

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental* dengan desain penelitian *Pretest and Posttest Control Group Design* dimana pengambilan data dilakukan di awal dan di akhir atau setelah pemberian perlakuan baik pada kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan. Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba tikus putih galur wistar untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe emprit dalam meningkatkan proses kontraksi luka terkontaminasi.

Dalam penelitian ini, setiap kelompok perlakuan tikus mendapat perlakuan konsentrasi ekstrak jahe emprit yang berbeda, yaitu 5%, 20%, 35%. Sedangkan kelompok kontrol diberikan perawatan *povidone iodine* 10%.

4.2 Sampel**4.2.1 Kriteria Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar karena mempunyai persamaan filogenik dengan manusia dan mempunyai sifat-sifat respon biologis yang mendekati manusia. Proses penyembuhan luka dipengaruhi oleh berbagai faktor. Oleh sebab itu, untuk menghindari faktor-faktor perancu yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka, maka ditentukan kriteria inklusi untuk menghomogenkan sampel. Adapun kriteria inklusi tersebut, meliputi:

- a. Jenis tikus adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar
- b. Jenis kelamin jantan
- c. Usia 2-2,5 bulan (usia pertumbuhan) karena proliferasi sel pada usia pertumbuhan lebih cepat sehingga mendukung penyembuhan luka
- d. Berat badan tikus antara 150-250 gram
- e. Diberi minum dan makan dengan jumlah dan jenis yang sama
- f. Kondisi sehat ditandai dengan: pergerakan aktif, jinak, berbulu licin, mengkilat dan bersih, rambut tebal dan tidak kasar, badan tegap dan tidak kerempeng, tidak ada luka, mata jernih dan baik, tidak mengeluarkan lendir/nanah/darah dari mata atau telinga, tidak terlalu banyak ludah, tidak mencret, dan pernafasan tenang.
- g. Tidak mendapatkan pengobatan sebelumnya
- h. Masing-masing tikus ditempatkan pada kandang dengan ukuran yang sama dan diberi sekam. Sekam diganti setiap 3 hari sekali agar tetap kering, tidak lembab. Satu kandang ditempati oleh satu ekor tikus supaya tikus tidak berkelahi dan tidak menimbulkan luka baru.
- i. Dilakukan aklimatisasi selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi FKUB

4.2.2 Besar Sampel

Sampel pada penelitian ini dibagi menjadi empat perlakuan, yaitu tiga kelompok mendapat perlakuan ekstrak jahe emprit dengan konsentrasi masing-masing 5%, 20%, 35% serta satu kelompok kontrol menggunakan *povidone iodine* 10%. Jumlah objek penelitian tiap kelompok dihitung dengan menggunakan rumus:

$$p(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = banyaknya sampel tiap kelompok perlakuan

Pada penelitian ini menggunakan empat perlakuan sehingga jumlah sampel yang diperlukan dalam satu kelompok adalah:

$$p(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 15 + 4$$

$$n \geq 19/4$$

$$n \geq 4,9$$

$$n \geq 5$$

Jadi, dalam penelitian ini dibutuhkan jumlah sampel minimal tiap kelompok sebanyak 5 ekor. Dalam penelitian ini menggunakan jumlah sampel sebanyak 6 ekor untuk tiap kelompok perlakuan guna menghindari kejadian yang tidak diinginkan bila sewaktu-waktu ada sampel yang mati atau tidak masuk dalam kriteria inklusi, sehingga total sampel berjumlah 24 ekor. Kemudian, setelah penentuan jumlah sampel, maka dilakukan pembagian kelompok. Pembagian kelompok dilakukan dengan cara *simple random sampling* karena jenis penelitian yang dipakai adalah *True Experimental*.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Independen

Dalam penelitian ini, variabel independennya adalah ekstrak jahe emprit dengan konsentrasi 5%, 20%, 35% yang digunakan untuk perawatan luka terkontaminasi dan *povidone iodine* 10% sebagai kelompok kontrol. Konsentrasi ekstrak jahe emprit didapatkan melalui studi eksplorasi dosis selama 15 hari pada tanggal 17-31 Oktober 2013 di Laboratorium Farmakologi FKUB.

