

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan totalitas unit maupun pribadi di suatu ruang lingkup yang mau diteliti. Populasi dipenelitian ini berasal dari objek yang hendak diteliti yaitu daun mangga madu (*Mangifera indica L.*) yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel ialah suatu bagian terkecil dari populasi yang diambil selaku dibuat objek pada suatu penelitian sebab dianggap sanggup mewakili dari populasi. Sampel yang digunakan merupakan daun mangga madu yang dipetik pada bulan Agustus 2023 secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua, berwarna hijau segar, dan bebas penyakit yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun mangga madu (*Mangifera indica L.*) yang didapat melalui ekstraksi secara maserasi memakai pelarut etanol 96%.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang diidentifikasi dapat dikategorikan ke dalam berbagai jenis variabel diantaranya variabel bebas, variabel tergantung serta variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dimodifikasi untuk menyelidiki pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas di penelitian ini merupakan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun mangga madu.

Variabel tergantung adalah titik sentral dari permasalahan, yang merupakan kriteria dalam evaluasi. Dalam penelitian ini, variabel tergantungnya adalah aktivitas penyembuhan dari luka bakar yang terlihat dari diameter penyusutan luka bakar pada kelinci setelah pemberian ekstrak etanol daun mangga madu (*Mangifera indica L.*) yang mengandung konsentrasi obat yang berbeda-beda dan mutu fisik sediaan emulgel.

Variabel terkendali adalah variabel yang bertindak atas variabel tergantung dan harus memenuhi syarat agar nantinya hasilnya tidak

terdistribusi serta dapat diulang dengan baik oleh peneliti lain. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan yang diuji, meliputi pembuatan ekstrak etanol daun mangga madu, peralatan yang digunakan, area dan luas luka, kedalaman pada saat dicukur bulu, bobot badan, umur serta galur dari hewan tersebut, area tempat tinggal dan laboratorium.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun mangga adalah daun tanaman mangga madu (*Mangifera indica L.*) yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun mangga madu merupakan serbuk yang didapat dari hasil pengeringan, penggilingan, penghalusan dengan cara diblender serta pengayakan dengan ayakan mesh nomor 14.

Ketiga, ekstrak etanol daun mangga madu merupakan hasil ekstraksi ekstrak menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 96%, selanjutnya ekstrak dipekatkan dalam *rotary evaporator* disuhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental.

Keempat, kelinci putih *New Zealand* yang diperoleh dari Universitas Setia Budi, Surakarta, digunakan sebagai hewan percobaan dengan usia 2 hingga 3 bulan dan berat badan sekitar 1,5 hingga 2,0 kg.

Kelima, uji aktivitas luka bakar merupakan uji untuk mendapatkan ukuran kemampuan sediaan emulgel ekstrak etanol daun mangga madu dalam menyembuhkan luka bakar berdasarkan presentase penyembuhan luka bakar yang didapatkan dari selisih diameter luka bakar hari pertama dengan diameter luka bakar hari ke n.

Keenam, luka bakar *Superficial dermal* merupakan luka bakar derajat 2 dangkal. Panaskan logam berdiameter 2 cm dan tebal 1 mm di atas api selama 5 menit dan tempelkan pada punggung kelinci selama 5 detik.

Ketujuh, diameter luka bakar adalah lebar dari luka bakar yang terdapat pada punggung kelinci putih *New Zealand*.

Kedelapan, emulgel ekstrak etanol daun mangga madu merupakan sediaan emulgel yang dibuat berdasarkan campuran bahan aktif tiga variasi konsentrasi, berdasarkan basis HPMC yaitu ekstrak daun mangga madu 2,5%, 5%, dan 10%.

Kesembilan, pengujian mutu fisik formulasi emulgel dilakukan dengan mengamati hasil organoleptis, pH, viskositas, daya lekat, daya sebar, homogenitas serta stabilitas.

Kesepuluh, presentase penyembuhan luka bakar yaitu presentase penyembuhan luka yang didapatkan dengan menghitung data diameter luka bakar pada punggung kelinci menggunakan rumus.

