

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun binahong dan daun wungu (didapatkan dari UPF (Unit Pelaksana Fungsional) , Tawangmangu, Jawa Tengah. Pemanenan dilakukan pada bulan Februari saat musim kemarau karena pada bulan tersebut cuaca hujan tidak terlalu tinggi.

Sampel dalam penelitian ini adalah daun binahong yang dipetik secara acak, tidak terlalu tua, daunnya berwarna hijau, segar, bebas dari hama dan daun wungu yang dipetik secara acak, masih muda, daunnya berwarna ungu, segar dan bebas dari hama.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama dari penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun binahong dan daun wungu yang diperoleh melalui metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama dapat dikelompokkan ke dalam beberapa jenis yaitu, variabel variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

**2.1. Variabel Bebas.** Merupakan variabel yang mempengaruhi atau menyebabkan terjadinya perubahan pada variabel terikat. Dalam penelitian ini, variabel bebasnya adalah ekstrak daun binahong dan daun wungu dengan konsentrasi daun binahong dan daun wungu 2,5%:7,5% ; 5%:5% ; 7,5%:2,5%

**2.2. Variabel Tergantung.** Merupakan hasil atau dampak dari variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel tergantungnya meliputi mutu fisik gel yang memenuhi persyaratan kualitas serta efektivitas kombinasi ekstrak daun binahong dan daun wungu dalam mempercepat penyembuhan luka sayat pada kelinci *New Zealand White*.

**2.3. Variabel terkendali.** Merupakan variabel variabel yang dapat memengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu dikontrol agar hasil yang diperoleh dapat diukur dengan tepat dan konsisten. Dalam penelitian ini, variabel kendalinya meliputi proses ekstrak kental, jenis peralatan yang digunakan, kedalaman pencukuran bulu, panjang luka

sayat yang dibuat, serta kondisi fisik hewan uji yang mencakup usia, bobot, galur, pakan, kandang, dan kondisi laboratorium.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini dipetik secara acak dari UPF (Unit Pelaksana Fungsional), Tawangmangu, Jawa Tengah. Daun yang dipilih memiliki karakteristik daunnya berwarna hijau, segar dan bebas dari serangan hama.

Kedua, daun wungu yang digunakan dalam penelitian ini dipetik secara acak dari UPF, Tawangmangu, Jawa Tengah. Daun yang dipilih memiliki karakteristik daunnya berwarna ungu, tidak terlalu tua, segar dan bebas dari serangan hama.

Ketiga, serbuk daun binahong diperoleh dari daun binahong yang telah dicuci bersih, dikeringkan, dan digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus, kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40.

Keempat, serbuk daun wungu diperoleh dari daun binahong yang telah dicuci bersih, ditiriskan, dan dikeringkan. Selanjutnya, daun dikeringkan dan digiling menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk tersebut kemudian diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40 untuk mendapatkan ukuran partikel yang seragam.

Kelima, ekstrak daun binahong merupakan ekstrak kental yang dihasilkan melalui metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Proses selanjutnya melibatkan pemekatan ekstrak menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 40°C, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Keenam, ekstrak daun wungu merupakan ekstrak kental yang dihasilkan melalui metode ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 70%. Proses selanjutnya melibatkan pemekatan ekstrak menggunakan alat rotary evaporator pada suhu 40°C, kemudian diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental.

Ketujuh, hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kelinci jantan *New Zealand White* berusia 4 bulan dengan bobot antara 4,5 hingga 5 kg.

Kedelapan, luka sayat adalah luka yang dibuat dengan cara menyayat punggung kelinci menggunakan pisau bedah/ scaple dan dibuat luka sayat sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,3 cm.

Kesembilan, gel daun binahong adalah sediaan gel yang dibuat dengan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong sebagai zat aktif, yang dicampur menggunakan basis *gelling agent* HPMC.

Kesepuluh, gel daun wungu adalah sediaan gel yang dibuat dengan variasi konsentrasi ekstrak daun binahong sebagai zat aktif, yang dicampur menggunakan basis *gelling agent* HPMC.

Kesebelus, uji mutu fisik sediaan gel mencakup beberapa pengujian, yaitu uji organoleptis, pH, homogenitas, daya sebar, daya lekat, viskositas dan uji stabilitas.

Keduabelas, uji organoleptik adalah pengujian yang dilakukan secara visual yang dapat dilihat secara langsung dari bentuk, warna, bau, dari gel yang dibuat. Gel biasanya jernih dengan konsentrasi stengah padat.

Ketigabelas, uji pH bertujuan untuk memastikan bahwa gel yang dihasilkan memiliki pH yang dapat diterima oleh kulit, karena pH yang tidak sesuai dapat menyebabkan iritasi. Sementara pH normal kulit berkisar antara 5,0 – 6,5.

Keempatbelas, uji homogenitas dengan cara sampel gel dioleskan pada keping kaca, sediaan yang homogen menjamin jumlah zat aktif yang seragam.

Kelimabelas, uji daya sebar adalah untuk mengetahui seberapa baik sediaan gel menyebar di permukaan kulit. Semakin besar daya sebar pada sediaan gel maka akan semakin baik.

Keenambelas, uji daya lekat adalah untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan oleh gel untuk melekat di kulit. Syarat daya lekat yang baik yaitu lebih dari 1 detik.

Ketujuhbelas, uji stabilitas adalah untuk mengetahui bahwa sediaan yang dibuat dapat mempertahankan kestabilan fisik dalam penyimpanan pada waktu tertentu menggunakan metode cycling test.

Kedelapanbelas, aktivitas penyembuhan luka sayat adalah kemampuan gel ekstrak kombinasi binahong dan daun wungu pada penyembuhan luka sayat yang berdasarkan parameter penutupan panjang luka, lama penyembuhan luka sayat.

Kesembilanbelas, Konsentrasi efektif adalah konsentrasi gel ekstrak daun binahong dan wungu yang bisa menyembuhkan panjang luka yang sebanding dengan kontrol positif, sedangkan hari penyembuhan adalah yang tidak berbeda signifikan tetapi dapat dilihat dari rata-rata panjang luka terkecil.

## C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

### 1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium, timbangan analitik, oven, alat grinding, ayakan no mesh 40, *rotary evaporator*, alat gelas kaca, pot gel, mortir, stamper, *viscometer brookfield*, pH meter, kaca bulat, obyek glass, timbangan gram, pisau bedah, alat cukur bulu, penggaris, gunting, masker, *handscoons*, kaca arloji.

### 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstrak daun binahong dan daun wungu, yang didapatkan dari UPF, Tawangmangu, Jawa Tengah. Hewan uji yang digunakan yaitu kelinci jantan *New Zealand White* yang telah di sesuikan selama 7 hari kemudian dilakukan luka sayat menggunakan pisau bedah yang steril. Bahan tambahan lainnya yang digunakan dalam sediaan gel yaitu HPMC, propilen glikol, metil paraben, propil paraben, *aquadest*.

### 3. Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kelinci *New Zealand White* yang berusia 4 bulan dengan bobot antara 4,5 hingga 5 kg.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. *Ethical clearance* (EC)

*Ethical clearance* (EC) merupakan keterangan tertulis yang diterbitkan oleh komisi etik penelitian yang telah tersertifikasi secara resmi, surat yang diterbitkan digunakan untuk melakukukan suatu riset dengan melibatkan makhluk hidup seperti hewan uji maupun manusia. Perizinan *ethical clearance* dilakukan di RSUD Dr.Moewardi, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah.

### 2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman untuk memastikan kebenaran atas identitas bahan baku yang digunakan telah benar dari tanaman yang sesuai dalam proposal penelitian, sehingga kesalahan dalam pengumpulan bahan dapat dihindari. Proses determinasi ekstrak daun binahong dan daun wungu dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur. Proses ini cukup penting sebab menjadi awal permulaan dari penelitian, apabila dilakukan kesalahan dalam identifikasi maka menyebabkan hasil yang diperoleh juga tidak valid dan memiliki risiko

kesalahan yang besar. UPT Laboratorium Herbal Materia Medica Batu, Malang, Jawa Timur merupakan lembaga resmi pemerintahan yang memiliki sertifikasi dalam bidang determinasi.

### **3. Pengumpulan sampel**

Sampel daun binahong dan daun wungu diperoleh dari UPF (Unit Pelaksana Fungsional), Tawangmangu, Jawa Tengah. Daun binahong dipilih dengan ciri-ciri berwarna hijau tua, segar, tidak rusak, dan bebas dari hama. Daun binahong kemudian dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih dari kotoran, debu, dan tanah yang menempel, kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C-50°C. Sementara itu, daun wungu dipilih dengan ciri-ciri berwarna ungu, segar, dan bebas dari hama. Daun wungu juga dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C-50°C. Proses ini dilakukan dengan hati-hati agar diperoleh hasil senyawa yang optimal. Pengambilan sampel di daerah tersebut dikarenakan daerah Tawangmangu merupakan daerah yang dingin sehingga sangat banyak ditemui tanaman tersebut, atau dengan kata lain daerah tersebut tergolong memiliki sumber daya bahan baku daun binahong dan daun wungu yang melimpah.

### **4. Pembuatan serbuk daun binahong dan daun wungu**

Serbuk daun binahong dan daun wungu yang sudah kering di *grinding*, lalu diayak menggunakan ayakan dengan nomor mesh 40. Hasil serbuk yang sudah jadi kemudian disimpan dalam wadah yang kering, bersih, dan tertutup rapat. Selanjutnya, dilakukan perhitungan persentase berat bobot kering berdasarkan berat bobot basah. Penggilingan ini diharapkan dapat memperkecil ukuran serta memperbanyak senyawa yang dapat tersari. Semakin kecil ukuran partikel diharapkan semakin banyak partikel tersebut dapat berkонтak dengan pelarut yang digunakan.

### **5. Penetapan susut pengeringan serbuk**

Penetapan susut pengeringan serbuk menggunakan alat Moisture Balance dengan suhu 105°C. Sebanyak 2 gram serbuk daun binahong dan daun wungu ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam alat. Proses pengeringan berlangsung selama 4-7 menit hingga bobotnya konstan. Susut pengeringan daun binahong dan daun wungu menurut persyaratan yaitu tidak lebih dari 10 % (Kemenkes RI, 2017).

$$\text{Susut Pengeringan (\%)} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot setelah dikeringkan}}{\text{bobot awal sebelum dikeringkan}} \times 100 \%$$

## 6. Identifikasi kandungan kimia serbuk

**6.1. Flavonoid.** Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat, dan amil alkohol. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah hingga jingga pada lapisan amil alcohol (A. Disi *et al.*, 2023). Adanya variasi warna yang dihasilkan pada uji flavonoid ini disebabkan karena adanya perbedaan jenis atau golongan flavonoid yang terkandung dalam sampel.

**6.2. Saponin.** Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan kemudian kocok dengan kuat selama 10 detik dan akan membentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit, kemudian ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N. Hasil positif yaitu buih tidak hilang (A. Disi *et al.*, 2023).

**6.3. Alkaloid.** Ditimbang 500 mg sampel, ditambahkan 1 mililiter HCl 2N dan 9 mililiter air. Kemudian dipanaskan selama dua menit di atas penangas air, lalu didinginkan dan disaring. Menurut Meyer dan Bouchardat, tiga tetes filtrat dimasukkan ke dalam dua kaca arloji, dan dua tetes larutan pereaksi (LP) ditambahkan ke masing-masing kaca arloji untuk menghasilkan reaksi. Jika LP Meyer menghasilkan endapan atau gumpalan putih atau putih kekuningan, dan LP Bouchardat menghasilkan endapan coklat, dari coklat kemerahan hingga coklat kehitaman, maka ada kemungkinan bahwa alkaloid ada (A. Disi *et al.*, 2023).

**6.4. Tannin.** Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan  $\text{FeCl}_3$ . Hasil positif tanin ditunjukkan warna biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (A. Disi *et al.*, 2023).

**6.5. Triterpenoid.** Sebanyak 0,5 g sampel diupkan cawan penguap, kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Lieberman-Burchard yang berisi anhidrida asetat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil positif triterpenoid terbentuknya warna merah sampai ungu (A. Disi *et al.*, 2023).

## 7. Penetapan kadar air ekstrak

Penetapan kadar air ekstrak daun binahong dan daun wungu dilakukan dengan metode gravimetri. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan 10 g ekstrak ke dalam wadah yang telah ditara terlebih dahulu, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 105°C

selama 5 jam. Setelah itu, ekstrak ditimbang. Pengeringan kemudian dilanjutkan dan ditimbang kembali setiap 1 jam hingga perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut <0,25% (Kemenkes RI, 2017). Penetapan kadar air pada ekstrak penting dilakukan karena untuk memperpanjang umur simpan sediaan. Pengujian ini dilakukan sekurang-kurangnya sebanyak 3 kali pengulangan untuk melihat kevalidan hasil yang diperoleh.

## **8. Pembuatan ekstrak etanol**

Ekstrak daun binahong dan daun wungu dilakukan proses ekstraksi dengan metode maserasi. Maserasi dilakukan dengan perbandingan 1:10. Serbuk binahong ditimbang sebanyak 400 gram dan daun wungu 800 gram dimasukkan kedalam wadah kaca gelap lalu ditambahkan pelarut etanol 70%. Rendam selama 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, diamkan hingga 18 jam. Simplisia yang dimerasi disaring menggunakan kain flannel dan kertas saring kemudian dimasukkan ke wadah kaca. Sisa filtrat dilakukan kembali remerasi sebanyak 1 kali, kemudian dilakukan pemekatan pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental (Kemenkes RI, 2017). Ekstraksi ini digunakan untuk memperoleh senyawa dan memisahkannya dari resudu ampas yang tidak diharapkan. Ekstraksi dilakukan remerasi dengan jumlah pelarut sekurang-kurangnya adalah setengah dari pelarut awal. Hasil rendemen dihitung menggunakan rumus:

$$\% \text{ Rendemen} : \frac{\text{bobot ekstrak yang diperoleh (gram)}}{\text{bobot simplisia sebelum di ekstraki (gram)}} \times 100\%$$

## **9. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun binahong dan daun wungu**

**9.1. Flavonoid.** Sebanyak 0,5 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan serbuk magnesium 0,5 g dan 3 tetes HCl pekat, dan amil alkohol. Campuran dikocok kuat dan biarkan memisah. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alcohol. Jingga sampai merah untuk flavon, merah sampai merah tua flavanol, merah tua sampai magenta (merah keunguan) untuk flavanon (A. Disi *et al.*, 2023). Adanya variasi warna yang dihasilkan pada uji flavonod ini disebabkan karena adanya perbedaan jenis atau golongan flavonoid yang terkandung dalam sampel.

**9.2. Saponin.** Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas, dinginkan

kemudian kocok dengan kuat selama 10 detik dan akan membentuk buih setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit, kemudian ditambahkan 1 tetes asam klorida 2N. Hasil positif yaitu buih tidak hilang (A. Disi *et al.*, 2023).

**9.3. Alkaloid.** Ditimbang 500 mg sampel, ditambahkan 1 mililiter HCl 2N dan 9 mililiter air. Kemudian dipanaskan selama dua menit di atas penangas air, lalu didinginkan dan disaring. Menurut Meyer dan Bouchardat, tiga tetes filtrat dimasukkan ke dalam dua kaca arloji, dan dua tetes larutan pereaksi (LP) ditambahkan ke masing-masing kaca arloji untuk menghasilkan reaksi. Jika LP Meyer menghasilkan endapan atau gumpalan putih atau putih kekuningan, dan LP Bouchardat menghasilkan endapan coklat, dari coklat kemerahan hingga coklat kehitaman, maka ada kemungkinan bahwa alkaloid ada (A. Disi *et al.*, 2023).

**9.4. Tanin.** Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan FeCl<sub>3</sub>. Hasil positif tanin ditunjukkan warna biru kehitaman (tanin galat) atau hijau kehitaman (tanin katekol) (A. Disi *et al.*, 2023).

**9.5. Triterpenoid.** Sebanyak 0,5 g sampel diupkan cawan penguap, kemudian ditambahkan beberapa tetes pereaksi Lieberman-Burchard yang berisi anhidrida asetat dan asam sulfat pekat (2:1). Hasil positif triterpenoid terbentuknya warna merah sampai ungu (A. Disi *et al.*, 2023).

## 10. Pembuatan gel

Gel dibuat dengan mendispersikan HPMC dalam aquadest pada suhu 80–90 derajat Celcius. Metil paraben dan propil paraben dilarutkan dalam propilen glikol. Setelah itu, ekstrak dicampur dengan basis HPMC. Aquadest ditambahkan secara manual ke 100 mililiter hingga massa gel terbentuk, dan kemudian dimasukkan ke dalam wadah gel. Selanjutnya, uji untuk mengevaluasi kualitas fisik gel dilakukan.

Studi ini menggunakan tiga variasi konsentrasi ekstrak pada masing-masing daun. Pada daun binahong, konsentrasi ekstrak adalah 2,5%, 5%, dan 7,5%; dan pada daun wungu, konsentrasi ekstrak adalah 7,5%, 5%, dan 2,5%. Penelitian ini menggunakan bioplacenton sebagai kontrol positif dan basis gel sebagai kontrol negatif (KN). Tabel 1 menunjukkan rancangan komposisi sediaan gel ekstrak daun binahong dan daun wungu.

**Tabel 1 Rancangan komposisi gel ekstrak daun binahong dan wungu**

| <b>Bahan</b>          | <b>Fungsi</b> | <b>Konsentrasi ekstrak daun binahong dan wungu (%)</b> |           |           |           |           |             |
|-----------------------|---------------|--|-----------|-----------|-----------|-----------|-------------|
|                       |               | <b>F1</b>  | <b>F2</b> | <b>F3</b> | <b>F4</b> | <b>F5</b> | <b>K(-)</b> |
| Ekstrak daun binahong | Zat aktif     | 2,5  | 5         | 7,5       | 10        | -         | -           |
| Ekstrak daun wungu    | Zat aktif     | 7,5  | 5         | 2,5       | -         | 10        | -           |
| HPMC                  | Basis gel     | 2  | 2         | 2         | 2         | 2         | 2           |
| Propilenglikol        | Humektan      | 15   | 15        | 15        | 15        | 15        | 15          |
| Metilparaben          | Pengawet      | 0,075  | 0,075     | 0,075     | 0,075     | 0,075     | 0,075       |
| Propilparaben         | Pengawet      | 0,025  | 0,025     | 0,025     | 0,025     | 0,025     | 0,025       |
| Aquadest ad           | Pelarut       | 100  | 100       | 100       | 100       | 100       | 100         |

Keterangan :

F1 : gel kombinasi ekstrak daun binahong dan wungu konsentrasi 2,5 %;7,5%

F2 : gel kombinasi ekstrak daun binahong dan wungu konsentrasi 5 %;5 %

F3 : gel kombinasi ekstrak daun binahong dan wungu konsentrasi 7,5 %;2,5%

F4 : gel ekstrak tunggal daun binahong 10 %

F5 : gel ekstrak tunggal daun wungu 10 %

K (-) : gel tanpa ekstrak daun binahong dan wungu

## 11. Pengujian mutu fisik sediaan gel

**11.1. Uji organoleptik.** Uji ini dilakukan secara pengamatan visual dan dilihat langsung dengan mata, yang meliputi kondisi bentuk, warna, bau, dari gel yang di buat (Farid *et al.*, 2020). Uji organoleptik sangat penting dilakukan untuk meningkatkan ketertarikan konsumen dari segi penampakan bentuk sediaan secara visual, sediaan yang memiliki warna, bentuk, dan aroma yang menarik akan semakin meningkatkan daya pikat kepada konsumen.

**11.2. Uji homogenitas.** Pengujian homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioles diantara dua keping kaca bening. Sediaan yang baik harus menunjukkan susunan komponen sediaan yang tidak ada butiran kasar (Farid *et al.*, 2020). Butiran yang kasar atau menggumpal menyebabkan distribusi zat aktif tidak merata dan menurunkan kenyamanan dalam pengaplikasian pada kulit.

**11.3. Uji viskositas.** Pengujian viskositas menggunakan alat *viskometer brookfield* dengan cara spindle dipasang pada viscometer kemudian masukkan sampel yang akan diuji pada beaker glass, atur spindle dan rpm kemudian tekan mulai, kemudian akan muncul hasil pada layar dengan satuan cP. nilai viskositas gel yang baik 2.000-50.000 cP (Farid *et al.*, 2020).

**11.4. Uji daya lekat.** Uji daya lekat dilakukan dengan cara sediaan gel ditimbang sebanyak 1 gram letakkan diatas obyek glass dan ditutup dengan obyek glass yang lainnya, kemudian berikan tekanan pada sampel dengan meletakkan beban 1 kg biarkan selama 5 menit, lalu pasangkan obyek glass pada alat uji dan lepaskan beban seberat 80 g catat waktunya hingga kedua obyek glass tersebut terlepas, ulangi sebanyak 3 kali. Syarat daya lekat yaitu >1 detik (Farid *et al.*, 2020).

**11.5. Uji daya sebar.** Uji daya sebar dilakukan dengan cara sediaan gel ditimbang sebanyak 0,5 g letakkan ditengah alat kaca bulat, kemudian letakkan kaca lainnya sebagai penutup biarkan selama 1 menit, catat diameter yang menyebar, teruslah menambah tiap kali dengan beban tambahan 50 g ( hingga mencapai bobot tambahan 250 g) catat diameter yang menyebar setelah 1 menit. Daya sebar gel yang baik antara 5-7 cm (Farid *et al.*, 2020).

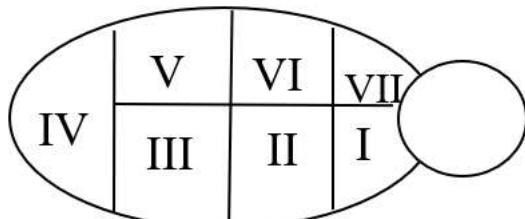
**11.6. Uji pH.** Uji ini dilakukan dengan cara mengkalibrasi alat pH meter, kemudian celupkan elektroda ke dalam sediaan gel tunggu hingga pembaca stabil kemudian catat nilai pH yang muncul di alat pH meter. Nilai pH yang aman untuk kulit yaitu sekitar 4,5- 6,5 (Farid *et al.*, 2020).

**11.7. Uji stabilitas.** Uji ini dilakukan dengan menggunakan metode *cycling test* dengan cara sediaan disimpan pada suhu 4°C selama 24 jam dan 40°C selama 24 jam dianggap 1 siklus. Ulangi uji ini sampai 6 siklus, kemudian amati ada tidaknya ketidakstabilan pada gel (Farid *et al.*, 2020).

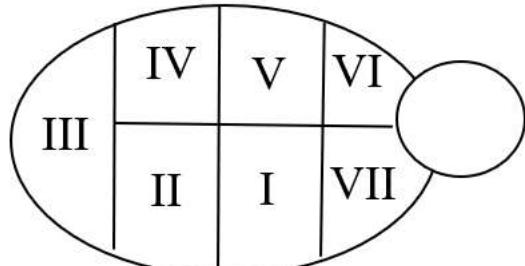
## 12. Pengelompokan hewan uji

Pada penelitian ini akan menggunakan 5 ekor hewan uji kelinci. Kelinci yang akan digunakan yaitu kelinci yang berjenis kelamin jantan dengan usia 4 bulan dan berat 4,5-5 kg. Setiap masing masing kelinci mendapatkan 7 perlakuan yang berbeda-beda pada punggung hewan uji dengan 7 lokasi luka sebagai berikut :

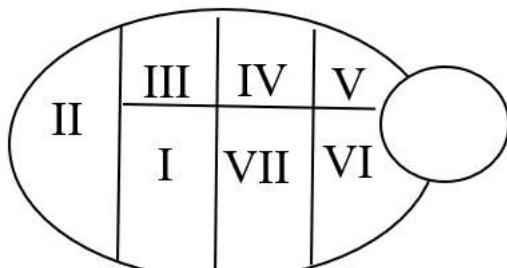
- Perlakuan I : dioleskan kontrol negatif sebanyak dua kali sehari.
- Perlakuan II : dioleskan gel F1 sebanyak dua kali sehari.
- Perlakuan III : dioleskan gel F2 sebanyak 2 kali sehari.
- Perlakuan IV : dioleskan gel F3 sebanyak 2 kali sehari.
- Perlakuan V : dioleskan gel F4 sebanyak dua kali sehari.
- Perlakuan VI : dioleskan gel F5 sebanyak dua kali sehari.
- Perlakuan VII : dioleskan sebanyak dua kali sehari kontrol positif



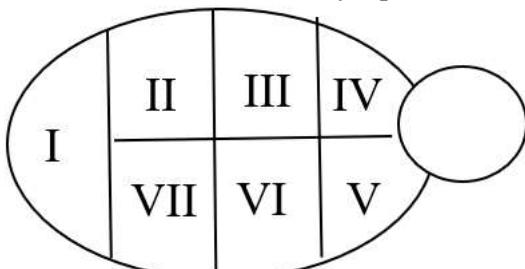
Gambar 10. Perlakuan luka sayat pada kelinci 1



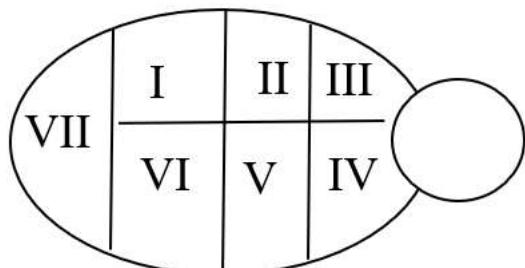
Gambar 11. Perlakuan luka sayat pada kelinci 2



Gambar 12. Perlakuan luka sayat pada kelinci 3



Gambar 13. Perlakuan luka sayat pada kelinci 4



Gambar 14. Perlakuan luka sayat pada kelinci 5

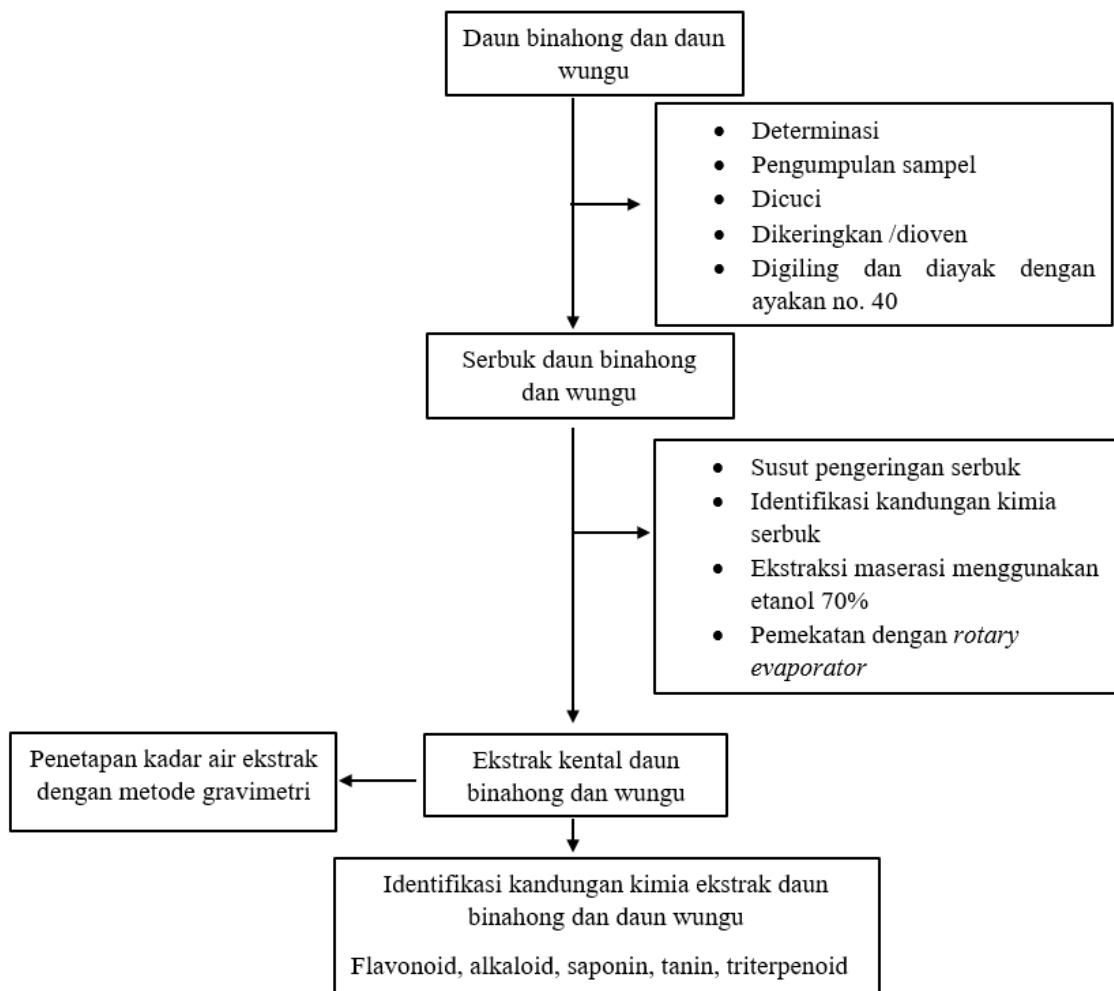
### **13. Perlakuan hewan uji**

Hewan uji kelinci diadaptasikan terlebih dahulu pada lingkungan selama kurang lebih 7 hari dengan pemberian pakan standar dan air minum secukupnya. Setiap ekor hewan uji diberi perlakuan sesuai dengan semua formula yang digunakan serta kontrol positif. Sehari sebelum perlakuan luka sayat, bulu pada punggung kelinci dicukur menggunakan gunting hingga kulit punggung kelinci terlihat. Luka sayat dengan panjang 2 cm dan kedalaman 0,3 cm dibuat pada punggung kelinci menggunakan pisau bedah. Luka sayat yang dibuat diberi perlakuan sebanyak dua kali sehari dengan mengoleskan sediaan gel yang telah dibuat. Perlakuan ini dilakukan setiap hari, dan panjang luka diukur menggunakan penggaris dari hari pertama hingga luka sembuh. Pengamatan terhadap proses penyembuhan luka dilakukan 1 kali sehari setiap sore selama 14 hari berturut-turut.

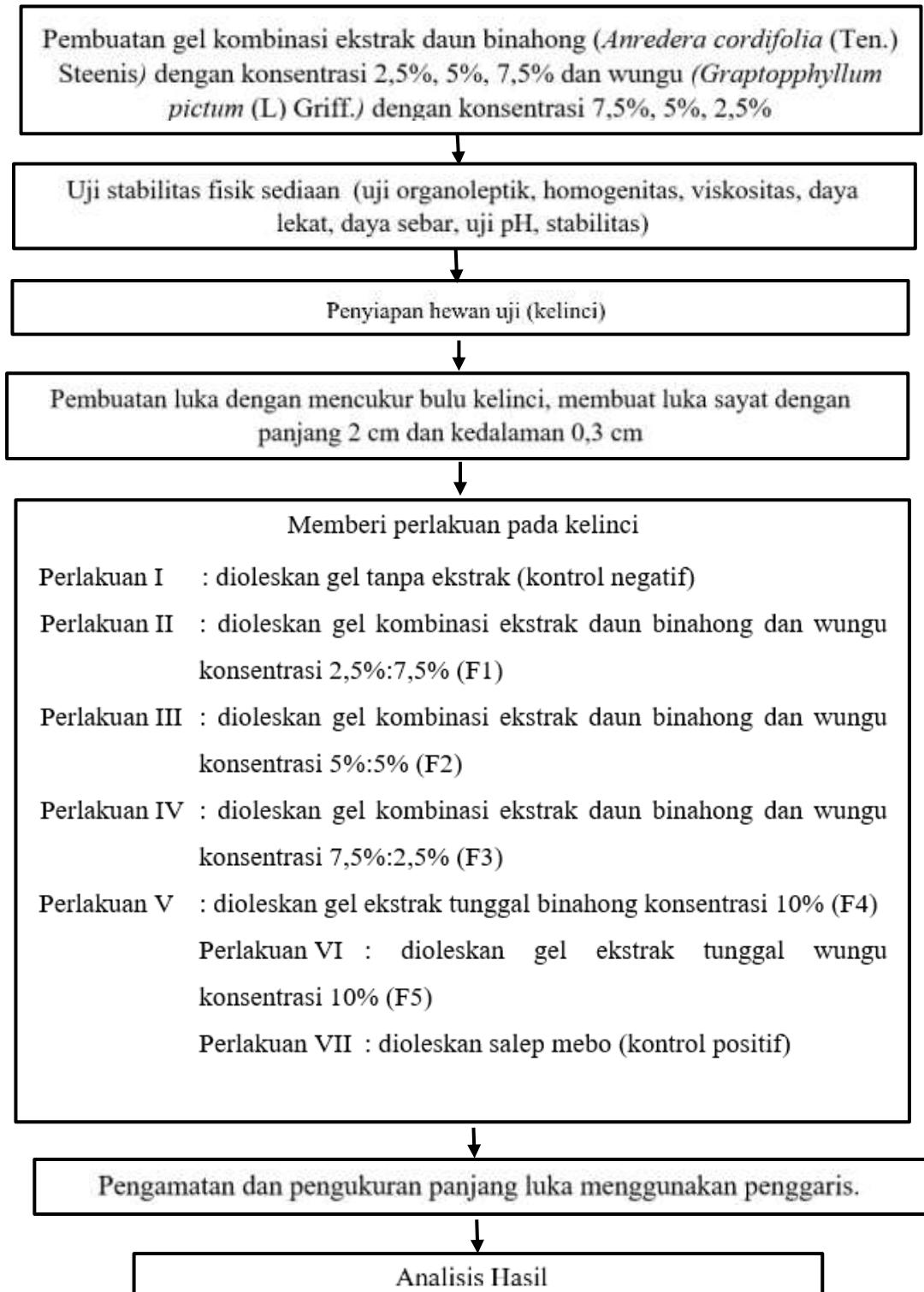
### **E. Analisis Hasil**

Data dikumpulkan dan dianalisis dengan menggunakan program statistik SPSS. Tujuan pengumpulan dan analisis data adalah untuk membandingkan dampak dari pengukuran penurunan panjang luka sayat dan waktu yang dibutuhkan hingga luka sembuh pada hewan uji yang diobati dengan formulasi sediaan gel. Pertama, uji Sapiro-Wilk digunakan untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal, dan uji Levene digunakan untuk mengetahui apakah data homogen. Setelah itu, analisis dilanjutkan dengan uji parametrik ANOVA, atau analisis perbedaan. Selanjutnya, uji Tukey digunakan untuk mengevaluasi perbedaan yang signifikan antara tujuh perlakuan untuk penyembuhan luka sayat pada hewan uji, dan uji Paired Sample T-Test digunakan untuk mengevaluasi stabilitas, yang menghasilkan hasil yang Uji statistik non-parametrik, seperti uji Kruskal-Wallis dan uji Mann-Whitney, akan digunakan untuk menganalisis data untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antara kelompok jika tidak terdistribusi normal atau homogen.

## F. Skema Penelitian



Gambar 15. Skema penelitian pembuatan ekstrak daun binahong dan wungu.



Gambar 16. Skema uji mutu fisik gel dan perlakuan pada hewan uji