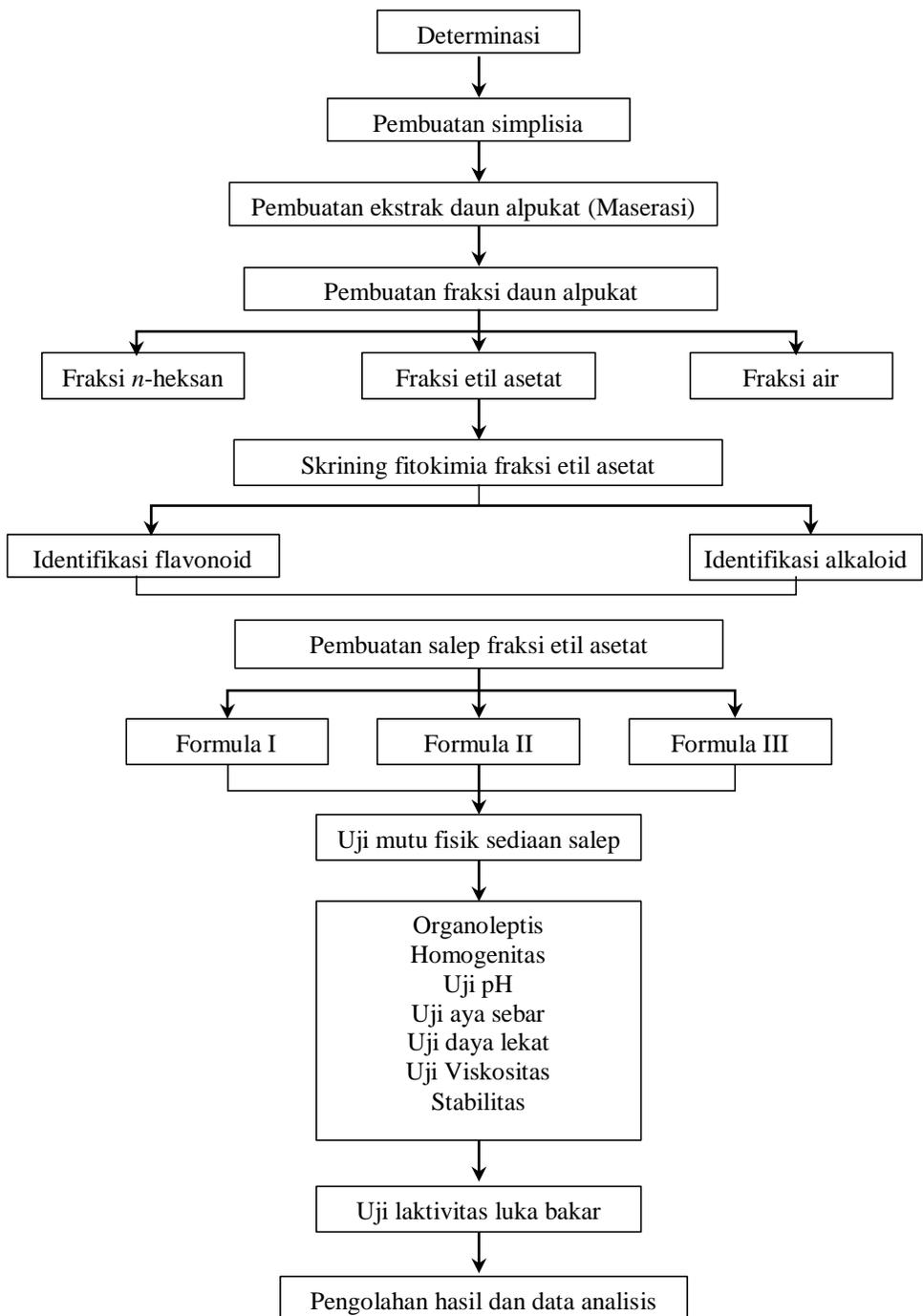
Keterangan:

- px = persentase penyembuhan luka pada hari ke x
dx1 = diameter luka bakar pada hari pertama
dxn = diameter luka bakar pada hari ke-n

