

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi adalah semua individu pada suatu ruang lingkup yang akan diteliti. Populasi pada penelitian ini merupakan tanaman sirih hijau yang tumbuh di daerah Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Sampel dalam penelitian ini yaitu daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang diambil secara acak dengan kriteria berwarna hijau, tingkat ketuaan sedang (daun berada di bagian tengah tangkai), daun masih segar, utuh (tidak dimakan serangga), dan bebas penyakit. Penentuan sampel untuk uji eksperimental (persamaan 1) yaitu (Frederer, 1967 dalam Agustina dkk., 2019):

$$\begin{aligned}(t - 1)(n - 1) &\geq 15 \\ (5 - 1)(n - 1) &\geq 15 \\ 4(n - 1) &\geq 15 \\ n - 1 &\geq 3,75 \\ n &\geq 4,75 \approx 5\end{aligned}\tag{1}$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok percobaan

n = jumlah replikasi

Berdasarkan perhitungan rumus tersebut, didapatkan jumlah pengulangan atau replikasi yaitu 5 kali, sehingga jumlah sampel hewan uji yang digunakan yaitu 5 ekor kelinci *New Zealand White*.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini yaitu ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang didapat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diidentifikasi kemudian diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat, dan variabel kontrol.

Variabel bebas atau independen merupakan variabel yang diubah-ubah untuk mengetahui pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan berbagai variasi konsentrasi yang diformulasikan ke dalam bentuk *patch*.

Variabel terikat atau dependen merupakan variabel yang menjadi titik pusat penelitian dan kriteria penilaian. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu efektivitas penyembuhan luka sayat pada punggung kelinci *New Zealand White* setelah diaplikasikan *patch* ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan konsentrasi ekstrak yang berbeda.

Variabel kontrol merupakan variabel yang dapat mempengaruhi variabel dependen, sehingga perlu dinetralkan dan disempurnakan agar hasil yang diperoleh tidak tersebar serta dapat diulang oleh peneliti lain. Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu proses pembuatan ekstrak, proses pembuatan sediaan, kondisi hewan uji, peralatan yang digunakan, proses pembuatan luka sayat, dan habitat hewan uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih hijau merupakan bagian tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.). Daun sirih hijau diambil dari tanaman sirih hijau di daerah Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun sirih hijau merupakan daun sirih hijau yang telah mengalami beberapa proses antara lain: sortasi basah, pengeringan, sortasi kering, dan penyerbukan atau pengecilan ukuran.

Ketiga, ekstrak daun sirih hijau merupakan ekstrak yang dihasilkan dari hasil maserasi serbuk simplisia daun sirih hijau menggunakan etanol 70% selama 72 jam dan kemudian dilakukan pemekatan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C.

Keempat, *patch* merupakan formulasi bentuk sediaan dengan sistem penghantaran obat. Formulasi sediaan *patch* yaitu membuat *patch* ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dengan variasi konsentrasi ekstrak yang berbeda.

Kelima, sifat fisik *patch* merupakan sifat-sifat *patch* ekstrak daun sirih hijau dengan pengujian meliputi uji organoleptis, keseragaman bobot, ketebalan *patch*, ketahanan lipatan, uji pH.

Keenam, pemeriksaan stabilitas dilakukan dilakukan pada suhu tinggi yaitu 40°C selama 28 hari, kemudian dilakukan pengamatan setiap 7 hari meliputi organoleptis, pH, ketebalan *patch*, dan ketahanan lipatan.

Ketujuh, penetapan kadar zat aktif dalam *patch* merupakan penetapan kadar ekstrak daun sirih hijau dalam *patch* setelah *patch* dibuat dengan metode penguapan pelarut (*solvent evaporation casting*).

Kedelapan, uji efektivitas penyembuhan luka sayat *patch* ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) merupakan pengujian yang dilakukan terhadap kelinci yang telah diberikan luka sayat pada punggungnya.

Kesembilan, pengamatan yang dilakukan pada uji efektivitas penyembuhan luka sayat meliputi panjang luka yang diukur dengan penggaris, waktu penyembuhan luka, eritema, edema, keropeng, tingkat kekeringan, dan nanah.

Kesepuluh, pengamatan eritema dilakukan secara subjektif secara kualitatif dan kuantitatif. Pengamatan secara kualitatif dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya eritema dan edema yang timbul. Pengukuran edema dilakukan menggunakan jangka sorong. Pengamatan secara kuantitatif dilakukan dengan mengelompokkan efek eritema dan edema yang timbul sesuai skor-skor yang tertera.

