

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *True Experimental* dengan desain penelitian *Pre Test and Post Test Control Group Design* yang mana pengumpulan data dilakukan di awal dan di akhir perlakuan baik pada kelompok eksperimen dan kelompok kontrol. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan hewan coba Tikus Putih Galur Wistar untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak jahe emprit secara topikal dalam mempercepat masa eritema pada fase inflamasi luka terkontaminasi. Pembagian kelompok menjadi kelompok kontrol dan kelompok eksperimental dilakukan dengan menggunakan teknik acak atau *simple random sampling*. Dalam penelitian ini, setiap kelompok perlakuan tikus mendapat perlakuan konsentrasi ekstrak jahe emprit yang berbeda, yaitu 5%, 20% dan 35%. Sedangkan kelompok kontrol dirawat dengan *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, berdasarkan hasil perhitungan di atas jumlah sampel minimal yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sebanyak 5 ekor tikus pada setiap kelompok. Namun, untuk menghindari kejadian yang tidak diinginkan bila sewaktu-waktu ada sampel yang mati atau tidak masuk dalam kriteria inklusi, maka peneliti menggunakan sampel sebanyak 6 ekor untuk tiap kelompok perlakuan, 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 Bebas (Variabel *Independent*)

Dalam penelitian ini, variabel *independent*-nya adalah perawatan luka terkontaminasi dengan menggunakan ekstrak jahe emprit secara topikal dengan konsentrasi masing-masing 5%, 20%, 35%, 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 Tergantung (Variabel *Dependent*)

Dalam penelitian ini, variabel *dependent*-nya adalah percepatan masa eritema pada fase inflamasi luka terkontaminasi. Penilaian percepatan masa eritema dilakukan dengan cara mengukur nilai eritema menggunakan program komputer *corel photo paint x5* dan pengukuran dilakukan hingga eritema menghilang. Lama hari yang dibutuhkan untuk hilangnya eritema tersebut kemudian digunakan sebagai penentu masa eritema.

4.4. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi FKUB pada tanggal 3 Februari tahun 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 antarjenis 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 (\pm 2 bulan) adalah pada umumnya mempunyai nafsu makan yang kuat dan masih dalam taraf pertumbuhan yang optimal, sedangkan kerugiannya adalah 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

Alat dan bahan yang diperlukan dalam pembuatan luka terkontaminasi adalah sebagai berikut:

- a. Pisau bedah (*surgical blade*)
- b. Pinset anatomis 2 buah
- c. Kassa
- d. Sarung tangan bersih
- e. Alat cukur
- f. Alkohol swab/ alkohol 70%
- g. Hypafix/plester

- h. Gunting
- i. Lidokain/agen anestesi lokal lain
- j. Aquades
- k. Spuit 3 mL
- l. Perlak
- m. Bengkok
- n. Penggaris dan Spidol
- o. Jas lab (Gaylene,2000)

4.5.3. Alat dan Bahan Perawatan Luka terkontaminasi

Alat dan bahan yang diperlukan dalam perawatan luka terkontaminasi adalah sebagai berikut:

- 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. *Normal saline* 0,9%
- e. *Povidone iodine* 10%
- 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 untuk Pembuatan Ekstraksi Jahe Emprit

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

Universitas Brawijaya Malang adalah sebagai berikut:

- a. Rimpang jahe emprit (*Zingiber Officinale var Amaramum*)
- b. Ethanol 96% (Ramadhan dan Haries, 2010)
- 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 ethanol
- 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

Alat dan bahan yang diperlukan untuk pemeliharaan dan penimbangan tikus adalah sebagai berikut:

- Kandang/bak tikus
- Penutup kandang dari anyaman kawat
- Botol air untuk minum
- Makanan tikus
- Timbangan sartorius
- Sekam
- Alas tidur
- Nomor kandang

4.5.6. Alat Pengambilan Gambar Eritema

Alat yang diperlukan dalam pengambilan gambar eritema pada luka terkontaminasi adalah sebagai berikut:

- Kamera digital *Sony DSC-W710 16.1 MP*
- Lampu neon 20 watt untuk penerangan (pengambilan gambar dilakukan di ruangan tertutup)
- Penggaris

