## BAB IV METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *True-experimental laboratory* dengan metode *Randomized Posttest Only Controlled Group Design* (Nursalam, 2008). Rancangan penelitian yang dipakai adalah rancangan acak kelompok (RAK). Penelitian ini menggunakan tiga kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) terhadap peningkatan kontraksi luka pada tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar. Tiga kelompok perlakuan diberi ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) dengan tiga dosis yang berbeda, sedangkan kelompok kontrol yang pertama diberikan perlakuan menggunakan Normal Saline (NS 0,9%) dan kelompok kontrol yang kedua diberikan Silver sulfadiazine 1% (SSD 1%).

#### 4.1.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar dengan kriteria:

#### A. Inklusi

- Tikus jantan
- Umur tikus 6 bulan
- Berat badan tikus 150-200g
- Tikus sehat
- Tikus aktif

Tikus tidak pernah mendapat perlakuan sebelumnya

#### B. Eksklusi

- Tikus yang tidak mau makan selama penelitian
- Bobot tikus menurun hingga berat badannya kurang dari 150 gram
- Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung

#### C. Cara perlakuan sampel

- Tikus pada penelitian ini tidak dilakukan pengekangan (*restrain*) dan dipelihara di kandang dengan ukuran 900 cm² dalam ruang hewan coba laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang dengan ventilasi yang cukup. Kandang dilapisi dengan sekam yang diganti 3 hari sekali agar tetap kering dan tidak lembab.
- Tikus diberi makanan dan air minum yang sama. Makanan tikus berbentuk serbuk yang komposisinya terdiri dari jagung, katul, *pollard*, DDGS, *rape* seed, copra meal, biji batu, CPO, vitamin dan mineral dicampur dengan tepung terigu dengan perbandingan 2:1. Makanan dibentuk bulatan padat seberat 40 gram.

#### 4.1.2 Cara Penghitungan Jumlah Sampel

Sampel diambil secara acak (*simple random sampling*) yang selanjutnya dikelompokan dalam masing-masing kelompok kontrol atau kelompok perlakuan. Besar sampel dalam penelitian ini ditetapkan berdasarkan prosedur baku dalam penetapan jumlah sampel yang menggunakan hewan coba (tikus putih) sebagai sampel percobaan. Selanjutnya untuk menentukan jumlah pengulangan digunakan rumus menurut Hidayat (2009):

#### Keterangan:

t = banyak perlakuan

r = banyak sampel pada tiap kelompok

Jadi pada penelitian ini, besar "t" adalah 5, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dan untuk mengetahui besar sampel pada kelompok:

$$(t-1)(r-1) \ge 15$$

$$(5-1)(r-1) \ge 15$$

$$4(r-1) \ge 15$$

$$r-1 \ge \frac{15}{4}$$

$$r-1 > 4$$

Kesimpulan: penelitian ini menggunakan 5 sampel pada tiap kelompoknya dan total sample sebanyak 25 tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar.

#### 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Farmako Universitas Brawijaya selama 15 hari pada bulan Desember 2013.

#### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas

Perawatan luka bakar derajat II A dengan pemberian ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) dengan dosis 15%, 30%, 45%.

## BRAWIJAY

#### 4.3.2 Variabel Terikat

Peningkatan kontraksi luka.

#### 4.4 Definisi Operasional

**Tabel 4.1 Definisi Operasional** 

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala Ukur
Luka bakar derajat II A	Luka yang terjadi akibat cedera termal mengenai bagian superfisial dermis dengan karakteristik terbentuknya bula, dasar luka berwarna kemerahan kadang pucat, edematus dan eksudatif dengan cara menginduksi bagian punggung kanan menggunakan balok sterofoam berukuran 2 x 2 cm yang berbalut kasa steril dengan suhu 98°C selama 30 detik berdasarkan studi ekplorasi yang telah dilakukan selama 16 hari pada tanggal 5 Juni 2013 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.		Cm <sup>2</sup>	Rasio
Perawatan luka bakar derajat II A dengan pemberian ekstrak daun melati	Perawatan luka bakar derajat II A yang menggunakan ekstrak daun melati yang dibuat melalui prosedur ekstraksi dengan pelarut etanol 96% di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan konsentrasi 15%, 30%, 45% diberikan secara			nominal

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala Ukur
AVVIOLENTAL STRAIN	topikal sebanyak 10 mg pada area luka yang sebelumnya luka dibersihkan terlebih dahulu dengan NS 0,9%. Luka ditutup dengan kassa steril dan diplester yang dilakukan sekali setiap hari pada pukul 09.00-10.00 WIB.	BR BR		
Perawatan luka bakar derajat II A dengan kompres Normal Salin 0,9%	Perawatan luka bakar derajat II A pada kelompok kontrol dengan cara luka dibersihkan dan dikompres menggunakan NS 0,9%. Luka ditutup dengan kassa steril dan diplester yang dilakukan sekali setiap hari pukul 09.00-10.00 WIB.			1/2 P
Perawatan luka bakar derajat II A dengan pemberian SSD 1%	Perawatan luka bakar derajat II A yang menggunakan SSD 1% diberikan secara topikal pada area luka yang sebelumnya luka dibersihkan terlebih dahulu dengan NS 0,9%. Luka ditutup dengan kassa steril dan diplester yang dilakukan sekali setiap hari pada pukul 09.00-10.00 WIB.			
Peningkatan Kontraksi Luka	Penyembuhan luka yang ditandai dengan pengecilan permukaan luka. Peningkatan kontraksi luka diukur menggunakan penggaris sebagai skala ukur dan difoto dengan kamera digital IPAD 3 dengan jarak pemotretan 15 cm dari permukaan area luka	%	Luas Luka	Rasio

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Hasil Ukur	Skala Ukur
	pada hari pertama dan hari ke-15. Hasil foto yang didapat dianalisa menggunakan software AutoCAD 2009 untuk mendapatkan ketepatan luas luka, kemudian dihitung dengan rumus persentase kontraksi luka.	BB		

#### 4.5 Alat dan Bahan

#### 4.5.1 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Ekstraksi

1. Daun melati (Jasminum sambac L. Ait )

2. Etanol 96%

3. Vaselin 150 gram

4. Botol hasil ekstrak 12 botol

5. Oven

6. Timbangan

7. Pisau stailessteel 1 buah

8. Gelas Erlenmeyer 2 buah

9. Corong gelas 1 buah

10. Kertas saring 1 buah

11. Labu evaporator 1 buah

12. Labu penampung etanol 1 buah

13. Evaporator 1 buah

14. Pendingin spiral atau rotary evapator 1 buah

15. Selang *water pump* 1 buah

16. Water pump

17	Water ba	ath
11.	vvalui D	auı

18. Vacum pump

1 buah

(Patmawati, 2010)

#### 4.5.2 Bahan dan Alat untuk Pembuatan Luka Bakar Derajat II A

	1.	Pisau cukur dan gagangnya	1 buah
	2.	Tikus Jantan Strain Wistar	24 ekor
	3.	Penggaris	1 buah
	4.	Sarung tangan steril	1 pasang
	5.	Bengkok	1 buah
	6.	Kom steril	2 buah
	7.	Perlak	1 buah
	8.	Air panas suhu 98°C	700 ml
	9.	Jas labolatorium	1 buah
	10.	Gunting plester	1 buah
	11.	Pinset anatomis	2 buah
	12.	Obat anastesi (Lidokain non adrenalin)	24 ampul
	13.	Normal Saline 0,9%	1 botol
	14.	Spuit + jarum	24 buah
	15.	Kassa steril	72 buah
	16.	Kassa + NS 0,9%	24 buah
	17.	Alkohol swab	24 buah
	18.	Arloji	1 buah
	19.	Balok (sterofoam) berbungkus kassa	24 buah
		(Gaylene et al., 2000)	

# BRAWIJAYA

## 4.5.3 Bahan dan Alat untuk Perawatan Luka Bakar Derajat II A

1.	Sarung tangan1 pasang	1 pasang
2.	Jas laboratorium	1 buah
3.	Bak instrument	1 buah
4.	Pinset anatomis	2 buah
5.	Kom steril	2 buah
6.	Korentang dan tempatnya	1 buah
7.	Kassa steril	24 buah
8.	Kassa + NS 0,9%	24 buah
9.	Bengkok	1 buah
10.	Perlak	3 lembar
11.	Plester	1 roll
12.	Gunting plester	1 buah
13.	Gunting kassa	1 buah
14.	Cotton bud steril	9 buah
15.	Gunting jaringan nekrotik	1 buah
16.	Spuit 3 cc	4 buah
17.	Normal saline 0,9%	2 botol
18.	Ekstrak daun melati (Jasminum sambac L. Ait)	dosis 15%
19.	Ekstrak daun melati (Jasminum sambac L. Ait)	dosis 30%
20.	Ekstrak daun melati (Jasminum sambac L. Ait)	dosis 45%

#### 4.6 Prosedur Penelitian

#### 4.6.1 Pembuatan Ekstrak Etanol dari Daun Melati

#### A. Proses Pengeringan

Daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) yang di dapat dari Balai Materia Medika Kota Batu Provinsi Jawa Timur dicuci dengan air mengalir sampai bersih, lalu dikeringkan dengan cara di angin-anginkan di dalam ruangan dengan suhu kamar selama 120 jam (Widiyastuti *et al*, 2009).

#### B. Proses Ekstraksi

Proses ekstraksi mengikuti standar pembuatan ekstrak di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang. Setelah daun melati kering dihaluskan menggunakan blender sehingga menjadi bentuk serbuk. Serbuk daun melati ditimbang sebanyak 100 gram menggunakan timbangan analitik. Selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter dan direndam (maserasi) dengan etanol 96% selama 3 hari. Kocok sampai benar-benar tercampur (± 30 menit). Diamkan 1 malam sampai mengendap.

#### C. Proses Evaporasi

Pasang evaporator pada tiang permanen agar dapat digantung dengan kemiringan 30°-40° terhadap meja. Kemudian hasil maserasi etanol dengan serbuk daun melati dimasukkan ke dalam labu evaporasi. Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath. Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 78°C (sesuai dengan titik didih etanol). Kemudian ditunggu proses berjalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu. Tunggu sampai larutan etanol berhenti menetes pada labu penampung. Hasil yang diperoleh kira-kira

BRAWIJAYA

sepertiga dari bahan alam kering. Hasil evaporasi berupa cairan kental.

Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan simpan dalam *freezer*.

#### 4.6.2 Pembuatan Krim Ekstrak Etanol dari Daun Melati

Stok ekstrak daun melati yang ada kemudian akan dibuat beberapa dosis yang berbeda dengan cara menambahkan pelarut vaselin (kadar vaselin yang digunakan sebanyak 50 mg berdasarkan ukuran luas luka yang akan diberikan yaitu 2x2 cm²) menggunakan rumus:

$$L = \frac{a}{b} x 100\%$$

#### Keterangan:

L : Konsentrasi larutan (%)

a : Massa zat terlarut (mg)

b: Massa zat pelarut (mg)

Penelitian ini menggunakan tiga dosis konsentrasi ekstrak daun melati berdasarkan studi eksplorasi dosis selama 16 hari yang di mulai pada tanggal 5 Juni 2013. Dari studi eksplorasi dosis ekstrak daun melati yang paling optimal terhadap pengurangan area luas luka adalah 30%. Dosis 15% dan 45% diberikan sebagai konsentrasi yang diambil dari setengah di atas dan di bawah konsentrasi optimal. Bila dimasukkan rumus penambahan vaselin seperti di atas didapatkan hasil sebagai berikut:

$$L = \frac{a}{b} x 100\%$$

$$a = \frac{15 \times 170 \text{ mg}}{100}$$

$$a = 25,5 \text{ mg}$$

Dalam ekstrak etanol daun melati dosis 15% terdapat 25,5 mg ekstrak etanol daun melati dalam 170 mg vaselin.

#### 2. Konsentrasi 30%

$$L=\,\frac{a}{b}x100\%$$

$$a = \frac{30 \times 140 \text{ mg}}{100}$$

Dalam ekstrak etanol daun melati dosis 30% terdapat 42 mg ekstrak etanol daun melati dalam 140 mg vaselin.

#### 3. Konsentrasi 45%

$$L=\frac{a}{b}x100\%$$

$$a = \frac{45 \times 110 \text{ mg}}{100}$$

Dalam ekstrak etanol daun melati dosis 45% terdapat 49.5 mg ekstrak etanol daun melati dalam 110 mg vaselin.

#### 4.6.3 Persiapan Hewan Coba

#### A. Sebelum Penelitian

Hewan coba diseleksi sesuai dengan kriteria sampel.

- Hewan coba dilakukan aklimatisasi (penyesuaian lingkungan) selama tujuh hari di Laboratorium Farmakologi FKUB. Persiapan pemeliharaan hewan coba mulai dari kandang pemeliharaan hewan coba, anyaman kawat, sekam, botol minum, alat semprot, tempat makan, alkohol 70%.
- Tikus diberi makan dan minum standart laboratorium dan dilakukan penimbangan berat badan di akhir aklimatisasi.

#### B. Selama Penelitian

- Pembuatan luka bakar derajat II A.
  - Tentukan terlebih dahulu daerah yang akan dibuat luka bakar yaitu punggung kanan atas
  - Bersihkan bulu dan cukur area yang akan dibuat induksi luka bakar seluas 5 x 5 cm²
  - o Pasang perlak/ alas di bawah tubuh tikus yang akan di buat luka bakar
  - o Buka bak instrumen steril, cuci tangan, dan pakai sarung tangan steril
  - Desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar, tunggu sampai alkohol kering
  - Lakukan anastesi dengan cara disuntikkan pada area kulit yang akan di buat luka bakar yaitu punggung kanan atas dengan lidocain non adrenalin dosis 0,5 cc
  - Siapkan styrofoam berukuran 2 x 2 cm2 kemudian balut dengan kasa sebanyak 2 lapis
  - Celupkan styrofoam yang berbungkus kasa ke dalam air panas (suhu 98° C) selama 3 menit
  - Tempelkan styrofoam yang berbungkus kasa pada hewan coba selama 30 detik

- Setelah diinduksi, kompres area yang diberi luka bakar menggunakan normal salin selama 1 menit untuk mencegah luka bakar menyebar ke daerah yang lain
- o Tunggu sampai terbentuk bula
- o Balut luka (Bula tidak pecah)
- Lepas sarung tangan
- o Rapikan alat dan cuci tangan (Khorasani, 2008).
- Dipisahkan antara satu dengan yang lainnya dan dikelompokkan menurut terapi yang diberikan (Purnama, et.al., 2013).
- Perawatan luka bakar derajat II A
  - Pakai sarung tangan
  - Buka balutan
  - o Perawatan
    - ✓ Kelompok A

(Kelompok kontrol negatif dengan perawatan luka tertutup menggunakan normal saline 0,9%).

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Berikan 0,5 cc normal salin pada area luka (perawatan dilakukan 1x/hari jam 09.00 10.00 WIB)
- ✓ Kelompok B

(Kelompok kontrol positif dengan perawatan luka tertutup menggunakan SSD 1%).

Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.

 Berikan SSD 1% sebanyak 10 mg pada area luka menggunakan cotton bud steril (perawatan dilakukan 1x/hari jam 09.00 – 10.00 WIB)

#### ✓ Kelompok C

(Kelompok perlakuan P1 dengan perawatan luka tertutup menggunakan krim ekstrak daun melati dosis 15%).

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Berikan krim ekstrak daun melati dosis 15% sebanyak 10 mg pada area luka menggunakan *cotton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00 10.00 WIB).

#### √ Kelompok D

(Kelompok perlakuan P2 dengan perawatan luka tertutup menggunakan krim ekstrak daun melati dosis 30%).

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Berikan krim ekstrak daun melati dosis 30% sebanyak 10 mg pada area luka menggunakan cotton bud steril (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00 – 10.00 WIB).

#### √ Kelompok E

(Kelompok perlakuan P3 dengan perawatan luka tertutup menggunakan krim ekstrak daun melati dosis 45%).

- Bersihkan luka dengan normal saline 0,9%.
- Berikan krim ekstrak daun melati dosis 45% sebanyak 10 mg pada area luka menggunakan *cotton bud* steril (perawatan dilakukan 1x/hari yaitu jam 09.00 10.00 WIB).
- Tutup luka dengan kassa steril dan plester.

#### C. Sesudah Penelitian

- Hari ke 15 dilakukan kegiatan mematikan tikus
- Pengambilan jaringan kulit melalui prosedur pembedahan
- Tikus dikubur

#### 4.7 Prosedur Pengumpulan Data

#### 4.7.1 Teknik Pengumpulan Data

Data didapatkan dari sampel yang di bagi menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol negatif dengan pemberian normal salin (NS 0,9%), 1 kelompok kontrol positif dengan pemberian SSD 1% dan 3 kelompok perlakuan menggunakan pemberian ekstrak daun melati (*Jasminum sambac* L. Ait) dengan dosis 15%, 30%, 45%. Pengumpulan data dilakukan selama perawatan luka dari hari pertama setelah diinduksi luka bakar sampai hari ke–15.

#### 4.7.2 Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data dengan memfoto luka bakar pada tikus dari hari pertama dan hari ke-15 menggunakan kamera digital IPAD 3. Pada saat mengambil gambar, dilakukan pula pengukuran pada luka menggunakan penggaris untuk mengetahui ukuran luka, selanjutnya besar ukuran luka dianalisis menggunakan software AutoCad 2009 yang hasilnya akan dihitung menggunakan rumus penghitungan kontraksi luka.

#### 4.7.3 Identifikasi Kontraksi Luka

Identifikasi kontraksi luka dilakukan dengan menggunakan ukuran luka bakar derajat II A pada hari pertama setelah penginduksian luka bakar dan hari terakhir pada hari ke-15 setelah luka dibersihkan kemudian difoto menggunakan kamera digital IPAD 3 beresolusi 5 *megapixel* dengan pencahayaan yang sama

dan jarak 15 cm dari area luka kemudian diukur panjang luka dengan menggunakan penggaris sebagai skala ukur 1:100, 1 cm pada penggaris dibandingkan 100 pada garis yang di buat pada software AutoCad 2009. Software AutoCad 2009 digunakan untuk menghitung luas area luka karena lebih presisi guna memperoleh data kuantitatif (Rachmawati, 2013).

Prosedur penghitungan luas area luka dengan software AutoCad 2009, yaitu:

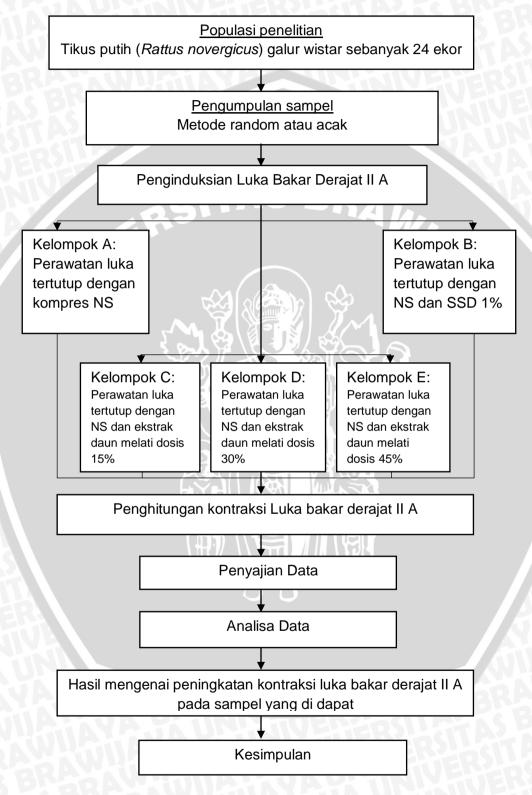
- Buka software AutoCad 2009.
- 2. Masukkan gambar klik *insert* pilih *Raster Image Referencee*, *select image file* dan *open*, muncul *image* tekan OK, kemudian *enter* dan klik pada layar model AutoCad 2009. Gambar bisa diperkecil dan diperbesar menggunakan *mouse pointer*.
- 3. Klik *line* letakkan pada layar model AutoCad 2009, tarik garis lurus pada sudut 0° dan ketik angka 100 kemudian *enter* dan ESC.
- 4. Pindahkan garis lurus sepanjang 100 ke dalam gambar sejajar penggaris 1 cm dengan cara klik garis lurus, klik move, tarik garis lurus, dan klik pada penggaris. Garis disesuaikan dengan panjang penggaris 1 cm. Jika garisnya terlalu panjang, gambar dapat dikecilkan dan sebaliknya. Apabila garis tidak sejajar dengan penggaris dapat dilakukan rotate pada gambar untuk menyesuaikan garis sepanjang 100 pada penggaris 1 cm.
- 5. Hitung luas luka dengan cara klik polyline kemudian membuat garis sesuai luas area luka, tekan enter dan ESC, klik pada salah satu titik garis, klik kanan dan pilih properti akan muncul hasil luas area luka dalam satuan mm² (Rachmawati, 2013).

Kemudian data ukuran luka bakar tikus di hitung dengan menggunakan rumus penghitungan kontraksi luka bakar menurut Bairy (2012):

% Kontraksi Luka =  $\frac{\text{luka awal-luka pada hari ke }_{\chi}}{\text{luka awal}} \times 100$ 



#### 4.7.4 Alur Penelitian



Gambar 4.1 Alur Penelitian

#### 4.8 Analisis Data

#### 4.8.1 Uji normalitas dan homogenitas

Hasil analisa terhadap peningkatan kontraksi luka bakar derajat II A pada masing-masing sampel pada setiap perlakuan dilakukan uji statistik SPSS version 20 dengan cara uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro Wilk karena sampel kecil ( $\leq 50$ ) dengan  $\alpha = 0,05$ . Jika didapatkan data menunjukkan p value > 0,05, maka data terdistribusi normal (Dahlan, 2009). Kemudian pada uji homogenitas atau keragaman data menggunakan uji test of homogeneity of variances dengan  $\alpha = 0,05$ . Jika data menunjukkan p value > 0,05, maka data adalah homogen, sehingga dapat dilakukan uji parametrik lebih lanjut menggunakan One way ANOVA (Dahlan, 2009).

#### 4.8.2 Uji one way ANOVA

Data hasil penelitian kemudian dianalisa dengan *One way ANOVA SPSS version 20* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok uji coba. Jika signifikansi < α (0,05), maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap peningkatan kontraksi luka pada luka bakar derajat II A antar kelompok uji coba.

#### 4.8.3 Uji Perbandingan Berganda (Post Hoc Test)

Uji Perbandingan Berganda (*Post Hoc Test*) merupakan metode pegujian lanjutan apabila hasil pengujian *One way ANOVA* terdapat nilai beda atau ketidaksamaan nilai tengah pada data yang diujikan. Metode ini berfungsi untuk mengetahui nilai tengah mana yang memiliki perbedaan yang signifikan. Biasanya dilakukan dengan melihat besar variasi dari tiap kombinasi perbandingan nilai tengah yang diamati. Kelompok dengan nilai signifikansi

BRAWIJAYA

paling kecil, mempunyai nilai signifikansi paling bermakna dalam kelompok – kelompok uji coba.