Kesebelas, pengamatan keropeng dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya serum yang mengering berwarna kuning-hitam. Pengamatan nanah dilakukan dengan melihat ada tidaknya nanah pada luka. Pengamatan tingkat kekeringan dengan melihat kondisi permukaan luka. Basah berarti luka mengandung cairan, lembab berarti tidak benar-benar kering dan tidak basah, kering berarti tidak mengandung cairan.

Keduabelas, variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yaitu 2%, 6%, dan 10% yang efektif merupakan formula *patch* dengan konsentrasi ekstrak terkecil yang berbeda signifikan terhadap kontrol negatif dan tidak berbeda signifikan terhadap kontrol positif.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven, blender, gelas ukur (Pyrex), gelas beker (Pyrex), botol maserasi, timbangan analitik (Ohaus), *rotary evaporator* (DLAB RE 100-PRO), cawan porselen, penangas, stamper dan mortir, gunting, cawan petri, batang pengaduk, pH meter (Hanna HI 2211), tabung reaksi, rak tabung reaksi, penggaris, kaca arloji, corong kaca, spidol, jangka sorong, pisau bedah, *moisture analyzer* (Ohaus), ayakan, *filtering flask*, water bath, cawan kurs, ember, loyang, kaki tiga, korek api, dan bunsen.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun sirih hijau (*Piper betle* L.) yang berasal dari Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Povidone iodine plester sebagai kontrol positif. Kelinci *New Zealand White* yang digunakan sebagai hewan uji. Kelinci telah diaklimatisasi selama satu minggu dan dibuat luka sayat pada punggungnya. Bahan yang digunakan untuk formulasi yaitu aquadest, HPMC, PVP, PEG 400, etanol 70%, dan etanol 96%. Bahan lain yang digunakan yaitu H_2SO_4

pekat, serbuk Mg, HCl pekat, HCl 2N, NaCl, FeCl₃, kloroform, ammonia, reagen dragendorff, mayer, dan wagner.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan

Sampel daun sirih hijau yang segar dan bebas penyakit diambil dari daerah Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Daun sirih hijau yang diambil merupakan daun sirih hijau dengan karakteristik segar, memiliki warna hijau dengan tingkat ketuaan sedang, bebas dari penyakit, tidak rusak atau hancur. Daun yang akan digunakan diambil dengan memetikanya dari tanaman sirih hijau, kemudian dilakukan penimbangan terhadap daun sirih yang telah diambil untuk mengetahui bobot basahnya.

2. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman merupakan identifikasi tanaman yang bertujuan untuk memastikan kebenaran identitasnya berdasarkan kesesuaian jenis dan spesies. Determinasi tanaman sirih hijau pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Sistematika Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Pembuatan simplisia daun sirih hijau

Simplisia daun sirih hijau dibuat dengan dilakukan penyortiran, pencucian, dan pengeringan. Daun sirih hijau yang didapat disortir, kemudian dicuci dengan air bersih. Daun yang sudah dicuci bersih dilakukan pemisahan antara daun dan batang daun, perajangan, kemudian dikeringkan menggunakan oven pada suhu 30-40°C hingga diperoleh tekstur kering. Pengeringan dilakukan pada suhu tersebut karena sirih mengandung senyawa aktif mudah menguap dan tidak tahan panas (termolabil) (Widyastuti dkk., 2020).

4. Pembuatan serbuk daun sirih hijau

Daun sirih hijau yang sudah kering dibuat serbuk menggunakan blender, sehingga diperoleh serbuk homogen (Chamidah dan Rohmawati, 2022). Serbuk simplisia daun sirih hijau kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh (Rukmini dkk., 2020).

5. Pengukuran susut pengeringan serbuk daun sirih hijau

Susut pengeringan serbuk daun sirih hijau diukur menggunakan alat *moisture analyzer*. Serbuk daun sirih hijau ditimbang sebanyak 2 g, kemudian diukur kadar kelembaban pada suhu 105°C. Pada alat *moisture*

analyzer akan muncul % MC. Susut pengeringan yang baik yaitu tidak lebih dari 10%.

6. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau

Pembuatan ekstrak daun sirih hijau (Gambar 16) dilakukan dengan metode maserasi. Sebanyak 600 g serbuk simplisia daun sirih hijau dilarutkan dengan etanol 70%. Perbandingan serbuk dan etanol yaitu 1:5 (Sikumbang dkk., 2022). Dilakukan pengadukan dan dibiarkan selama 72 jam atau 3 hari. Filtrat yang didapatkan disaring, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental.

7. Pengujian karakteristik ekstrak

7.1 Pengujian organoleptis ekstrak. Pengujian organoleptis yaitu dengan dilakukan pengamatan pada ekstrak meliputi warna, bau, dan bentuk menggunakan panca indera.

7.2 Uji bebas etanol ekstrak. Pengujian dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan 1 ml asam asetat glasial dan 1 ml asam sulfat pekat, kemudian dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak tercium aroma ester (Lenggu dkk., 2020).