Kesebelas, konsentrasi efektif yaitu konsentrasi terkecil yang terbukti efektif dalam memberikan penyembuhan luka bakar pada kelinci dan memiliki presentase yang sebanding dengan kontrol positif.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya timbangan analitik, *beaker glass*, gelas ukur, blender, ayakan mesh 40, botol coklat maserasi, kertas saring, kain *flannel*, corong, cawan porselen, oven, *rotary evaporator*, *water bath*, tabung reaksi, rak tabung reakti, kurs porselen, alat *Sterling-Bidwell*, pH meter, *Viscometer Brookfield cone and plate*, batang pengaduk, pot emulgel, *object glass*, alat uji daya sebar dan daya lekat, kaca arloji, timbangan gram, penggaris, handscoon, alat homogenizer, oven, kulkas, jangka sorong, lempengan besi diameter 2 cm serta tebal 1 mm, alat pencukur bulu, dan gunting.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun mangga madu (*Mangifera indica L.*) yang diperoleh dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan antara lain etanol 96%, toluen, *hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC), tween dan span 80, parafin cair, propilenglikol, propil paraben, metil paraben, aquadest, $FeCl_3$ 1%, H_2SO_4 pekat, HCL 2N, larutan biru metilen, sudan III, alkohol 70%, *ethyl chloride*.

2.3 Hewan uji. Hewan uji yang digunakan adalah kelinci putih jenis New Zealand yang diperoleh dari Universitas Setia Budi, Surakarta dengan berumur 2-3 bulan, berat badan sekitar 1,5-2 kg kemudian diadaptasi selama 1 minggu lalu di buat pola luka bakar sesuai keinginan.

D. Jalannya Penelitian

1. Ethical Clearance

Menteri Kesehatan Republik Indonesia dalam Peraturan Nomor 7 Tahun 2016 terkait Komisi Etik Penelitian dan Pengembangan

Kesehatan Nasional disebutkan bahwa setiap penelitian dan pengembangan kesehatan yang melibatkan manusia dan hewan percobaan sebagai subjek harus mematuhi prinsip-prinsip etika yang relevan. Pada penelitian ini menggunakan kelinci putih *New Zealand* sebagai hewan uji sehingga memerlukan *Ethical Clearance* yang didapatkan di RSUD Dr. Moewardi, Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah.

2. Determinasi tanaman daun mangga madu

Determinasi tanaman mangga madu (*Mangifera indica* L.) bertujuan untuk mengetahui bahwa sampel yang digunakan sesuai dengan jenis dan spesies, serta menghindari kesalahan saat mengumpulkan bahan, serta bahaya tercampurnya sampel dengan tanaman lain. Penentuan tanaman mangga madu dilakukan di Gedung Herbarium yang berlokasi di Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional di Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

3. Pengumpulan sampel

Daun mangga madu yang dikumpulkan dari wilayah Tawangmangu Jawa Tengah menjadi sampel yang digunakan dalam penelitian ini. Sampel diambil dengan cara memetik daun mangga madu yang masih muda dan segar lalu bilas daun mangga madu yang terkumpul dengan air bersih yang mengalir.

4. Pengeringan daun mangga madu

Daun mangga madu yang telah dikumpulkan, dicuci bersih dan disortasi basah kemudian diletakkan dalam wadah selanjutnya dijemur hingga kering dan ditutup dengan kain hitam dibawah sinar matahari selama 2×24 jam.

5. Pembuatan serbuk daun mangga madu

Daun mangga madu yang telah dikeringkan kemudian dilakukan sortasi kering. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Selanjutnya disaring melalui ayakan dengan bukaan 40 mesh yang tersedia di Universitas Setia Budi Surakarta.

Hasil serbuk dari daun mangga madu tersebut disimpan pada plastik yang digunakan sebagai wadah penyimpanan.

$$\% \text{ Rendeman serbuk} = \frac{\text{bobot simplisia kering}}{\text{berat serbuk}} \times 100\%$$

6. Identifikasi serbuk daun mangga madu

Deteksi serbuk daun mangga madu dilakukan dengan menggunakan analisis organoleptik. Warna, rasa, bentuk, dan bau daun mangga madu merupakan variabel yang dinilai selama proses identifikasi organoleptik.

7. Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun mangga madu

Penyusutan pengeringan serbuk diukur dengan menggunakan neraca kelembaban pada suhu 105°C timbang 2 g serbuk dimasukkan ke dalam alat serta tunggu 4 hingga 5 menit hingga hasil pengukuran muncul untuk setiap pengukuran. Penentuan susut pengeringan ekstrak ditentukan dengan metode gravimetri menggunakan oven pada suhu 105°C timbang 2 g ekstrak dimasukkan ke dalam kurs porselen lalu dimasukkan kedalam oven hingga % selisih $\leq 0,25\%$. % susut pengeringan serbuk yang baik tidak melebihi 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017).

$$\% \text{ susut pengeringan ekstrak} = \frac{\text{bobot awal} - \text{bobot akhir}}{\text{bobot awal}} \times 100\%$$