4.6. Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Parameter	Skala Ukur	Hasil Ukur
1.	Luka Terkontaminasi	Luka insisi sepanjang 2,5 cm	Luka insisi terkontaminasi	-	-

		<p>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 agar terjadi kontaminasi. Untuk memastikan bahwa telah terjadi kolonisasi bakteri pada luka</p>	<p>dengan panjang luka 2,5 cm dan kedalaman sampai area subkutan (0,5 cm) yang ditandai dengan adanya lapisan sel-sel lemak</p>		
--	--	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

		<p>dilakukan uji kultur di Laboratorium 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 terlampir).</p>			
2.	Ekstrak jahe emprit	<p>Bahan jahe emprit yang akan diekstrak diperoleh dari perkebunan Balai Materia Medica, Batu. Kemudian jahe emprit basah dikeringkan di bawah sinar matahari secara</p>	Ekstrak jahe emprit berbentuk cair berwarna kuning kecoklatan	Rasio	Milliliter (ml)

	<p>tidak langsung.</p> <p>Jahe emprit yang telah kering kemudian diblender untuk dibuat bubuk.</p> <p>Bubuk jahe diekstrak dengan prosedur ekstrak dingin menggunakan etanol 96% untuk mendapatkan kandungan oleoresin, minyak atsiri, dan flavonoid dalam jahe yang kemudian digunakan sebagai bahan perawatan luka. Hasil ekstrak diperoleh dalam bentuk cair.</p>		
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

<p>3.</p>	<p>Perawatan luka terkontaminasi menggunakan ekstrak jahe emprit dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu 5%, 20%, 35%</p>	<p>Perawatan pada luka terkontaminasi dengan cara membersihkan luka menggunakan cairan NS 0,9%. Kemudian luka dikeringkan dengan kassa steril dan diberi ekstrak jahe yang telah dicampur dengan vaseline menjadi konsentrasi 5%, 20%, 35%. Ekstrak dioleskan secara topikal sebanyak 50 mg sesuai kelompok perlakuan.</p> <p>Kemudian luka ditutup dengan kassa steril dan</p>	<p>Permukaan luka tertutup sempurna oleh olesan ekstrak jahe emprit dan dibalut kassa steril</p>	<p>Nominal</p>	<p>-</p>
-----------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------	----------

		diplester. Masing masing kelompok dirawat 1x/hari sampai luka sembuh			
4.	Perawatan luka terkontaminasi menggunakan <i>Povidone iodine 10%</i>	Perawatan luka terkontaminasi pada kelompok kontrol dengan membersihkan luka menggunakan cairan NS 0,9%, kemudian luka dikeringkan dengan kassa steril. Setelah kering luka ditetesi dengan <i>Povidone iodine 10%</i> sebanyak 0,5 cc yang diberikan dengan spuit 3 cc. Luka ditutup dengan kassa steril dan diplester.	Permukaan luka tertutup sempurna oleh <i>povidone iodine 10%</i> dan dibalut kassa steril	Nominal	-

		Perawatan luka dilakukan sekali dalam sehari sampai luka sembuh			
5.	Masa eritema	Waktu yang dibutuhkan untuk menghilangkan eritema pada kulit di sekitar luka, yaitu dari hari pertama terjadinya luka sampai eritema pada kulit sekitar luka menghilang.	Terdapat percepatan masa eritema, yaitu kurang dari 8 hari masa eritema secara fisiologis	Rasio	Hari
6.	Penilaian masa eritema	Penilaian masa eritema ditentukan berdasarkan hasil pengukuran warna kemerahan dari hasil foto luka dengan skoring terhadap derajat eritema (analisa	Eritema menghilang lebih cepat dari masa eritema secara fisiologis, yaitu kurang dari 8 hari	Rasio	Hari

		<p>RBG pada gambar) menggunakan <i>corel photo-paint</i> x5. Penilaian dilakukan setiap hari sampai eritema menghilang yang ditandai dengan nilai kemerahan kulit sekitar luka mendekati nilai kemerahan kulit normal. Lama hari yang dibutuhkan untuk hilangnya eritema tersebut kemudian digunakan sebagai penentu masa eritema.</p>			
7.	Kontrol Pre test	Nilai rata-rata warna merah pada kulit subjek	Nilai rata-rata warna merah pada kulit	Rasio	Nilai warna merah

	sebelum dilakukan insisi yang mana digunakan sebagai standar warna kulit normal	subjek	yang diukur melalui program komputer Corel Photo-paint x5 (pixel)
--	---------------------------------------------------------------------------------	--------	-------------------------------------------------------------------