7.3 Rendemen ekstrak. Rendemen ekstrak total dihitung dengan rumus (persamaan 2).

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat simplisia awal (g)}} \times 100\% \quad (2)$$

(Depkes RI, 2000)

7.4 Pengujian kadar air ekstrak. Pengujian dilakukan dengan menimbang dengan saksama lebih kurang 10 g sampel, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang telah ditara. Dikeringkan pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Pengeringan dilanjutkan dengan menimbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (Kemenkes, 2017).

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih hijau

Ekstrak daun sirih hijau yang didapatkan kemudian dilakukan identifikasi kandungan kimia meliputi:

8.1 Uji flavonoid. Uji Flavonoid. Sebanyak 0,1 g ekstrak daun sirih hijau dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,5 mg serbuk magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Hasil positif flavonoid ditandai dengan warna coklat atau jingga (Rasydy dkk., 2019).

8.2 Uji saponin. Ekstrak daun sirih hijau sebanyak 0,1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air panas atau hangat dan dikocok selama 30 menit. Didiamkan sebentar,

lalu dilihat buih yang dihasilkan dan diukur buih yang terbentuk. Dibiarkan selama 5 menit, jika busa tidak hilang, ditambahkan HCl 2N. Hasil positif saponin ditunjukkan dengan adanya buih konstan (Rasydy dkk., 2019).

8.3 Uji tanin. Sebanyak 0,1 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 ml air hangat dan 5 tetes NaCl serta 3 tetes FeCl₃. Hasil positif tanin ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman menunjukkan tanin katekol dan biru kehitaman menunjukkan tanin pirogalol (Rasydy dkk., 2019).

8.4 Uji alkaloid. Sebanyak 0,1 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 ml kloroform dan 2 ml amoniak, dikocok, kemudian ditambahkan HCl 2N. Larutan yang dihasilkan dibagi menjadi 3 bagian dalam tabung reaksi, dengan reagen dragendorff, mayer dan wagner. Reagen tersebut ditambahkan ke dalam masing-masing tabung reaksi. Pereaksi dragendorff, endapan merah atau jingga menunjukkan senyawa alkaloid positif, untuk pereaksi mayer, endapan putih menunjukkan senyawa alkaloid positif, dan untuk pereaksi wagner, endapan coklat menunjukkan hasil positif (Rasydy dkk., 2019).

8.5 Uji triterpenoid/steroid. Sebanyak 0,1 g ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan asam asetat 10 tetes dengan 2 mL H₂SO₄ pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah jingga, adanya steroid ditunjukkan warna hijau biru (Rasydy dkk., 2019).

9. Formula *patch* ekstrak daun sirih hijau

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan 3 variasi konsentrasi ekstrak daun sirih hijau yaitu 2%, 6%, dan 10% yang diformulasikan ke dalam bentuk sediaan *patch*. Variasi konsentrasi tersebut merujuk penelitian kajian literatur oleh Darmawan dkk. (2021) yang menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau dalam 2% sampai 10% efektif dalam proses penyembuhan luka, terutama mempengaruhi proses peradangan dan proliferasi.

Formula *patch* ekstrak daun sirih hijau mengacu pada penelitian Buang dkk. (2020) mengenai optimasi kombinasi HPMC dan PVP sebagai polimer terhadap mutu fisik *patch* ekstrak rimpang jahe merah. Pada penelitian tersebut menyebutkan kombinasi polimer HPMC 600 mg dan PVP 200 mg menghasilkan *patch* dengan mutu fisik yang terbaik. Pada penelitian ini dilakukan replikasi 5 kali pada setiap

formulasinya. Rancangan formula *patch* ekstrak daun sirih hijau yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Formula *patch*

Bahan	Fungsi	Formula <i>Patch</i>			
		F1	F2	F3	K(-)
Ekstrak daun sirih hijau	Zat aktif	0,4 g (2%)	1,2 g (6%)	2 g (10%)	-
HPMC	Polimer	600 mg	600 mg	600 mg	600 mg
PVP	Polimer	200 mg	200 mg	200 mg	200 mg
PEG 400	Plasticizer	1 mL	1 mL	1 mL	1 mL
Aquadest	Pelarut	4 mL	4 mL	4 mL	4 mL
Etanol 96% ad	Pelarut	ad 20 mL	ad 20 mL	ad 20 mL	ad 20 mL