8. Penetapan kadar air serbuk daun mangga madu

Penentuan kadar air serbuk ditentukan menggunakan *Sterling-Bidwell*. Pelarut yang digunakan yaitu toluen. Jenuhkan toluen 200 mL dengan aquadest 10 mL dan dibiarkan memisah kemudian buang lapisan air. Takar 20 gram bubuk dan pindahkan ke dalam labu alas bulat. Selanjutnya, masukkan toluena jenuh ke dalam labu dan lanjutkan memanaskan campuran selama 15 menit. Setelah toluena mencapai titik didihnya, laju distilasi diatur sekitar 2 tetes per detik hingga sebagian air telah disuling. Kecepatan distilasi dapat mencapai maksimal 4 tetesan per detik. Proses destilasi dilakukan dengan durasi 5 menit. kemudian catat volume air yang didapatkan setelah penyulingan. Kandungan udara dalam bubuk berkualitas tinggi tidak boleh melebihi 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017).

$$\% \text{ kadar air serbuk} = \frac{\text{volume air}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

9. Pembuatan ekstrak etanol daun mangga madu

Masukkan bubuk simplisia sebanyak 900 gram ke dalam wadah maserasi. Tambahkan 9000 mL pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10. Biarkan campuran terendam selama 6 jam, aduk sesekali. Selanjutnya, biarkan selama 18 jam. Ekstrak disaring untuk

memisahkan filtrat dan ampas menggunakan kain flanel, hingga diperoleh filtrat 1 dan ampasnya dilakukan remaserasi menggunakan 4.500 ml etanol 96%. Rendam campuran tersebut selama durasi 6 jam sambil diaduk secara teratur. Selanjutnya, diamkan tanpa gangguan selama 18 jam. Terakhir, saring campuran tersebut menggunakan kain flanel hingga diperoleh filtrat kedua. Filtrat 1 dan 2 dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C. hingga diperoleh ekstrak daun mangga madu dan dikentalkan di atas *water bath*. Diperoleh ekstrak daun mangga madu yang kental, dihitung rendemen ekstrak kemudian dilakukan uji *skrining* fitokimia. Rendemen ekstrak yang baik lebih dari 10% (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017).

$$\% \text{ Rendeman ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

10. Identifikasi ekstrak kental daun mangga madu

Identifikasi organoleptik ekstrak daun mangga madu dilakukan terhadap bentuk, warna, dan bau.

11. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak daun mangga madu

Kandungan senyawa ekstrak daun mangga madu diperoleh dengan mengidentifikasi kandungan senyawa dengan pereaksi.

11.1 Flavonoid. Pindahkan 2 mL ekstrak daun mangga madu ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, masukkan larutan H₂SO₄ yang sangat pekat dan perhatikan dengan cermat perubahan rona yang terjadi, yaitu pergeseran ke arah kuning atau jingga, *hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak tersebut terdapat kandungan senyawa flavonoid* (*Safrudin et al., 2018*).

11.2 Saponin. Pindahkan 2 mililiter ekstrak ke dalam tabung reaksi, kemudian masukkan 10 mililiter air panas (dingin) ke dalam tabung reaksi yang sama. Lanjutkan mengocok campuran dengan cepat selama 10 detik. Jika busa bertahan selama beberapa menit, hal ini menunjukkan adanya saponin. Untuk mengonfirmasi hal ini, tambahkan 2N HCL dan periksa dengan cermat setiap perubahan selanjutnya (*Safrudin et al., 2018*).

11.3 Tanin. Ekstrak kental dilarutkan dengan air kemudian ditambah dengan *FeCl₃ 1%*. Saat warna ekstrak berubah dari coklat kehijauan atau hijau kehitaman, hal ini menunjukkan bahwa dalam ekstrak tersebut terdapat kandungan senyawa tanin (*Sangi, et al., 2008*).

12. Rancangan formula emulgel

Rumusan emulgel terhadap luka bakar ekstrak etanol daun mangga madu ditunjukkan pada tabel 2 di bawah ini:

Tabel 2. Rancangan formula emulgel yang telah dimodifikasi

Bahan	Formula %				Fungsi
	F1	F2	F3	F4	
Ekstrak daun mangga madu	2,5	5	10	-	Zat aktif
HPMC	3	3	3	3	Basis Gel
Paraffin cair	6,5	6,5	6,5	6,5	Emolien
Span 80	0,6	0,6	0,6	0,6	Pengemulsi
Tween 80	1,4	1,4	1,4	1,4	Pengemulsi
Propilen glikol	10	10	10	10	Humeutan
Propil paraben	0,1	0,1	0,1	0,1	Pengawet
Metil paraben	0,18	0,18	0,18	0,18	Pengawet
Aquadest	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Ad 100	Pelarut

Keterangan :

F1 : Emulgel dengan ekstrak daun mangga madu 2,5%

F2 : Emulgel dengan ekstrak daun mangga madu 5%

F3 : Emulgel dengan ekstrak daun mangga madu 10%

F4 : Emulgel tanpa ekstrak daun mangga madu (K -)

13. Prosedur pembuatan emulgel

Emulgel dibuat sesuai dengan komposisi formula yang tercantum dalam tabel. Semua komponen dalam pembuatan emulgel ditimbang dengan seksama sebelumnya. Pembuatan fase minyak dilakukan dengan mencampurkan parafin cair, span 80, dan nipasol di atas *water bath* pada suhu 70°C. Fase berair dibuat dengan menggabungkan tween 80, nipagin, dan sedikit air dalam penangas air yang diatur pada suhu 70°C. Emulsi dihasilkan dengan menambahkan fase minyak ke fase udara pada suhu 70°C dalam penangas air, sambil terus diaduk dengan pengaduk. Ekstrak dilarutkan menggunakan propilen glikol. Gel dibentuk dengan cara mendispersikan HPMC secara bertahap ke dalam air panas bersuhu 80°C. Diamkan HPMC hingga tersebar sebelum menggunakan homogenizer untuk mengaduknya dengan kecepatan 300 RPM selama 10 menit. Setelah gel mengeras, masukkan emulsi sambil terus diaduk dengan alat homogenizer. Kemudian tambahkan ekstrak lalu aduk ad homogen.

14. Pengujian mutu fisik sediaan emulgel

14.1 Uji organoleptis. Uji organoleptis yang diamati secara visual dari sediaan emulgel meliputi warna, bentuk, dan bau. Pengujian organoleptis dilakukan untuk mengetahui emulgel yang dibuat berdasarkan warna dan bau dari ekstrak yang digunakan.

14.2 Uji homogenitas. Pengujian dilakukan dengan menyebarkan emulgel pada bagian atas, tengah dan bawah pada *object glass*. Tidak adanya partikel kasar dari sediaan, hal inilah yang menunjukkan homogenitas dari sediaan.

14.3 Uji pH. Pengujian dilakukan dengan mengukur pH sediaan dengan pH meter digital dan terlebih dahulu mengkalibrasi elektroda dengan buffer standar pH 4 dan pH 7. Kemudian rendam elektroda yang telah dikalibrasi dalam sediaan dan tampil nilai pH pada layar dicatat dengan pengukuran disuhu kamar. Pengujian dilaksanakan dihari ke-1 setelah produksi emulgel, dilanjutkan dengan pengamatan dihari ke- 21. Sediaan yang sesuai dengan pH kulit memiliki pH antara 4,5 sampai 6,5 (Sayuti., 2015).

14.4 Uji viskositas. Alat *Viscometer Brookfield cone and plate* digunakan untuk melakukan pengukuran viskositas pada suatu sediaan. Pengukuran viskositas pada emulgel dilakukan dengan memasukkan emulgel sebanyak 100 gram ke dalam wadah kemudian wadah dipasang pada viscometer. Pasang *spindle* 7 dengan kecepatan 30 RPM. Kemudian, catat hasil pembacaan skala yang tertera pada alat viskometer dengan satuan cP. Pengujian dilaksanakan dihari ke-1 setelah produksi emulgel, dilanjutkan dengan pengamatan dihari ke- 21. Kisaran viskositas yang ditentukan untuk formulasi emulgel yaitu 2.000-50.000 centipoise (cP) (Handayani, *et al.*, 2015).

14.5 Uji daya sebar. Menimbang sampel 0,5 gram, meletakkannya di pusat antara dua lempeng kaca extensometer, membiarkannya selama 1 menit tanpa beban, kemudian mengukur diameter olesan emulgel, selanjutnya ditambah pemberat 50 gram dan dibiarkan sebentar. Setelah 1 menit, ukur diameter sebarunya. Pengujian dilaksanakan dihari ke-1 setelah produksi emulgel, dilanjutkan dengan pengamatan dihari ke- 21. Daya sebar yang baik memiliki nilai antara 5-7 cm (Nurlaela E., S., *et al.*, 2012).