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Pembuatan Ekstrak Jahe

Pembuatan ekstrak rimpang jahe emprit merupakan suatu proses pemisahan senyawa-senyawa dari campuran bahan-bahan lain dengan menggunakan pelarut ethanol 96% dan dibuat dengan alat ekstraktor (Ramadhan dan Haries, 2010). Metode dalam pembuatan ekstrak ini menggunakan metode ekstrak dingin. Metode ekstrak dingin merupakan salah satu cara untuk memisahkan campuran padat dengan cair.

Rimpang jahe emprit yang diekstrak dalam penelitian ini diperoleh dari perkebunan Balai Materia Medica, Batu. Pada Balai Materia Medica, Batu semua jenis tanaman obat telah memiliki sertifikat mengenai kualitas tanaman. Oleh sebab itu, peneliti menggunakan bahan rimpang jahe emprit yang dihasilkan dari perkebunan Balai Materia Medica untuk diuji khasiatnya dalam penelitian ini.

Prosedur pembuatan ekstrak rimpang jahe emprit dalam penelitian 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 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 (Wresdiyati, 2003)
- 2) Timbang sampel kering (bubuk jahe) 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

Pembuatan stok ekstrak jahe emprit dari konsentrasi 100% menjadi konsentrasi 5%, 20%, dan 35% dilakukan dengan menambahkan vaselin yang dihitung menggunakan rumus:

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

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

Keterangan:

N_1 : konsentrasi awal

N_2 : konsentrasi akhir (konsentrasi yang diinginkan)

V_1 : berat awal atau volume awal

V_2 : berat akhir atau volume akhir

Pada penelitian ini banyaknya ekstrak konsentrasi 100% (V_1) yang dibutuhkan untuk dicampur dengan vaselin agar menjadi konsentrasi yang diinginkan adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi 5%

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

$$V_1 \times 100\% = 3000 \text{ mg} \times 5\%$$

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

Berdasarkan hasil perhitungan di atas untuk mendapatkan 3000 mg ekstrak jahe konsentrasi 5%, dibutuhkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 150 mg untuk dicampur dengan vaseline 2.850 mg.

2. Konsentrasi 20%

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

$$V_1 \times 100\% = 3000 \text{ mg} \times 20\%$$

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

Untuk mendapatkan 3000 mg ekstrak jahe konsentrasi 20%, dibutuhkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 600 mg untuk dicampur dengan vaseline 2400 mg.

3. Konsentrasi 35%

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

$$V_1 \times 100\% = 3000 \text{ mg} \times 35\%$$

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

Untuk mendapatkan 3000 mg ekstrak jahe konsentrasi 35%, dibutuhkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 1.050 mg untuk dicampur dengan vaseline 1950 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 konsentrasi masing-masing 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 penyayatan 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 sekali dalam sehari. Tujuan perawatan luka hanya dilakukan sekali dalam sehari, yaitu untuk mencegah terjadinya kerusakan kembali jaringan yang telah terbentuk akibat pelepasan balutan secara berulang. Prosedur perawatan luka dalam penelitian ini sesuai dengan SOP rawat luka dan 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%, 35%
- 6) Menempatkan perlak di bawah tikus
- 7) Mengatur posisi tikus nyaman mungkin
- 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 sebanyak 50 mg pada kelompok perlakuan sesuai konsentrasi yang telah ditentukan pada tiap kelompok (konsentrasi 5%, 20%, 35%) dan kelompok kontrol diberi *povidone iodine 10%* sebanyak 0,5 cc
- 18) Menutup luka dengan kassa steril dan plester
- 19) Melepaskan sarung tangan, merapikan alat, dan mencuci tangan

4.7.6. Teknik Sterilisasi

Teknik sterilisasi yang digunakan untuk alat-alat logam pada penelitian ini, yaitu dengan cara menggunakan teknik panas kering yaitu udara panas oven listrik (autoklaf) pada suhu 160-170°C lebih dari satu jam untuk membunuh mikroorganisme yang mengkontaminasi alat. Sedangkan untuk sterilisasi non logam seperti kassa, sarung tangan, dan lainnya menggunakan autoklaf dengan teknik ionisasi.