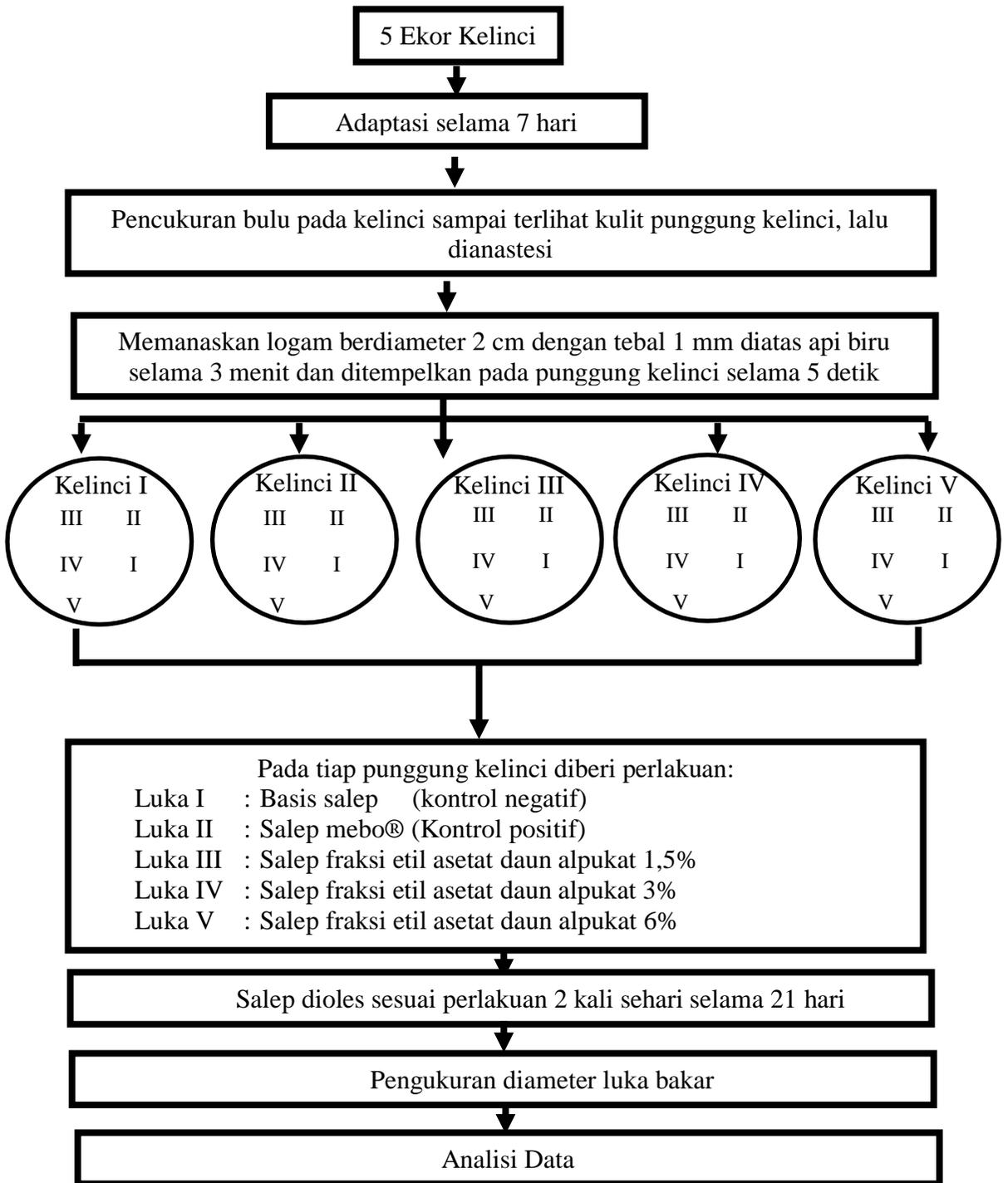
F. Analisis Data

Berdasarkan beberapa penjelasan yang telah dijabarkan, peneliti memperoleh beberapa data hasil pengujian dari sifat fisik sediaan salep seperti daya lekat, daya sebar, viskositas, pH, homogenitas, serta organoleptis. Hasil tersebut dilakukan pengujian statistik menggunakan *software* SPSS. Hasil uji aktivitas penyembuhan luka bakar dianalisis secara statistik menggunakan metode *Shapiro Wilk* digunakan untuk mengetahui normalitas data, lalu analisis dilanjutkan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk membandingkan diameter kelompok dan waktu penyembuhan luka bakar, lalu *Post Hoc Tukey*.

G. Skema Penelitian



Gambar 7. Skema pembuatan sediaan salep



Gambar 8. Skema pengujian aktivitas luka bakar