4.3.2 Variabel Dependen

Dalam penelitian ini, variabel dependennya adalah peningkatan proses kontraksi luka.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi FKUB pada tanggal 3 Februari 2014 sampai 22 Februari 2014.

4.5 Alat dan Bahan

4.5.1 Hewan Coba

Pemilihan hewan uji idealnya harus dipilih semirip mungkin dengan kondisi manusia, utamanya dalam hal absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi terhadap senyawa uji. Hal ini dilakukan untuk memperkecil perubahan respon antar jenis dan dalam satu jenis hewan uji terhadap efek senyawa uji. Pada umumnya hewan uji yang sering digunakan adalah mencit, tikus, kelinci, anjing, kera serta kucing. Dalam percobaan ini, hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar sebanyak 24 ekor tikus yang dibagi dalam empat kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Umur tikus yang

dipakai dalam penelitian ini adalah 2 sampai 2,5 bulan dan berat 150-250 gram. Keuntungan penggunaan tikus putih galur wistar terutama yang masih muda (± 2 bulan) adalah pada umumnya mempunyai nafsu makan yang kuat dan masih dalam taraf pertumbuhan yang optimal sedangkan kerugiannya berat badannya relatif belum stabil dan sering menunjukkan fluktuatif. Secara hormonal tikus putih jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus putih betina karena tikus putih betina mengalami masa esterus dan masa bunting.

4.5.2 Alat dan Bahan Pembuatan Luka Terkontaminasi

- a. Pisau bedah (surgical blade)
- b. Pinset anatomis 2 buah
- c. Kassa steril
- d. S spuit 3 mL
- e. Sarung tangan bersih
- f. Alat cukur
- g. Alkohol swab/alkohol 70%
- h. Hypafix/plester
- i. Gunting
- j. Lidokain/agen anestesi lokal lain
- k. Aquades
- l. Penggaris
- m. Perlak
- n. Bengkok
- o. Spidol
- p. Jas lab

4.5.3 Alat dan Bahan Perawatan Luka Terkontaminasi

- a. Bak steril yang berisi:
 - Sarung tangan steril
 - Kassa steril
 - Pinset anatomis steril 2 buah
- b. Kom steril
- c. Ekstrak jahe emprit konsentrasi 5%, 20%, 35%
- d. *Povidone iodine* 10%
- e. Normal salin 0,9%
- f. Bengkok
- g. Sarung tangan bersih
- h. Perlak
- i. Plester/hypafix
- j. Gunting
- k. Deeper/kapas
- l. Korentang dalam tempatnya
- m. Jas lab

4.5.4 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstraksi Jahe Emprit

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pembuatan ekstrak jahe emprit berdasarkan standar pembuatan ekstrak di Laboratorium Farmakologi

Universitas Brawijaya Malang adalah sebagai berikut:

- a. Rimpang jahe emprit (*Zingiber Officinale var. Amarum*)
- b. Etanol 96%
- c. Vaseline
- d. Oven

- e. Gelas Erlenmeyer
- f. Botol hasil ekstrak
- g. Timbangan
- h. Corongan gelas
- i. Kertas saring (berukuran 30 mesh)
- j. Labu evaporator
- k. Labu penampung etanol
- l. Evaporator
- m. Pendingin spiral/rotary evaporator
- n. Selang water pump
- o. Water pump
- p. Water bath
- q. Vacum pump
- r. Freezer

4.5.5 Pemeliharaan dan Penimbangan Tikus

- a. Kandang/bak tikus
- b. Penutup kandang dari anyaman kawat
- c. Botol air untuk minum
- d. Makanan tikus
- e. Timbangan sartorius
- f. Sekam
- g. Alas tidur

4.5.6 Pengambilan Gambar Kontraksi Luka

- a. Kamera digital *Sony DSC-W710 16.1 MP*
- b. Penggaris

4.6 Definisi Operasional

Berikut adalah definisi operasional dalam penelitian ini:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Luka Terkontaminasi	Luka insisi sepanjang 2,5 cm dengan kedalaman sampai area subkutan yang dibuat pada punggung tikus tanpa menggunakan teknik steril, yaitu pisau bedah yang digunakan dipaparkan dengan udara terbuka selama 24 jam dan tidak disterilkan. Kemudian luka dibiarkan terpapar dengan udara terbuka selama 6 jam sampai terjadi kontaminasi minimal. Untuk memastikan bahwa telah terjadi kolonisasi bakteri pada luka dilakukan uji kultur di Lab. Mikrobiologi FKUB. Dari hasil studi pendahuluan tanggal 25 Oktober 2013 terlihat adanya koloni bakteri pada tiga sampel yang telah dilakukan kultur pada lokasi lukanya (hasil dilampirkan).	-	-	-
2.	Ekstrak rimpang jahe emprit	Bubuk rimpang jahe emprit yang diekstrak dengan prosedur ekstrak dingin menggunakan etanol 96% untuk mendapatkan kandungan oleoresin, minyak atsiri, dan flavonoid dalam jahe emprit yang kemudian digunakan sebagai bahan perawatan luka.	-	Mililiter (ml)	Rasio

3.	Perawatan luka terkontaminasi menggunakan ekstrak jahe emprit dengan konsentrasi 5%, 20%, dan 35%.	Perawatan pada luka terkontaminasi dengan membersihkan luka menggunakan cairan NS 0,9%, kemudian luka diolesi dengan ekstrak jahe emprit yang telah dicampur dengan vaselin menjadi konsentrasi yang diinginkan, yaitu 5%, 20%, 35% berdasarkan studi eksplorasi dosis selama 15 hari pada tanggal 17-31 Oktober 2013 di Laboratorium Farmakologi FKUB. Ekstrak dioleskan secara topikal kemudian luka ditutup dengan kassa steril.	-	-	Nominal
4.	Perawatan luka terkontaminasi menggunakan <i>povidone iodine</i> 10%	Perawatan luka terkontaminasi pada kelompok kontrol dengan membersihkan luka menggunakan cairan NS 0,9%, kemudian ditetesi dengan dengan <i>povidone iodine</i> 10% sebanyak 0,5 cc yang diberikan dengan spuit 3 cc. Luka ditutup dengan kassa steril.	-	-	Nominal
5.	Kontraksi Luka	Proses terjadinya penyempitan ukuran luka dengan menghitung pengurangan luas area luka mulai hari ke-0 setelah diinduksi luka terkontaminasi yang digunakan sebagai ukuran luka awal sebelum diberi perlakuan kemudian diukur dan diamati pada hari ke-4, ke-6, ke-8, ke-10, ke-12 (Jarrah et al., 2004). Setelah luka dirawat dan diberi perlakuan, difoto menggunakan kamera digital dengan pencahayaan yang sama	Penggaris & garis yang dibuat menggunakan <i>software AutoCAD 2009</i>	Prosentase (%)	Rasio

	<p>dan jarak 10 cm dari area luka setelah luka dibersihkan dan diukur menggunakan penggaris sebagai skala ukur 1:100, 1 cm pada penggaris dibandingkan 100 pada garis yang dibuat pada <i>software AutoCAD 2009</i> kemudian luas area luka dihitung dengan <i>software AutoCAD 2009</i> (Pirbalouti <i>et al.</i>, 2009). Setelah itu dihitung kontraksi luka menggunakan rumus % <i>wound contraction</i> (Khan <i>et al.</i>, 2013).</p>			
--	---	--	--	--

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak Jahe Emprit

Pembuatan ekstrak jahe emprit merupakan suatu proses pemisahan senyawa-senyawa dari campuran bahan-bahan lain dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan dibuat dengan alat ekstraktor. Metode dalam pembuatan ekstrak ini menggunakan metode ekstrak dingin. Metode ekstrak dingin merupakan salah satu cara untuk memisahkan campuran padat dengan cair.

Prosedur pembuatan ekstrak jahe emprit ini mengikuti standar pembuatan ekstrak yang ada di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang meliputi beberapa tahap sebagai berikut:

a. Proses Pengeringan

- 1) Cuci bersih rimpang jahe emprit yang akan dikeringkan.
- 2) Potong kecil-kecil.
- 3) Oven dengan suhu 80°C atau dengan panas matahari sampai kering (bebas kandungan air).

b. Proses Ekstraksi

- 1) Setelah kering, haluskan dengan blender sampai halus. Saring dengan saringan ukuran 30 mesh (Tutik, 2003).
- 2) Timbang sampel kering (bubuk jahe emprit) sebanyak 100 gram.
- 3) Masukkan 100 gram sampel kering ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
- 4) Rendam dengan etanol sampai volume 900 ml.
- 5) Kocok sampai benar-benar tercampur (\pm 30 menit).
- 6) Diamkan 1 malam sampai mengendap.

c. Proses Evaporasi

- 1) Ambil lapisan atas campuran etanol dengan zat aktif yang sudah terambil.
- 2) Masukkan dalam labu evaporasi 1 liter.
- 3) Pasang labu evaporasi pada evaporator.
- 4) Isi water bath dengan air sampai penuh.
- 5) Pasang semua rangkaian alat termasuk rotary evaporator, pemanas water bath (atur sampai 90°C), sambungkan dengan aliran listrik.
- 6) Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- 7) Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (\pm 1,5 sampai 2 jam untuk 1 labu).
- 8) Hasil yang diperoleh kira-kira $1/3$ dari bahan alam kering.
- 9) Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik/kaca.
- 10) Simpan dalam freezer.

4.7.2 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak Jahe Emprit

Untuk pembuatan konsentrasi, stok ekstrak jahe emprit yang ada dicampur dengan vaselin menggunakan rumus:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 = \frac{(V_2 \times N_2)}{N_1}$$

$$N_1$$

Keterangan:

N_1 : konsentrasi awal

N_2 : konsentrasi akhir (konsentrasi yang diinginkan)

V_1 : berat awal

V_2 : berat akhir

Pada penelitian ini jumlah ekstrak (V_1) yang dibutuhkan untuk dicampur dengan vaselin agar menjadi konsentrasi yang diinginkan adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi 5%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 3.000 \text{ mg} \times 5\%$$

$$V_1 = 150 \text{ mg}$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas untuk mendapatkan 3.000 mg ekstrak jahe konsentrasi 5%, dibutuhkan ekstrak sebanyak 150 mg konsentrasi 100% untuk dicampur dengan vaselin 2.850 mg.

2. Konsentrasi 20%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 3.000 \text{ mg} \times 20\%$$

$$V_1 = 600 \text{ mg}$$

Untuk mendapatkan 3.000 mg ekstrak jahe konsentrasi 20%, dibutuhkan ekstrak sebanyak 600 mg konsentrasi 100% untuk dicampur dengan vaselin 2.400 mg.

3. Konsentrasi 35%

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$V_1 \times 100\% = 3.000 \text{ mg} \times 35\%$$

$$V_1 = 1.050 \text{ mg}$$

Untuk mendapatkan 3.000 mg ekstrak jahe konsentrasi 35%, dibutuhkan ekstrak sebanyak 1.050 mg konsentrasi 100% untuk dicampur dengan vaselin 1.950 mg.

4.7.3 Pembagian Kelompok Tikus

Pembagian kelompok tikus dilakukan pada tikus yang sudah memenuhi kriteria inklusi dalam penelitian. Mekanisme pembagian kelompok tikus dilakukan secara *simple random sampling* yang mana tikus dibagi dalam empat kelompok, yaitu satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan dengan masing-masing konsentrasi ekstrak jahe emprit 5%, 20%, 35%.

4.7.4 Pembuatan Luka Terkontaminasi

Cara pembuatan luka terkontaminasi dengan menggunakan metode insisi adalah sebagai berikut:

- 1) Memasang perlak di bawah tubuh tikus yang akan dibuat luka.
- 2) Menentukan area yang akan dibuat luka terkontaminasi yaitu pada daerah punggung kanan tikus.
- 3) Menghilangkan bulu tikus dengan cara mencukurnya menggunakan alat cukur seluas 5 x 3 cm disekitar area kulit yang akan dibuat insisi.

- 4) Membuat tanda sepanjang 2,5 cm pada punggung tikus yang sudah dicukur menggunakan spidol dan penggaris.
- 5) Cuci tangan dan pakai sarung tangan bersih.
- 6) Mendesinfeksi kulit yang akan di insisi menggunakan alkohol swab.
- 7) Melakukan anestesi di area kulit yang akan dibuat insisi dengan menyuntikkan lidocain 0,5 cc secara IM menggunakan spuit 3 cc.
- 8) Melakukan penyayatn kulit pada punggung kanan tikus tanpa teknik steril dengan menggunakan pisau bedah dengan panjang luka 2,5 cm dan kedalaman 0,5 cm (sampai subkutan).
- 9) Membersihkan darah dan serum yang keluar dari luka dengan kassa yang sudah diberi NaCl 0,9%.
- 10) Membiarkan luka selama 6 jam dan setiap jam tikus dipindahkan dari satu tempat ke tempat lain dalam ruangan untuk mendapatkan kesempatan terpapar udara yang sama antara satu tikus dengan tikus yang lain.
- 11) Memberikan perlakuan sesuai kelompok (ekstrak jahe emprit dan *povidone iodine* 10%).
- 12) Menutup luka dengan kassa steril dan plester.
- 13) Melepas sarung tangan.
- 14) Merapikan alat dan mencuci tangan (Gaylene, 2000).

4.7.5 Perawatan Luka Terkontaminasi

Perawatan luka dilakukan dengan menggunakan teknik aseptik, yaitu:

- 1) Menyiapkan peralatan untuk perawatan luka.
- 2) Mencuci tangan dan memakai sarung tangan bersih.
- 3) Membuka pembungkus dan penutup steril dengan korentang.

- 4) Menuangkan NaCl 0,9% dan *povidone iodine* 10% dalam kom steril yang berbeda.
- 5) Menyiapkan ekstrak jahe emprit konsentrasi 5%, 20% dan 35%
- 6) Menempatkan perlak di bawah tikus.
- 7) Mengatur posisi tikus.
- 8) Menempatkan bengkok di dekat area luka yang akan dirawat.
- 9) Membuka bagian pinggir perekat dengan alkohol swab.
- 10) Membuka seluruh balutan dengan cara menggulung ke arah dalam dari proksimal ke distal dengan pinset.
- 11) Membuang balutan ke dalam bengkok.
- 12) Memakai sarung tangan steril.
- 13) Mengkaji luka: inspeksi adanya kemerahan, tanda penyatuan jaringan, edema, adanya pus, atau cairan lain, dan kaji warna serta bau.
- 14) Mengambil kassa steril yang telah dibasahi NaCl 0,9% dari kom steril.
- 15) Membersihkan luka dengan kassa dan NaCl 0,9% dari atas ke bawah. Bersihkan dengan menggunakan kassa steril sekali usap langsung buang ke bengkok.
- 16) Mengeringkan luka dengan kassa steril kering dengan gerakan yang sama dan satu kassa untuk sekali pengeringan.
- 17) Memberikan ekstrak jahe emprit pada kelompok perlakuan dengan masing-masing konsentrasi pada tiap kelompok adalah 5%, 20%, 35% dan kelompok kontrol dengan *povidone iodine* 10%.
- 18) Menutup luka dengan kassa steril dan plester.
- 19) Melepaskan sarung tangan, merapikan alat, dan mencuci tangan.

4.7.6 Teknik Sterilisasi

Penelitian ini menggunakan teknik perebusan untuk sterilisasi alat-alat logam dengan menggunakan *autoklast* atau direbus dengan air mendidih 100°C selama 30 menit. Temperatur 100°C akan membunuh semua bakteri pada kultur, suhu 121°C selama 15 menit dapat digunakan untuk membunuh spora. Secara umum digunakan uap karena bakteri lebih cepat terbunuh jika basah dan uap dapat mendistribusikan panas keseluruh bagian bejana sterilisasi. Uap harus dijaga pada tekanan 15lb/sq diatas tekanan atm untuk menghasilkan suhu 121°C. Sedangkan untuk sterilisasi peralatan non logam (misalnya kassa, sarung tangan dan lain-lain) menggunakan teknik panas kering yaitu udara panas oleh oven listrik dengan menggunakan *memmert* pada suhu 160-170°C selama lebih dari 1 jam (Kusumawati, 2010).

4.7.7 Prosedur Pemeliharaan dan Penimbangan Tikus

Adapun prosedur pemeliharaan dan penimbangan tikus yang dilakukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Penandaan tikus

Untuk menghindari kesalahan dalam penilaian penyembuhan luka pada tikus, maka masing-masing tikus harus diberi tanda yang tidak mudah hilang. Dalam penelitian ini, penandaan dilakukan dengan cara memberi nama jenis perlakuan pada kandang tikus.

- 2) Tempat perawatan tikus

Kandang tempat perawatan tikus dalam penelitian ini terbuat dari bahan plastik yang tebal karena bahan ini cukup kuat, tidak mudah rusak, dan mudah dibersihkan. Kandang dilengkapi dengan penutup yang terbuat dari anyaman kawat agar tikus tidak mudah lepas.

Ukuran kandang untuk setiap tikus adalah sama dan diberi sekam. Sekam diganti setiap 3 hari sekali agar tetap kering, tidak lembab. Satu kandang ditempati oleh satu ekor tikus supaya tikus tidak berkelahi dan tidak menimbulkan luka baru.

3) Nutrisi tikus

Tikus diberikan makanan dengan jumlah dan frekuensi yang sama setiap hari. Makanan tikus berupa pars yang dicampur dengan terigu sebanyak 40 gram/hari. Minuman tikus diletakkan dalam botol yang berada di dalam kandang.

4) Penimbangan tikus

Pengukuran berat badan tikus menggunakan alat penimbang sartorius yang dilakukan sebelum prosedur eksperimen dilakukan.

4.7.8 Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan teknik observasi eksperimen, sampel dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Kemudian dilakukan perawatan luka dengan batas waktu penelitian selama 12 hari. Pengukuran luas area luka dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan, yaitu pada hari ke-0 setelah tikus diinduksi luka terkontaminasi dengan metode insisi yang digunakan sebagai ukuran luas awal area luka sebelum diberi perlakuan kemudian diukur pada hari ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12 baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol untuk melihat luas area luka (Jarrahi *et al.*, 2004). Kemudian kontraksi luka dapat dihitung dari luas luka tersebut.

Peneliti langsung mengamati hasil penelitian secara berulang. Pengumpulan data dilakukan sekali setiap hari pada hari ke-0, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12 pada saat perawatan luka di Laboratorium Farmakologi FKUB.

4.7.9 Identifikasi Kontraksi Luka

Luas area luka diukur pada hari ke-0, ke-4, ke-6, ke-8, ke-10 dan ke-12 (Jarrahi *et al.*, 2004). Kemudian kontraksi luka dapat dihitung dari luas luka tersebut. Setelah luka dibersihkan kemudian difoto menggunakan kamera digital *Sony DSC-W710 16.1 MP* dengan pencahayaan yang sama dan jarak 10 cm dari area luka kemudian diukur panjang lukanya menggunakan penggaris sebagai skala ukur 1:100, 1 cm pada penggaris dibandingkan pada garis yang dibuat pada *software AutoCAD 2009*. Luas area luka dihitung dengan *software AutoCAD 2009* karena lebih presisi guna memperoleh data kuantitatif (Pirbalouti *et al.*, 2009).

Prosedur penghitungan luas luka dengan *software AutoCAD 2009*, yaitu:

1. Buka *software AutoCAD 2009*
2. Masukkan gambar klik *Insert* pilih *Raster Image Reference*, *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. Kalau garisnya kepanjangan, gambarnya 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 lukanya dalam satuan mm².

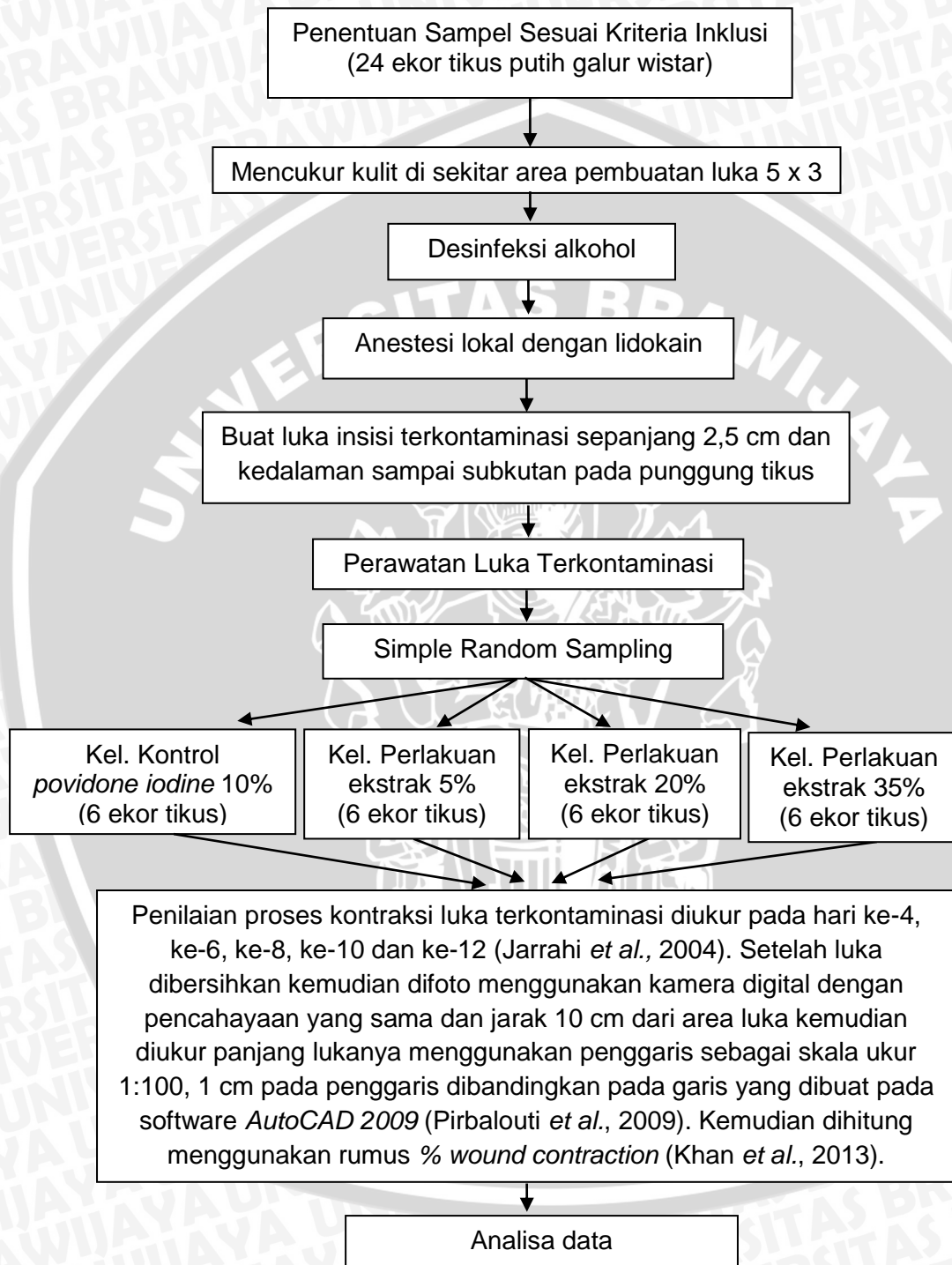
Kontraksi luka dihitung menggunakan rumus (Khan *et al.*, 2013):

$$\% \text{ wound contraction} = \frac{\text{Healed area}}{\text{Total wound area}} \times 100$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4.8 Alur Kerja Penelitian



Bagan 4.1 Alur Kerja Penelitian

4.9 Analisa Data

Dalam membandingkan rata-rata proses kontraksi luka terkontaminasi pada masing-masing kelompok sampel, peneliti akan menganalisis dengan menggunakan metode statistik *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan menggunakan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dengan menggunakan *software SPSS Statistics 20*. Uji statistik *One Way ANOVA* merupakan suatu uji statistik inferensial parametrik yang memungkinkan peneliti dapat membandingkan dua atau lebih data mean dari masing-masing kelompok.

Adapun syarat-syarat yang harus dipenuhi sebelum melakukan uji statistik dengan *One Way ANOVA*, beberapa asumsi data yang harus dipenuhi antara lain: data harus mempunyai sebaran/distribusi normal, memiliki ragam yang homogen, skala data interval atau rasio, percobaan bersifat random dan bebas.

Untuk mengetahui pengujian apakah data sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal, maka digunakan pengujian *Shapiro-Wilk* terhadap masing-masing variabel. Jika angka signifikansi $p\text{ value} > 0,05$, maka data berdistribusi normal. Sebaliknya jika angka signifikansi $p\text{ value} < 0,05$, maka data tidak berdistribusi normal.

Setelah terbukti bahwa data berdistribusi normal, kemudian dilakukan uji homogenitas. Untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak, digunakan *Test of Homogeneity of Variances*. Selanjutnya dilakukan pengujian *One Way ANOVA*. Setelah itu dilakukan uji *Post Hoc Test* atau *Tukey HSD* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki rata-rata sama atau berbeda secara bermakna dalam meningkatkan proses kontraksi luka terkontaminasi.

4.10 Kode Etik Penelitian

Dalam penelitian kesehatan, seorang peneliti harus selalu menghormati dan melindungi kehidupan, kesehatan, kesejahteraan dan penanganan secara manusiawi, termasuk terhadap hewan coba. Oleh sebab itu, sebelum penelitian dilakukan terhadap hewan coba untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe emprit dalam meningkatkan proses kontraksi luka, peneliti melakukan permohonan lolos uji etik (*ethical clearance*) kepada panitia etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Disamping permohonan lolos uji etik, dalam memanfaatkan hewan percobaan untuk penelitian kesehatan peneliti juga mempertimbangkan prinsip-prinsip etik penelitian yang merujuk pada 3R, yaitu *replacement, reduction, dan refinement* (Polit dan Hungler, 1999).

1) *Replacement*

Ada dua alternatif untuk replacement, yaitu:

- a) *Replacement relatif*, yaitu menggunakan sel, jaringan, atau organ dari hewan vertebrata yang dimatikan secara manusiawi.
- b) *Replacement absolut*, yaitu tidak memerlukan bahan dari hewan, melainkan memanfaatkan galur sel (*cell lines*) atau program komputer.

2) *Reduction*

Mengurangi pemanfaatan jumlah hewan percobaan sehingga sesedikit mungkin dengan bantuan ilmu statistik, program komputer, dan teknik-teknik biokimia serta tidak mengurangi penelitian dengan hewan percobaan apabila tidak perlu.

3) *Refinement*

Mengurangi ketidaknyamanan yang diderita oleh hewan percobaan sebelum, selama, dan setelah penelitian, misalnya dengan pemberian analgesik.

Pada penelitian ini, peneliti melakukan penelitian terhadap 24 ekor tikus putih galur wistar yang mana jumlah tikus tersebut telah dihitung dan disesuaikan dengan jumlah perlakuan. Sebelum pembuatan luka terkontaminasi pada tikus diberikan anestesi lokal dengan lidokain yang bertujuan untuk mengurangi rasa nyeri pada tikus. Perdarahan pada saat pembuatan luka terkontaminasi diatasi dengan cara melakukan penekanan langsung pada lokasi perdarahan dengan menggunakan kassa sampai perdarahan berhenti. Kemudian untuk mencegah terjadinya infeksi selama proses penyembuhan, balutan luka diinspeksi dan diganti setiap hari.