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. Air minum tikus adalah air aqua/air matang.

4) Penimbangan tikus

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

4.7.8. Prosedur Pengambilan Gambar Eritema

Pengambilan gambar eritema luka tikus menggunakan kamera digital *SONY DSC-W710 16.1 MP* pada ruangan tertutup dengan pencahayaan menggunakan lampu neon 20 watt. Kamera dinyalakan dengan menekan tombol on, kemudian atur kamera menggunakan sistem makro. Ambil jarak ± 10 cm dari tikus kemudian fokuskan. Ambil foto atau gambar eritema pada tikus. Apabila pengambilan gambar telah selesai, matikan kamera.

4.7.9. Prosedur Penilaian Masa Eritema

Masa eritema ditentukan berdasarkan hasil pengukuran warna kemerahan dari hasil foto luka menggunakan program komputer *corel photo-paint x5*. Penilaian warna kemerahan (eritema) ini dilakukan setelah perawatan luka dan hanya dilakukan sekali setiap hari sampai nilai kemerahan kulit di sekitar luka menghilang. Hilangnya eritema ditandai dengan warna kemerahan kulit mendekati nilai kemerahan kulit normal. Lama hari yang dibutuhkan untuk hilangnya eritema tersebut kemudian digunakan sebagai penentu masa eritema.

Pada penelitian ini standar warna kemerahan kulit normal tikus ditentukan berdasarkan hasil penilaian foto kulit tikus sebelum dilakukan insisi pada saat kontrol *pre test* dengan *corel photo-paint x5*. Berikut adalah langkah-langkah penggunaan *corel photopaint x5*:

- a. Klik menu start kemudian pilih *corel photopaint suite graphic x5*
- b. Pilih *file* dan masukkan hasil fotonya
- c. Blok area yang akan dilihat intensitas warnanya dengan menggunakan *magnetic mask tool*

- d. Pilih *image* dan pilih *histogram*, jadikan *red channel*
- e. Angka mean akan keluar sehingga didapatkan data berupa mean dari intensitas warna.

4.8. Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan teknik observasi eksperimen yang berlangsung selama 8 hari untuk mengobservasi masa eritema. Masa eritema ditentukan berdasarkan hasil penilaian eritema yang dilakukan setiap hari hingga eritema menghilang. Pengumpulan data eritema dilakukan pada saat perawatan luka. Pengumpulan data eritema menggunakan uji klinis terbuka, dimana peneliti langsung mengamati hasil penelitian. Kemudian, untuk menilai eritema secara objektif dilakukan pengambilan foto eritema luka menggunakan kamera digital *SONY DSC-W710 16.1 MP*. Selanjutnya, dari hasil foto eritema tersebut dilakukan penilaian eritema menggunakan program *corel photo-paint x5* sampai warna eritema menghilang. Waktu yang dibutuhkan untuk menghilangkan eritema tersebut kemudian digunakan sebagai penentu masa eritema.

4.9. Analisa Data

Dalam membandingkan rata-rata masa eritema pada fase inflamasi luka terkontaminasi pada masing-masing kelompok, peneliti akan menganalisis dengan menggunakan metode statistik *One Way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) menggunakan software *SPSS Statistics 18 for Windows*. 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*, antara lain: data harus mempunyai sebaran/distribusi normal, memiliki ragam yang homogen, skala data interval atau rasio, percobaan bersifat random dan bebas (Dahlan, 2009).

Untuk mengetahui pengujian apakah data sampel penelitian merupakan jenis distribusi normal, maka digunakan pengujian *Shapiro-Wilk* terhadap masing-masing variabel. Jika angka signifikansi *p value* > 0,05, maka data berdistribusi normal. Sebaliknya jika angka signifikansi *p value* < 0,05, maka data tidak berdistribusi normal (Sabri, 2006).

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 *Turkey HSD* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki rata-rata sama atau berbeda secara bermakna dalam mempercepat masa inflamasi eritema 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 mempercepat masa eritema pada fase inflamasi, 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.