10. Pembuatan *patch* ekstrak daun sirih hijau

Patch ekstrak daun sirih hijau dibuat berdasarkan formula yang disajikan (Tabel 1). Pembuatan *patch* (Gambar 17) HPMC dilarutkan dalam 3 ml aquadest, setelah larut ditambahkan PVP yang telah dilarutkan dalam 1 mL aquadest sambil diaduk. Ekstrak daun sirih hijau didispersikan dalam mortir menggunakan etanol 96% secukupnya. Ekstrak yang sudah didispersikan kemudian ditambahkan ke dalam campuran polimer, diaduk hingga homogen. Setelah diperoleh campuran yang homogen, kemudian ditambahkan PEG 400, serta ditambahkan etanol 96% hingga 20 mL, lalu dilakukan pengadukan hingga homogen. Campuran tersebut kemudian dipindahkan ke cawan petri dengan diameter 15 cm dan kemudian diuapkan hingga kering pada suhu kamar. *Patch* dilepas dari cetakan dan disimpan dalam wadah tertutup.

11. Pengujian mutu fisik *patch*

11.1 Pengujian organoleptis. Pengujian organoleptis dilakukan dengan mengamati bentuk, warna, dan bau pada sediaan menggunakan panca indera (Wardani dan Saryanti, 2021).

11.2 Pengujian keseragaman bobot. Pengujian keseragaman bobot dilakukan dengan ditimbang masing-masing *patch* dari setiap formula, kemudian dilakukan penentuan berat rata-ratanya, standar deviasi, dan % CV. Bobot *patch* dikatakan seragam jika nilai $CV \leq 5\%$ (Wardani dan Saryanti, 2021).

11.3 Pengujian ketahanan lipat. Pengujian ketahanan lipatan dilakukan dengan *patch* berkali-kali dilipat pada posisi yang sama hingga *patch* tersebut patah. Jumlah pelipatan dianggap sebagai nilai ketahanan terhadap pelipatan (Wardani dan Saryanti, 2021).

11.4 Pengujian pH. Pengujian pH dilakukan dengan *patch* ditempatkan ke dalam cawan porselen yang berisi 5 ml aquadest (pH 6,5) dan dibiarkan mengembang selama 2 jam pada suhu ruangan, kemudian

dilakukan penentuan nilai pH menggunakan pH meter (Wardani dan Saryanti, 2021).

11.5 Pengujian ketebalan. Pengujian ketebalan *patch* pada setiap formula dilakukan dengan mengukur ketebalan menggunakan alat jangka sorong (Wardani dan Saryanti, 2021). Syarat ketebalan yang baik yaitu kurang dari 1 mm (Fuziyanti dkk., 2022).

12. Pemeriksaan stabilitas

Pemeriksaan stabilitas pada setiap formula *patch* dilakukan dengan menyimpan sediaan pada suhu tinggi yaitu 40°C selama 28 hari. Pengamatan dilakukan setiap 7 hari meliputi organoleptis, pH, ketebalan *patch*, dan ketahanan lipatan (Nitiariksa dan Sukmawati, 2021).

13. Penetapan kadar zat aktif dalam *patch*

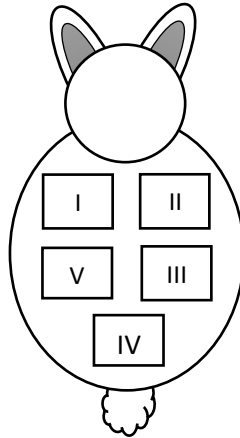
Penetapan kadar zat aktif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kadar zat aktif (ekstrak daun sirih hijau) dalam matriks *patch* yang terbentuk. Penetapan kadar zat aktif dalam *patch* dilakukan karena pada pembuatan *patch* digunakan metode penguapan pelarut (*solvent evaporation casting*). Adanya proses penguapan pelarut tersebut dapat menyebabkan konsentrasi zat aktif meningkat (Punnel dan Lunter, 2021). Penetapan kadar dilakukan dengan dihitung menggunakan rumus (persamaan 3) yaitu:

$$\% \text{ kadar zat aktif dalam } patch = \frac{\text{bobot ekstrak yang digunakan}}{\text{bobot akhir patch setelah pelarut menguap}} \times 100\% \quad (3)$$

14. Pengelompokan hewan uji

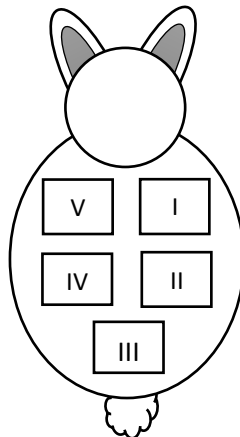
Pada penelitian ini digunakan 5 ekor hewan uji kelinci *New Zealand White*. Kelinci yang digunakan yaitu kelinci jantan. Hal ini dikarenakan tubuh kelinci jantan lebih kecil dan ringan dibandingkan kelinci betina. Kandungan lemak pada tubuh kelinci jantan lebih sedikit, sehingga akan lebih mudah ketika dilakukan luka sayat (Samudra dkk., 2019). Kelinci yang digunakan pada penelitian ini yaitu kelinci *New Zealand White* jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan 1,5-3 kg dan dalam keadaan sehat. Setiap kelinci diberikan 5 perlakuan yang berbeda pada punggungnya yaitu dengan 5 lokasi luka dan diberikan perlakuan:

a. Kelinci 1



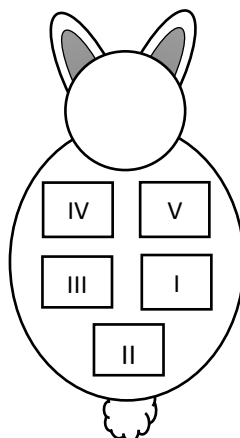
Gambar 11. Posisi luka sayat pada kelinci 1

b. Kelinci 2



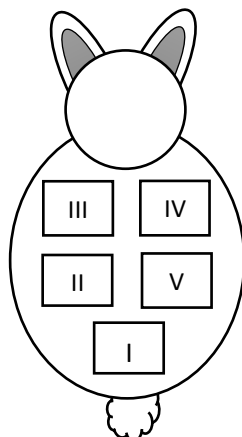
Gambar 12. Posisi luka sayat pada kelinci 2

c. Kelinci 3



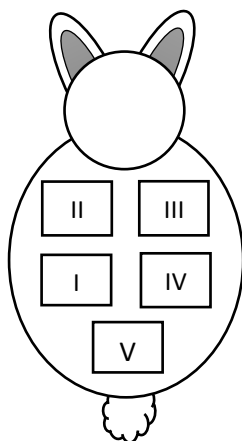
Gambar 13. Posisi luka sayat pada kelinci 3

d. Kelinci 4



Gambar 14. Posisi luka sayat pada kelinci 4

e. Kelinci 5



Gambar 15. Posisi luka sayat pada kelinci 5

Keterangan:

Perlakuan luka I: dilakukan pemberian povidone iodine plester sebagai kontrol (+)

Perlakuan luka II: *dilakukan* pemberian *patch* tanpa ekstrak sebagai kontrol (-)

Perlakuan luka III: *dilakukan* pemberian *patch* daun sirih hijau formula 1

Perlakuan luka IV: *dilakukan* pemberian *patch* daun sirih hijau formula 2

Perlakuan luka V: *dilakukan* pemberian *patch* daun sirih hijau formula 3

15. Perlakuan hewan uji

Kelinci diaklimatisasi selama 7 hari pada lingkungan penelitian dan diberikan minum serta makan secara *ad libitum*. Satu hari sebelum dilakukan pemberian luka sayat, bulu kelinci pada punggungnya dicukur sampai licin dan dibuat 5 area perlakuan dengan jarak antar area 2 cm menggunakan spidol. Area yang sudah dicukur dibersihkan menggunakan alkohol 70%, kemudian kelinci diistirahatkan selama 1

hari. Keesokan harinya, masing-masing area yang sudah dibuat dilakukan penyayatan menggunakan pisau bedah dan dibersihkan dengan alkohol swab. Luka dibuat dengan panjang luka 2 cm dan kedalaman $\pm 0,2$ cm. Masing-masing luka diberikan perlakuan sesuai dengan pengelompokan hewan uji. Perlakuan luka sayat pada setiap kelinci telah disajikan dalam pengelompokan hewan uji. Perlakuan dan pengukuran serta pengamatan luka dilakukan setiap hari.

16. Uji efektivitas *patch* ekstrak daun sirih hijau

Uji efektivitas dilakukan dengan *patch* yang telah dibuat diaplikasikan ke luka punggung kelinci sebanyak 1 kali sehari setiap pagi sampai luka sembuh (Gambar 18). Setiap kelinci mendapatkan perlakuan yang sama. Pengamatan penyembuhan luka sayat dilakukan secara visual setiap hari sebelum pengaplikasian *patch*. Pengamatan yang dilakukan meliputi eritema, edema, waktu penyembuhan luka, panjang luka, dan data kualitatif lainnya seperti nanah pada luka serta keropeng dan tingkat kekeringan. Pengukuran panjang luka dilakukan menggunakan alat ukur penggaris. Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini povidone iodine plester. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *patch* tanpa ekstrak.

17. Pengukuran persentase penyembuhan terhadap penutupan luka sayat

Persentase penyembuhan luka sayat dilakukan dengan mengukur panjang luka pada punggung kelinci menggunakan penggaris. Pengukuran panjang luka awal yaitu 2 cm. Pengamatan dilakukan sampai luka sembuh. Persentase penyembuhan luka sayat (persamaan 4) yaitu (Rahman dkk., 2017):

$$\% \text{ Penyembuhan Luka} = \frac{\text{area penyembuhan}}{\text{area luka awal}} \times 100\% \quad (4)$$

Keterangan:

Area Penyembuhan = area luka awal (cm) – area luka akhir (cm)

Eritema dan edema diamati secara visual. Penilaian eritema dan pembengkakan (edema) didasarkan pada skor nilai eritema dan edema sebagai berikut (Kuncari dkk., 2015 dalam Tamuntuan dkk., 2021).

Tabel 2. Skor penilaian eritema dan edema

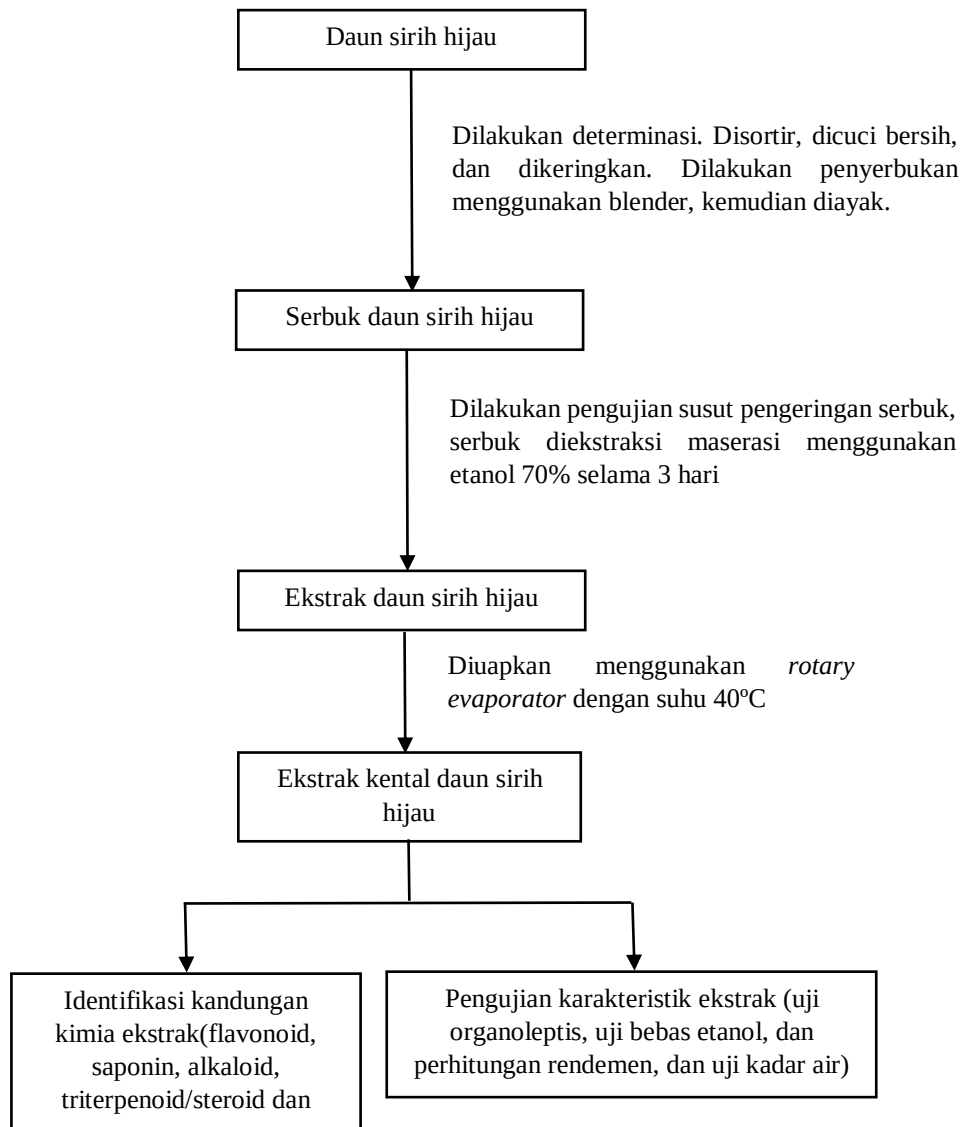
Kriteria	Skor	Keterangan
Kemerahan (eritema)	0	Tidak ada kemerahan
	+1	Sedikit kemerahan (hampir tidak terlihat, merah muda terang)
	+2	Kemerahan terlihat jelas (merah pucat)
	+3	Kemerahan sedang sampai kuat (merah terang)
	+4	Kemerahan parah (terdapat luka, merah gelap)
Pembengkakan (edema)	0	Tidak ada pembengkakan
	+1	Pembengkakan sangat ringan (hampir tidak terlihat)
	+2	Pembengkakan ringan (ketebalan < 1 mm)
	+3	Pembengkakan sedang (ketebalan $\pm$ 1 mm)
	+4	Pembengkakan parah (ketebalan > 1 mm)

E. Analisis Data

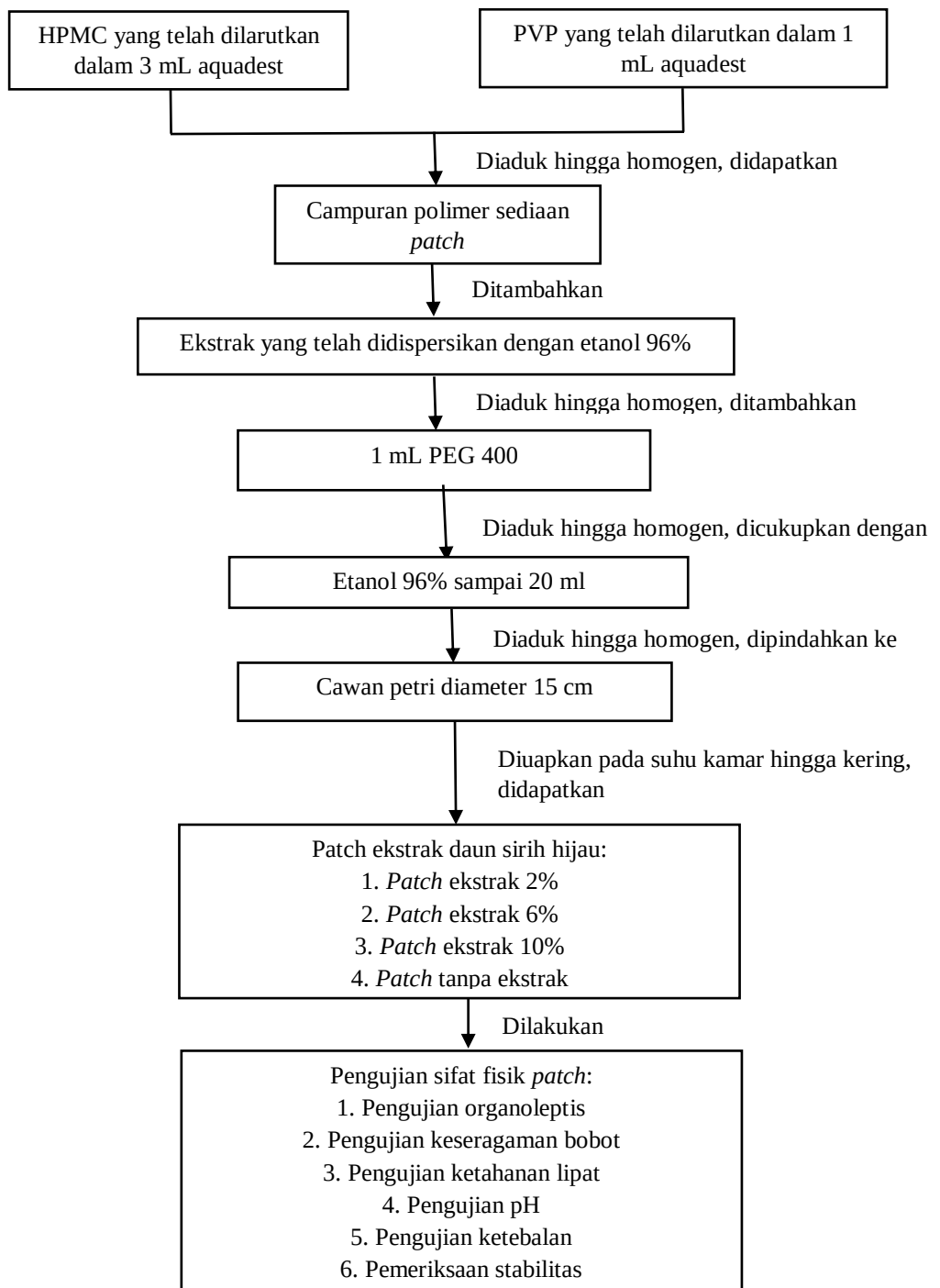
Data uji efektivitas yang diperoleh kemudian dianalisis dengan analisis statistik SPSS. Uji normalitas *Shapiro-Wilk* digunakan untuk mengetahui apakah data berdistribusi normal atau tidak. Data yang berdistribusi secara normal dianggap mewakili populasi. Jika data berdistribusi normal maka analisis dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan perlakuan yang diberikan. Jika hasil pengujian tidak ada perbedaan yang signifikan, maka uji *Post Hoc Test* tidak dilakukan. Jika hasil uji berbeda signifikan satu sama lain, maka uji *Post Hoc Test* harus dilakukan. Penentuan uji lanjut dilakukan dengan melihat tabel *Test of Homogeneity of Variances*, apabila varian sama, maka uji digunakan uji lanjut yaitu uji *Bonferroni*. Varian tidak sama, maka dilakukan uji lanjut uji *Games-Howell*.

Data tidak berdistribusi normal, maka analisis dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* merupakan uji non parametrik untuk menentukan apakah ada perbedaan yang signifikan dalam variabel dependen antara dua atau lebih kelompok variabel independen. Hipotesis diterima pada uji *Kruskal Wallis*, maka dilanjutkan *Post Hoc Test* yaitu uji *Mann Whitney U Test*. Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang signifikan antar kategori.

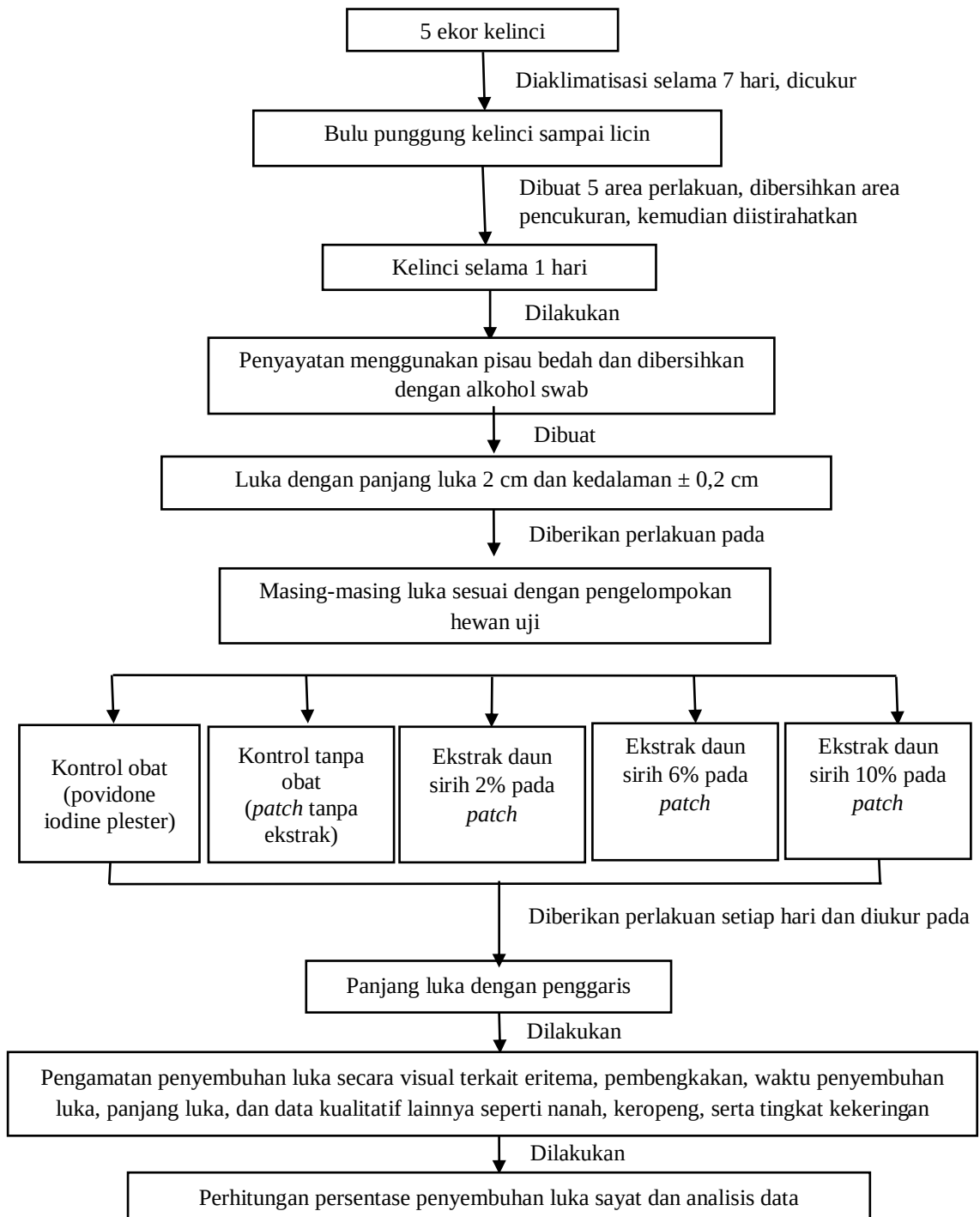
F. Skema Penelitian



Gambar 16. Proses pembuatan ekstrak daun sirih hijau



Gambar 17. Proses pembuatan patch



Gambar 18. Proses uji efektivitas patch