14.6 Uji daya lekat. Pengujian dilakukan dengan menimbang 1g emulgel dan kemudian menempatkan sampel pada objek kaca yang telah diketahui luasnya. Objek glass yang lain diletakkan pada atas preparat, kemudian dikompresi selama 5 menit dengan pemberat 500 g. Lepaskan beban dan hitung waktu yang diperlukan objek glass untuk terpisah satu sama lain. Pengujian dilaksanakan dihari ke-1 setelah produksi emulgel, dilanjutkan dengan pengamatan dihari ke- 21. Daya lekat yang baik memiliki nilai lebih dari 1 detik (Ansel H., 2008).

14.7 Determinasi tipe emulgel. Pertama, metode pengenceran. Emulgel ditambahkan sedikit air dan diaduk kembali, hal ini menghasilkan emulsi yang homogen yaitu emulgel jenis o/w atau sebaliknya yang tidak homogen adalah emulsi jenis w/o. Metode pemberian warna adalah menambahkan warna biru yang dikembangkan ke larutan biru metilen, dan jenis emulsi adalah jenis minyak dalam air, dengan sudan III. jika dominan merah berarti jenis emulsinya adalah air dalam minyak.

Kedua, metode pewarnaan. Jenis emulgel o/w diwarnai dengan zat yang larut dalam air, dan jenis emulgel w/o diwarnai dengan pewarna yang larut dalam minyak. Emulgel dicampur dengan sedikit air dan diaduk, bila terbentuk emulgel yang homogen maka dari jenis emulsi minyak dalam air (o/w).

Ketiga, konduktibilitas elektrik. Umumnya air merupakan penghantar yang lebih baik daripada minyak, jika Emulgel dapat menghantarkan listrik maka emulgel tersebut adalah jenis o/w, sebaliknya jika tidak dapat menghantarkan listrik maka berjenis w/o. Celupkan voltameter ke dalam emulgel, jika ada gerakan, itu adalah emulgel berjenis minyak dalam air (o/w), dan jika tidak ada gerakan, itu adalah emulgel berjenis air dalam minyak (w/o).

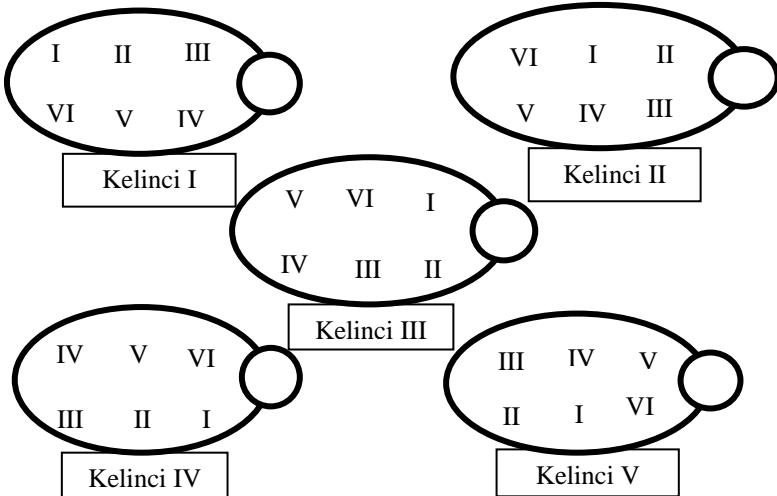
14.8 Uji stabilitas. Pengujian dilakukan dengan metode *cycling test*, yaitu menyimpan emulgel kedalam temperatur 4°C dalam kurun waktu 24 jam, kemudian dipindahkan kedalam suhu yang sama yaitu 48°C dalam kurun waktu 24 jam (1 siklus). Pengujian stabilitas berlangsung hingga enam siklus, pada siklus yang terakhir dilihat ada tidaknya pemisahan dari fase gel. Selanjutnya setelah pengujian 6 siklus, kondisi sediaan diamati dengan memeriksa nilai pH dan viskositas apakah stabil atau tidak setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan metode *cycling test* dan diuji organoleptis serta dilihat apakah terjadi pemisahan fase air dan minyak atau tidak.

15. Pengelompokan hewan uji

Penelitian ini menggunakan 5 ekor kelinci putih *New Zealand* yang diperoleh dari Universitas Setia Budi, Surakarta, digunakan sebagai hewan percobaan. Dengan rentang umur 2 hingga 3 bulan dan berat badan sekitar 1,5 hingga 2,0 kg. Telah diadaptasi selama 1 minggu kemudian diamati dan ditimbang dalam kondisi umum. Ada 6 kelompok perlakuan, satu kelinci per kelompok diberi 6 luka yang berbeda lokasi pelukaannya untuk menguji masing-masing formula dan kontrol pada masing-masing kelinci.

Keterangan :

- a Kelompok I : dioleskan bioplacenton gel (kontrol positif)
- b Kelompok II : dioleskan emulgel ekstrak daun mangga madu 2,5%
- c Kelompok III : dioleskan emulgel ekstrak daun mangga madu 5%
- d Kelompok IV : dioleskan emulgel ekstrak daun mangga madu 10%
- e Kelompok V (kontrol negatif) : dioleskan emulgel tanpa ekstrak daun mangga madu
- f Kelompok VI : tidak dioleskan sediaan (kontrol tanpa perlakuan)



Gambar 6. Model pelukaan pada kelinci

16. Perlakuan hewan uji penyembuhan luka bakar

Sebanyak 5 ekor kelinci putih diacak kemudian ditempatkan pada kandang yang disediakan sesuai kelompok eksperimen. Kelinci diadaptasikan dengan lingkungan selama 7 hari dengan cara dibiarkan dikandang dan diberi makan 2 kali sehari, kelinci diberi pakan dan minum standar dalam jumlah sedang atau secukupnya lalu dibuat luka bakar pada hari ke 8. Kemudian bulu di sekitar punggung dipangkas, dicukur dan diberi alkohol 70%, kelinci dibius dengan 2 kali semprot selama 5 detik menggunakan *ethyl chloride* (Rao P. B., et al., 2019).

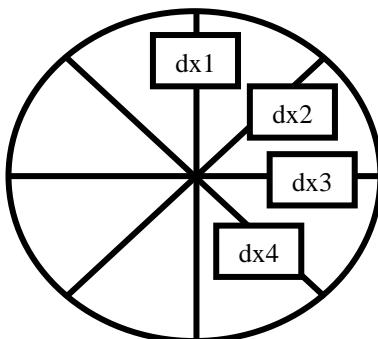
Pelukaan dilakukan dengan lempeng logam berdiameter 2 cm dan tebal 1 mm yang dipanaskan sampai suhu 90°C selama 5 menit, kemudian ditempelkan pada kulit punggung kelinci selama 5 detik sehingga terbentuk luka bakar derajat dua superfisial yang ditandai dengan melepuh serta pengelupasan kulit (Hasyim et al., 2012). Setelah dilakukan pelukaan, diukur diameter luka bakar kemudian dioleskan emulgel, pengolesan sebanyak 0,5 gram tiap formula dilakukan dua kali sehari di pagi dan sore hari selama 21 hari, diukur diameter luka bakar di pagi hari, dan diamati kemerahan pada punggung kelinci.

17. Pengukuran diameter luka serta kemerahan pada luka bakar

Untuk melihat efektifitas dari setiap kelompok perlakuan dilakukan pengukuran diameter luka bakar satu kali sehari selama 21 hari. Pengukuran dilakukan pada waktu-waktu tertentu hingga hari ke-21 dengan menggunakan jangka sorong. Kemerahan pada luka bakar dapat terlihat dari hari pertama hingga kemerahan menghilang.

18. Parameter penyembuhan luka bakar

Penyembuhan luka dilakukan dengan mengukur diameter luka bakar hewan uji dari hari kedua memakai jangka sorong. Setiap hewan uji dilakukan pengukuran setiap hari sampai luka bakar dinyatakan sembah. Pengamatan luka dilakukan dua kali sehari selama 21 hari pada sore hari. Ketika luka mencapai diameter 0 cm atau luka tertutup, luka dianggap sembah (Handayani *et al.* 2016). Cara mengukur diameter luka ditunjukkan di bawah ini:



Gambar 7. Pengukuran diameter luka bakar

Rumus perhitungan rata-rata diameter luka :

$$dx = \frac{dx(1) + dx(2) + dx(3) + dx(4)}{4}$$

Keterangan :

- dx : Rata-rata diameter luka bakar hari ke x
- 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°

Persentase luka bakar yang sembah dihitung menggunakan rumus berikut:

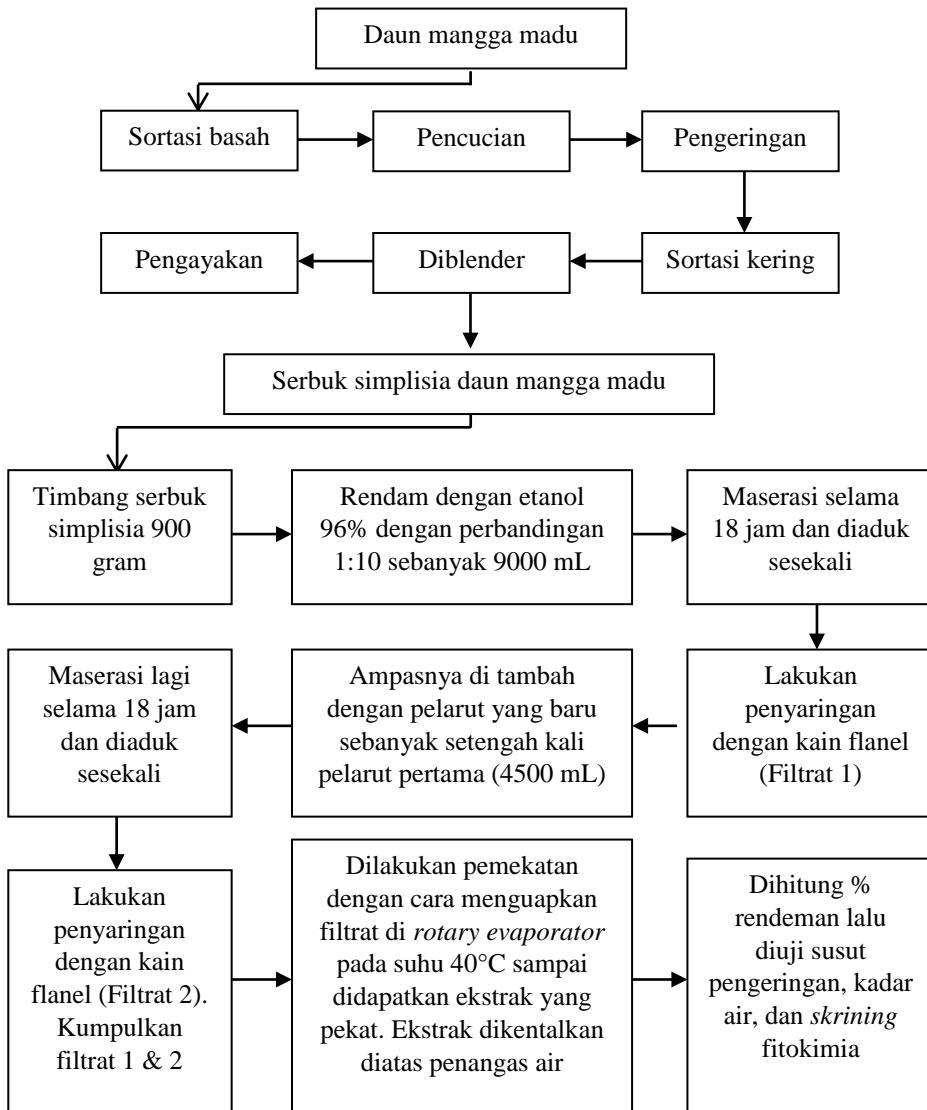
$$Ptn = \frac{dt0^2 - dt_n^2}{dt0^2} \times 100\%$$

Keterangan

- Ptn : Persentase penyembuhan luka bakar hari ke x
- dt0 : Diameter luka bakar pada hari pertama (cm)
- dt_n : Diameter luka bakar hari ke n (cm)

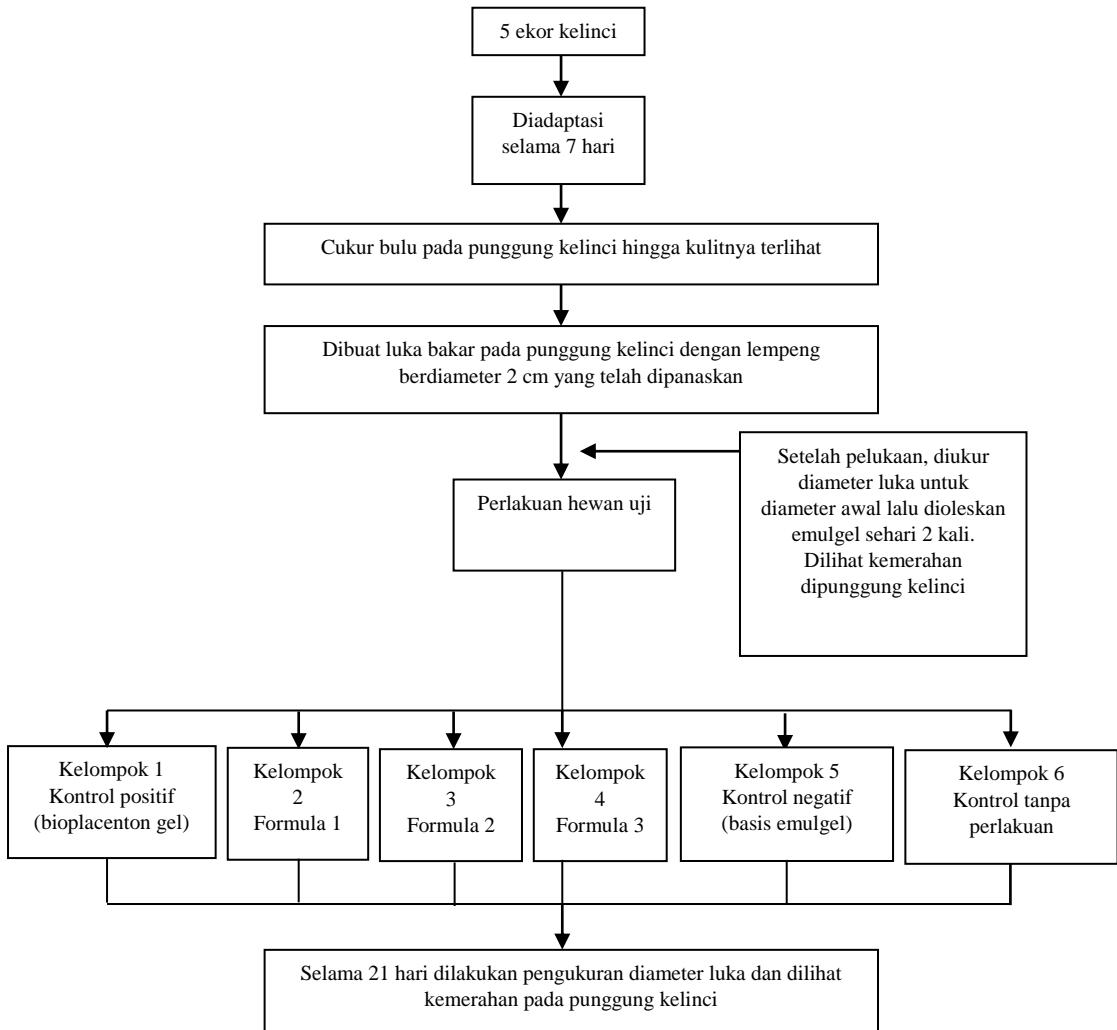
E. Diagram Alir

1. Skema pembuatan ekstrak etanol daun mangga madu



Gambar 8. Skema pembuatan ekstrak etanol daun mangga madu

2. Pembuatan uji penyembuhan luka bakar



Gambar 9. Skema penyembuhan luka bakar

F. Analisis Data

Berdasarkan dari data hasil pengujian dari sifat fisik sediaan emulgel ekstrak etanol daun mangga madu dengan konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10%, setiap formula duji sifat fisik seperti daya lekat, organoleptis, viskositas, pH, daya sebar, jenis emulgel serta stabilitas emulgel. Data tersebut dianalisa dengan pendekatan statistik menggunakan aplikasi SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) menggunakan metode *Shapiro Wilk*, jika data yang diperoleh berdistribusi normal, maka analisis dilakukan menggunakan *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% dilanjutkan uji *Post-Hoc Tukey* untuk melihat terdapat perbedaan yang signifikan antar formula atau tidak. Jika data tidak berdistribusi normal, maka analisis *Post-Hoc Dunnet's* dilanjutkan.

Pada setiap pengujian, dicari perbedaan yang nyata pada hari ke 1 dan 21 setelah pembuatan emulgel. Informasi hasil luka bakar sepanjang 21 hari pada emulgel luka bakar ekstrak daun mangga madu bisa dianalisis secara statistik memakai metode *Shapiro Wilk*. Jika data yang diperoleh berdistribusi normal maka $\text{sig} > 0,05$, analisis dilakukan dengan menggunakan uji parametrik yang disebut *One Way Anova*, kami membandingkan diameter berbagai kelompok dan durasi penyembuhan luka bakar. Kami kemudian melakukan Uji Post Hoc menggunakan uji Tukey untuk mengidentifikasi konsentrasi yang memiliki efek serupa atau berbeda satu sama lain. Apabila ditemukan data menyimpang dari distribusi normal, dengan tingkat signifikansi (sig) kurang dari 0,05, digunakan uji non parametrik. Penelitian ini dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui konsentrasi yang mempunyai pengaruh signifikan paling besar.