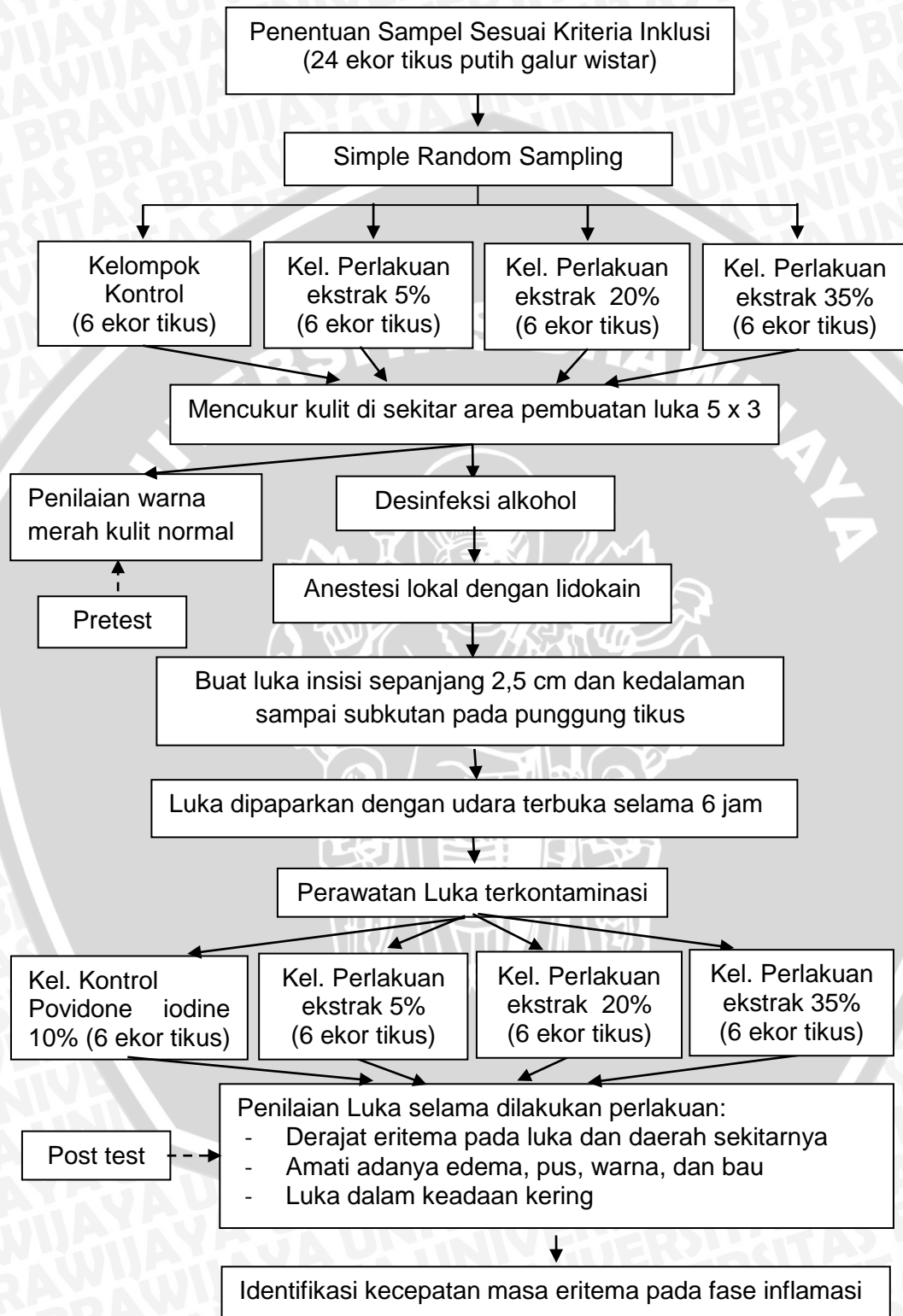
3) *Refinement*

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. Selama proses penyembuhan luka, risiko infeksi dapat terjadi. Oleh sebab itu, untuk mencegah terjadinya infeksi selama proses penyembuhan, balutan luka harus diinspeksi dan diganti setiap hari.



4.11. Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian