

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah jumlah dari keseluruhan objek yang akan diteliti. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah pohon pisang ambon (*M. acuminata*) yang diambil dari Desa Gandu, Kecamatan Mlarak, Kabupaten Ponorogo Provinsi Jawa Timur pada bulan Februari 2019.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian dari populasi yang hendak diamati dan dianggap bisa mewakili keseluruhan dari populasi. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah batang pisang ambon (*M. acuminata*).

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah uji aktivitas salep ekstrak etanol batang pisang ambon (*M. acuminata*) dan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinfeksi pada punggung kelinci .

2. Klarifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklarifikasikan dalam berbagai macam variabel diantaranya yaitu, variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol batang pisang ambon (*M. acuminata*) dalam salep berbasis hidrokarbon.

Variabel terkontrol yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulangi oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian batang pisang ambon (*M. acuminata*), bakteri uji *Staphylococcus aureus*, pembuatan

sediaan salep, tempat tumbuh tanaman, penelitian, laboratorium, pemilihan kelinci meliputi berat badan, kesehatan dan kebersihan.

Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri yang mengakibatkan infeksi pada kulit kelinci dilihat dari lama waktu kesembuhan yang ditandai dengan hilangnya eritma, tidak adanya nanah dan keringnya luka.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, batang pisang ambon (*M. acuminata*) adalah batang sejati atau yang biasa disebut bonggol dari tanaman pisang ambon yang diambil dari Desa Gandu, Kecamatan Mlarak, Kabupaten Ponorogo, Provinsi Jawa Timur pada bulan Februari 2019 sebanyak 6 kg.

Kedua, serbuk batang pisang ambon (*M. acuminata*) adalah batang ambon yang telah diperoleh kemudian dicuci dengan air mengalir bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, dipotong kecil, dikeringkan dibawah sinar matahari langsung, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40 dengan parameter kadar kelembapan serbuk $\leq 10\%$.

Ketiga, ekstrak etanol 96% batang pisang ambon (*M. acuminata*) adalah ekstrak yang diperoleh dari batang pisang ambon, diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Keempat, salep ekstrak etanol batang pisang ambon (*M. acuminata*) adalah sediaan semi padat yang dibuat dengan mencampurkan ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) dengan basis hidrokarbon. Basis salep yang digunakan adalah vaselin album dan adeps lanae yang cairkan diatas *waterbath* lalu diaduk ad homogen dengan nipasol kemudian ditambahkan ekstrak.

Kelima, kelinci percobaan adalah kelinci jantan putih (*New Zealand White*) berumur kurang lebih 2-3 bulan, berat kelinci 1,5-2 kg dan pengaplikasian pada kulit kelinci yaitu bagian kulit punggung kelinci yang telah dicukur.

Keenam, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri adalah aktivitas daya penyembuhan terhadap pertumbuhan bakteri pada punggung kelinci yang telah diinfeksi *Staphylococcus aureus* pada 5 lokasi dari 6 lokasi keseluruhan. Perlakuan pada 6 lokasi, terbagi atas 3 lokasi diberikan pengolesan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) dengan tiga perbedaan konsentrasi masing-masing konsentrasi 15%, 30%, dan 45%, sedangkan 3 lokasi lainnya masing-masing digunakan sebagai kontrol negatif dengan pemberian basis salep, kontrol positif dengan pemberian salep gentamisin dan kontrol normal dengan tidak diberikan perlakuan. Proses selanjutnya yaitu menentukan berapa lama waktu yang diperlukan sediaan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) dengan konsentrasi 15%, 30%, dan 45%, dapat bekerja secara optimal menyembuhkan kulit punggung kelinci yang terinfeksi.

Kedelapan, kesembuhan adalah proses sembuhnya kelinci dilihat dari hilangnya eritema, tidak terbentuknya nanah, keringnya luka infeksi dan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* pada kulit punggung kelinci sama dengan kontrol negatif.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pisang ambon (*M. acuminata*) yang diambil dari Desa Gandu, Kecamatan Mlarak, Kabupaten Ponorogo, Provinsi Jawa Timur pada bulan Februari 2019.

1.1. Hewan uji. Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci putih jantan (*New Zealand White*) berumur kurang lebih 2-3 bulan, berat kelinci 1,5-2 kg.

1.2. Bakteri uji. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

1.3. Media. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI).

1.4. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96 %, serbuk Mg, alkohol, asam klorida, amil alkohol, FeCl_3 1%, asam klorida (HCl) 2N, asam sulfat (H_2SO_4), asam sulfat (CH_3COOH), vaselin album, adeps lanae, nipasol, larutan standar buffer, fenolptalein, kalium hidroksida (KOH) 0,1 N, kalium tellurit 1%, cat Gram A (kristal violet), cat Gram B (lugol iodine), cat Gram C (etanol:aseton = 1:1), cat Gram D (safranin), hidrogen peroksida (H_2O_2) 3% dan plasma darah manusia

2. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi timbangan analitik (Ohaus), oven (Mettler), evaporator (Heidolph-Heisbad Hb Digit), viskometer (Rion CO), pH meter (Eutech), alat-alat gelas Pyrex, Jepang) dan non gelas yang terdapat di laboratorium.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi dan identifikasi tanaman pisang ambon

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel batang pisang ambon (*M. acuminata*), dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada batang pisang ambon terhadap pustaka yang dibuktikan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pengambilan dan pengeringan batang pisang ambon

Batang pisang ambon (*M. acuminata*) diambil dari Desa Gandu, Kecamatan Mlarak, Kabupaten Ponorogo, Provinsi Jawa Timur pada bulan Februari 2019. Batang pisang ambon diambil dengan cara memotong bagian batang semu yang menopang daun, kemudian mengambil batang sejati didalam tanah dan memisahkan nya dengan akar yang melekat pada batang sejati. Batang yang telah diperoleh dibersihkan dari kotoran dan cemaran menggunakan air, dipotong tipis menggunakan alat pemasah, dikeringkan dibawah sinar matahari langsung kemudian di sortir kering.

3. Pembuatan serbuk batang pisang ambon

Batang pisang ambon (*M. acuminata*) yang telah kering, kemudian diserbuk dengan alat penyerbuk dan diayak dengan menggunakan ayakan nomor 40 sampai serbuk terayak habis. Hasil penyerbukan yang berupa serbuk kering disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat, kemudian dilakukan prosentase bobot kering terhadap bobot basah.

4. Identifikasi serbuk batang pisang ambon

4.1. Pemeriksaan organoleptis serbuk. Identifikasi batang pisang ambon (*M. acuminata*) secara organoleptis meliputi warna, bau, dan rasa dari serbuk batang pisang ambon (*M. acuminata*).

4.2. Penetapan susut pengeringan. Susut pengeringan diukur dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Cara kerjanya yaitu serbuk batang pisang ambon dimasukkan ke dalam alat *Moisture Balance*, ditimbang sebanyak 2 gram, alat diatur dengan suhu 105°C, tunggu sampai alat memberikan tanda bunyi, maka akan menunjukkan hasilnya dalam satuan persen (%). Susut pengeringan serbuk simplisia sebaiknya tidak lebih dari 10%, karena bila lebih dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk, serta dalam penyimpanan akan tumbuh jamur, kapang dan mikroorganisme yang lain (Depkes 1995).

5. Pembuatan ekstrak etanol batang pisang ambon

Ekstrak etanol batang pisang ambon dibuat menggunakan pelarut 96% dengan proses maserasi. Perbandingan serbuk dengan pelarut yaitu 1:10 bagian. Serbuk batang pisang ambon ditimbang sebanyak 1000 gram dimasukkan ke dalam 4 botol maserasi dengan masing-masing 250 gram. Pelarut yang digunakan sebanyak 10.000 ml, pada 5 hari pertama digunakan $\frac{3}{4}$ pelarut, masing-masing botol maserasi dimasukkan 1.875 ml dengan dilakukan sesekali penggojokan kemudian disaring menggunakan kain flanel dan kertas saring. Ampas di maserasi kembali selama 2 hari menggunakan $\frac{1}{4}$ pelarut, masing-masing dimasukkan sebanyak 625 ml dan dilakukan perlakuan yang sama. Kemudian dipekatkan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C sampai diperoleh ekstrak yang kental.

6. Penetapan susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon

Penetapan susut pengeringan ekstrak batang pisang ambon dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Cara kerjanya yaitu ekstrak batang pisang ambon dimasukkan kedalam alat *Moisture Balance*, ditimbang sebanyak 2 gram, kemudian diatur dengan suhu 105°C, tunggu sampai alat memberikan tanda bunyi, dan hasil akan keluar dalam satuan persen (%). Susut pengeringan ekstrak sebaiknya tidak lebih dari 10%, karena bila lebih dapat menyebabkan perubahan kerja enzim dan perubahan kimia zat aktif sehingga menurunkan mutu serbuk, serta dalam penyimpanan akan tumbuh jamur, kapang dan mikroorganisme yang lain (Depkes 1995).

7. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak batang pisang ambon

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yaitu flavonoid, tanin dan saponin yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) dan dibuktikan di laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Identifikasi kandungan kimia batang pisang adalah sebagai berikut

7.1. Penyiapan sampel. Sebanyak 50-100 mg serbuk dan ekstrak etanol batang pisang ambon, ditambahkan 100 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A, kemudian diidentifikasi kandungan kimianya (Depkes 1995).

7.2. Identifikasi flavonoid. Larutan A sebanyak 5ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah 0,1 g serbuk Mg, 2ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1995).

7.3. Identifikasi tanin. Larutan A sebanyak 5ml dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambah pereaksi besi (III) klorida 1% (FeCl_3). Reaksi positif akan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman (Depkes 1995).

7.4. Identifikasi saponin. Larutan A sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian kocok kuat-kuat selama 10 menit, terbentuknya buih

selama tidak kurang dari 10 detik, setinggi 1-10 cm. Penambahan 1 tetes HCl 2N, jika buih yang terbentuk tetap ada menunjukkan serbuk dan ekstrak positif mengandung saponin (Depkes 1955).

8. Uji bebas etanol pada ekstrak batang pisang ambon

Uji bebas etanol dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) benar-benar bebas etanol. Uji esterifikasi dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan H₂SO₄ pekat (asam sulfat) dan CH₃COOH (asam asetat) kemudian dipanaskan. Uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol (Depkes 1995).

9. Pembuatan salep ekstrak batang pisang ambon

Formulasi standar dasar salep untuk uji antibakteri dengan basis hidrokarbon menurut Goeswin Agoes (2006) dalam jurnal Pongsipulung *et al.* (2013) yang sebelumnya sudah pernah dibuat. Sediaan salep yang akan dibuat dalam penelitian ini memiliki konsentrasi ekstrak batang pisang ambon yang berbeda-beda, yaitu 15%, 30%, 45% dan kontrol negatif sebanyak 5 gram.

Tabel 1. Formula Salep Sebagai Antibakteri

Bahan	FI (%)	FII(%)	FIII(%)	FIV(%)
Ekstrak semi cair	0,75	1,5	2,25	-
Adeps lanae	0,63	0,63	0,63	0,63
Nipasol	0,01	0,01	0,01	0,01
Vaselin album	Ad 5	Ad 5	Ad 5	Ad 5

Keterangan:

FI = Formula mengandung 15% ekstrak etanol batang pisang ambon

FII = Formula mengandung 30% ekstrak etanol batang pisang ambon

FIII = Formula mengandung 45% ekstrak etanol batang pisang ambon

FIV = Formula tidak mengandung ekstrak etanol batang pisang ambon (kontrol -)

Pembuatan salep ekstrak etanol batang pisang ambon (*M. paradisiaca*) dengan konsentrasi 15%, 30% dan 45%. Vaselin album dan adeps lanae ditimbang pada cawan porselin menggunakan neraca analitik. Setelah ditimbang dicairkan diatas *water bath* suhu 90°C sampai basis mencair, kemudian diaduk dalam mortir sampai homogen. Basis salep yang telah homogen ditambah dengan nipasol kemudian dicampur dengan ekstrak batang pisang ambon sesuai konsentrasinya sampai homogen. Sediaan salep yang telah didapat kemudian dimasukkan dalam pot salep

10. Pengujian mutu fisik sediaan salep

Pengujian sediaan salep pada ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) menggunakan uji organoleptis, homogenitas, uji pH, viskositas, daya sebar, daya lekat dan uji kemampuan proteksi .

10.1. Uji organoleptis. Pengujian organoleptis dilakukan pada sediaan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) yang sudah dibuat, untuk melihat secara visual penampilan fisik dari sediaan salep yang dibuat. Sediaan salep diamati dari konsistensinya, bau dan warna sediaan (Naibaho *et al*, 2013).

10.2. Uji homogenitas. Salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) yang sudah dibuat dari masing-masing konsentrasi diamati dengan cara sebanyak 0,5 g sediaan salep dioleskan pada *object glass*, diambil sediaan pada bagian atas, tengah dan bawah. Pengujian ini dilakukan untuk melihat secara fisik mengenai keseragaman bentuk salep. Salep kemudian diamati secara visual. Sediaan salep dikatakan homogen apabila tidak terdapat gumpalan atau butiran kasar pada tiap-tiap bagian. Susunan partikel-partikel tidak ada yang menggumpal atau tidak tercampur (Depkes 1979;Naibaho *et al*, 2013).

10.3. Uji pH. Pengujian pH menggunakan alat pH meter yang dikalibrasi menggunakan larutan standar buffer pH 4, 7, dan 9. Sebanyak 0,5 g salep ekstrak etanol dilarutkan dalam 50 mL air suling di dalam gelas beker. Elektroda dicelupkan dalam gelas beker selama 10 menit dan pH-meter dibiarkan sampai menunjukkan angka yang konstan (Depkes RI, 1995).

10.4. Uji viskositas. Viskositas sediaan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) diuji dengan menggunakan alat viskometer. Viskometer dipasang pada klemnya dengan arah horizontal atau tegak lurus dengan arah klem. Rotor dipasang pada viskometer dengan menguncinya berlawanan dengan arah jarum jam. Sampel dimasukkan kedalam mangkuk dan tempatkan rotar tepat ditengah mangkuk, kemudian alat dihidupkan . Kekentalan yang didapat dicatat setelah jarum pada viskometer stabil (Naibaho *et al*, 2013).

10.5. Uji daya sebar salep. Salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) yang sudah dibuat, ditimbang sebanyak 0,5 g diletakkan diatas kaca bulat berdiameter, kaca lainnya diletakkan diatasnya dan dibiarkan selama 1

menit. Diameter sebar salep diukur. Setelah itu, ditambahkan beban 50 g, 100 g dan didiamkan selama 1 menit lalu diukur diameternya (Naibaho *et al*, 2013).

10.6. Uji daya lekat salep. Sediaan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) sebanyak 0,25 g diletakkan diatas object glass yang telah ditentukan luasnya kemudian diletakkan object glass yang lain diatas salep tersebut. Salep diantara lempeng object glass ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit. Object glass yang saling menempel dipasang pada alat uji daya lekat dan dilepas pegasnya kemudian dicatat waktu saat obyek glass tersebut lepas (Naibaho *et al*, 2013).

10.7. Uji kemampuan proteksi. Sepotong kertas saring (10x10 cm), dibasahi dengan larutan fenolptalein untuk indikatornya, kemudian kertas saring dikeringkan. Kertas saring tersebut diolesi dengan salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) pada kertas saring tersebut. Kertas saring baru dibuat suatu area (2,5 x 2,5 cm) yang diolesi dengan parafin padat yang dilelehkan. Kertas saring tadi yang telah kering atau dingin akan terbentuk area yang dibatasi dengan parafin padat. Kertas saring tersebut ditempelkan diatas kertas saring yang diolesi ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) area ini ditetesi dengan sedikit larutan KOH 0,1 N. Lihat dibalik kertas yang dibasahi dengan larutan fenolptalein pada waktu 15:30:45:60 detik. Kertas saring tersebut apabila terdapat noda berwarna merah atau kemerahan dalam waktu lama berarti salep dapat memberikan proteksi terhadap larutan KOH (Naibaho *et al*, 2013).

11. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Biakan bakteri uji pada *Nutrien Agar* diambil 1-2 gores dengan ose, kemudian di masukkan ke dalam tabung yang berisi media BHI (*Brain Heart Infussion*) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan pada standar Mc Farland 0,5 yang kekeruhannya disesuaikan dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml bakteri *Staphylococcus aureus* (Bonang dan Koeswardono 1982).

12. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

12.1. Identifikasi bakteri dengan media gores. Suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada media VJA (*Vogel Johnson Agar*) dan ditambahkan kalium tellurit 1% kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu

37°C. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna kuning disekitar koloni karena *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan manitol menjadi suasana asam dan mereduksi tellulit sehingga membentuk koloni warna hitam (Jawetz *et al*, 2007) .

12.2. Pewarnaan bakteri Gram positif. Pewarnaan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (Lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol : aseton = 1:1 sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Bakteri *Staphylococcus aureus* dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur dengan pengamatan dibawah mikroskop.

12.3. Identifikasi biokimia. Identifikasi biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji dengan penambahan 2 tetes hidrogen peroksida 3% (H_2O_2). Hidrogen peroksida (H_2O_2) akan terurai menjadi H_2 dan O_2 , hasil dinyatakan positif bila terbentuk gelembung udara, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase (Jawetz *et al*, 2007). Uji koagulase dapat menggunakan plasma darah manusia atau kelinci sebanyak 0,3 ml kemudian ditambah 0,1 ml kultur atau suspensi bakteri pada media BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C. Diamati adanya penggumpalan setelah 4-6 jam. Hasil positif kuat jika tabung pengujian dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (BSN 2011).

13. Penyiapan hewan uji

Hewan uji kelinci jantan sebanyak 3 ekor dengan umur kurang lebih 2-3 bulan, berat kurang lebih 1,5-2 kg. Kelinci diaklimatisasi dengan lingkungan tempat penelitian selama 5 hari sebelum perlakuan yang bertujuan agar hewan uji terbiasa dengan lingkungan dan perlakuan baru. Hewan uji ditempatkan dalam kandang, diberi makan dan minum yang cukup untuk setiap harinya.

14. Pengujian aktivitas antibakteri

Hewan kelinci yang telah dilakukan aklimatisasi, dilakukan proses pencukuran rambut kelinci pada 6 daerah di punggung, 3 di bagian kanan dan 3 di bagian kiri dengan jarak masing-masing kurang lebih 5 cm dan lebar 5 cm.

Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinfeksi secara subkutan sebanyak 0,2 ml pada kulit punggung kelinci yaitu pada 5 lokasi.

Diamati selama 24-48 jam untuk terbentuknya eritema bahkan nanah. Pemberian salep dilakukan setelah 48 jam pada daerah infeksi. Salep ekstrak batang pisang ambon (*M. acuminata*) dengan konsentrasi 15%, 30% dan 45% dioleskan masing-masing pada 3 lokasi dibagian kiri punggung kelinci, sedangkan 3 lokasi dibagian kanan masing-masing sebagai kontrol negatif dengan pemberian basis salep, kontrol positif dengan pemberian antibiotik gentamisin dan kontrol normal dengan tanpa perlakuan. Pemberian salep dilakukan 2 kali sehari sampai semua daerah infeksi sembuh.

15. Pengamatan kesembuhan

Pengamatan secara makroskopis dilakukan dengan cara mengamati secara klinis waktu penyembuhan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinfeksi pada punggung kulit kelinci setelah pemberian salep dengan 3 konsentrasi yang berbeda. Kesembuhan dinyatakan dengan hilangnya eritema, tidak terbentuk nanah dan keringnya luka pada kulit yang terinfeksi.

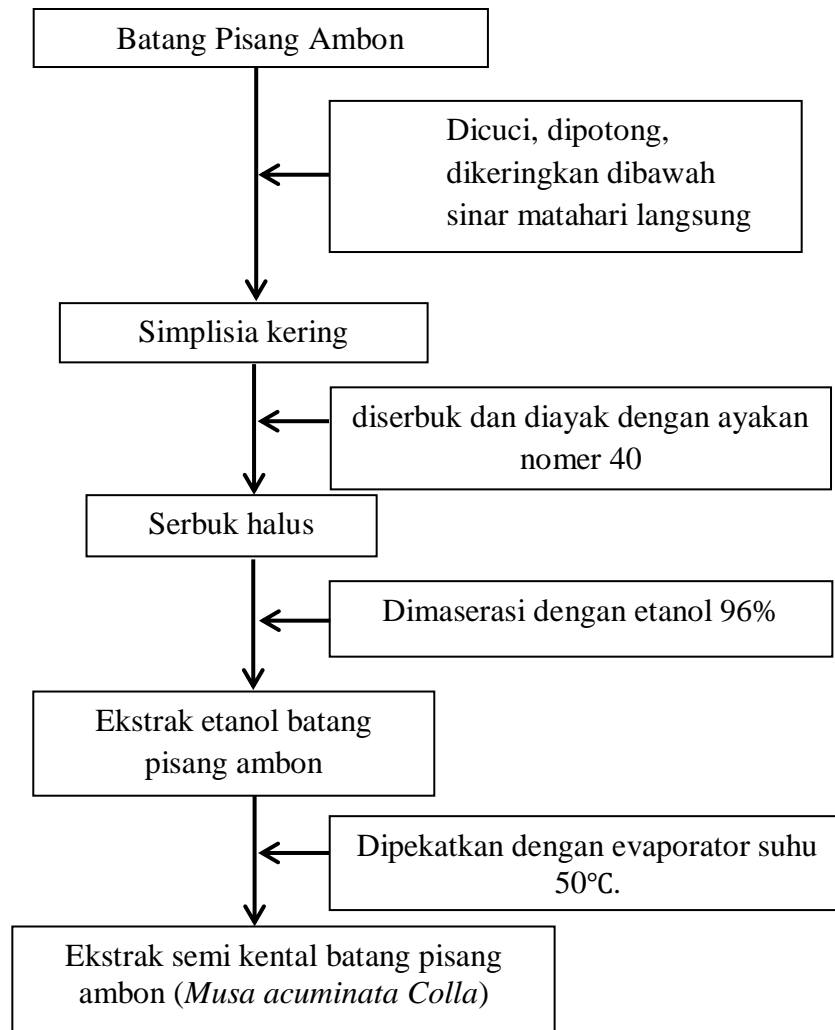
E. Analisis Data

Data hasil pengujian efek antibakteri sediaan salep ekstrak etanol batang pisang ambon (*M. acuminata*) konsentrasi 15%, 30% dan 45% dengan waktu penyembuhan dianalisa secara statistik menggunakan Kolmogrov-Smirnov. Hasil yang diperoleh jika terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan metode ANOVA satu jalan taraf kepercayaan 95%. Pengujian dilanjutkan dengan uji Turkey untuk mengetahui konsentrasi yang memiliki pengaruh sama atau berbeda antara satu dengan lainnya. Hasilnya jika terdistribusi tidak normal ($p > 0,05$) maka dilakukan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk mengetahui konsentrasi yang memiliki pengaruh yang sama atau berbeda antara satu dengan yang lainnya.

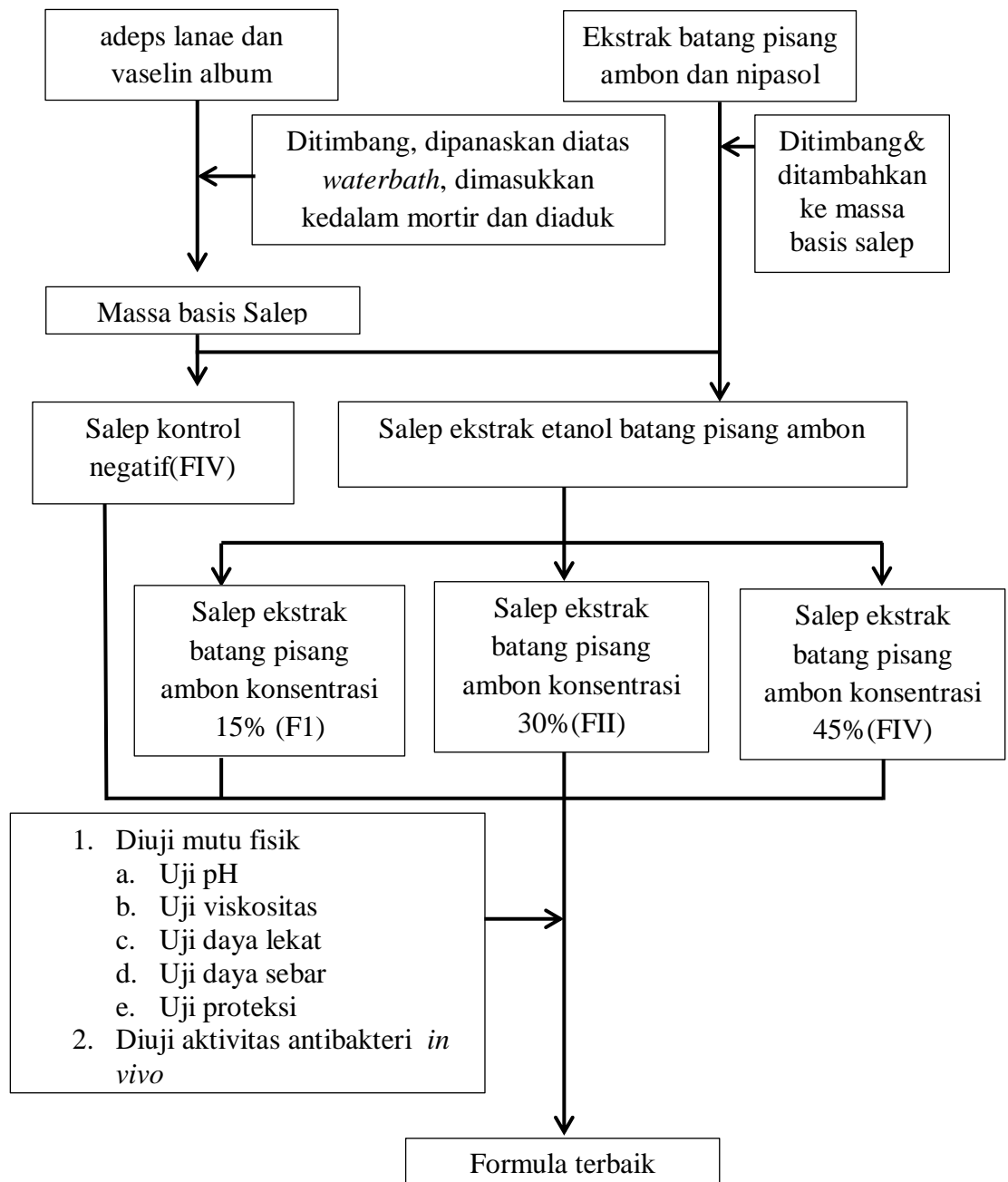
Data uji pH, viskositas, daya lekat, dan daya sebar dianalisis secara statistik menggunakan Kolmogrov-Smirnov, jika terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan analisa ANOVA dua jalan taraf kepercayaan 95%. Hasilnya jika tidak terdistribusi

normal ($p > 0,05$) maka dilakukan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan uji Mann-Whitney jika H_0 ditolak atau ($p > 0,05$) (Dahlan 2009).

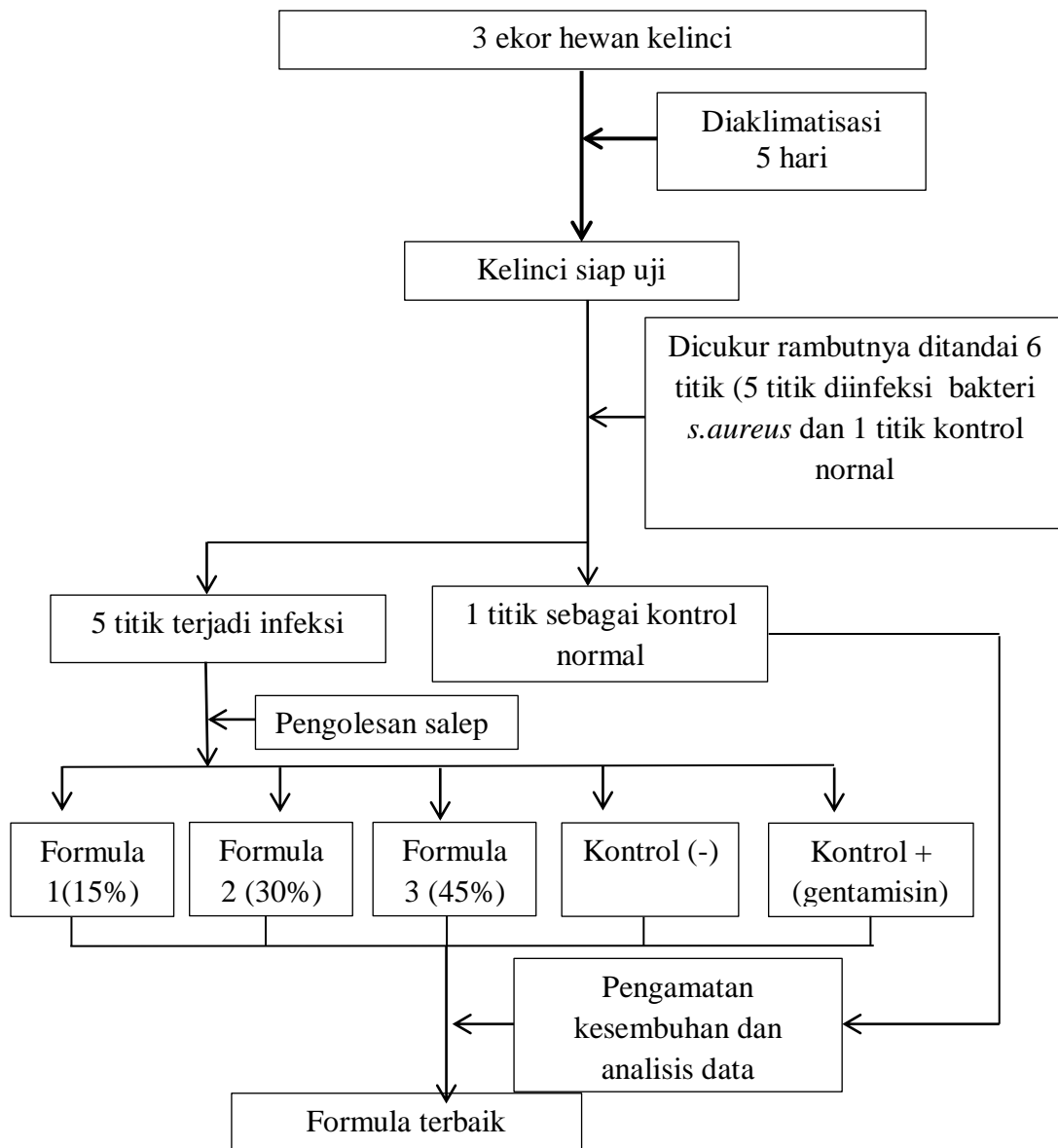
F. Skema Jalannya Penelitian



Gambar 1. Skema Pembuatan Ekstrak Etanol 96% Batang Pisang Ambon (*Musa acuminata Colla*)



Gambar 2. Skema pembuatan dan pengujian salep ekstrak etanol 96% batang pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) dengan konsentrasi 15%, 30% dan 45%



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri salep ekstrak etanol batang pisang ambon (*Musa acuminata* Colla) pada kelinci yang terinfeksi *S.aureus*