

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* dengan metode *Randomized Posttest Only Control group design*. Penelitian ini menggunakan kelompok penelitian yang semuanya dipilih secara acak. Pada penelitian ini tidak dilakukan pra test, dan pengukuran hanya dilakukan sekali yaitu setelah pemberian perlakuan selesai (Nursalam, 2003).

4.2 Sampel Penelitian

4.2.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan adalah sampel yang memenuhi kriteria inklusi, dan akan dikeluarkan jika tidak memenuhi kriteria inklusi

1. Kriteria Inklusi :

- a. Umur tikus 2 – 3 bulan (usia pertumbuhan) karena proliferasi sel pada usia pertumbuhan ini cepat sehingga mendukung penyembuhan luka.
- b. Berat badan tikus antara 150-200 gram.
- c. Jenis kelamin jantan, untuk menghindari kerancuan hasil penelitian yang dikarenakan pengaruh hormon estrogen dan progesterone yang dapat meningkatkan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka dan mempercepat proses inflamasi (Routley *et al*, 2009).

- d. Tikus tidak pernah mendapatkan perlakuan sebelumnya
- e. Kondisi sehat ditandai dengan pergerakan aktif; bulu bersih; mata jernih; tidak ada luka, tidak keluar lendir, nanah, atau darah dari mata atau telinga, dan tidak mencret

4.2.2 Homogenitas Sampel

Untuk menjaga *homogenitas* sampel, maka *variable* yang dikendalikan adalah sebagai berikut:

- a. Induksi luka bakar derajat IIB pada hewan coba dilakukan pada waktu yang sama.
- b. Perawatan luka dilakukan dengan cara dan waktu yang sama.
- c. Luas luka bakar sama yaitu $\pm 4 \text{ cm}^2$.
- d. Makanan tikus sama yaitu makanan yang disediakan oleh laboratorium farmakologi setiap hari 12-20 gram/hari.
- e. Minuman tikus sama yaitu minuman dalam botol sebanyak 20-45 ml/hari.
- f. Bentuk kandang dibuat sama, segi empat dengan luas $\pm 900 \text{ cm}^2$, dilapisi sekam yang diganti setiap hari.

4.3 Teknik Pengambilan Sampel dan Penentuan Jumlah Sampel

Teknik pengambilan sampel adalah *simple random sampling* (Nursalam, 2003). Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok yaitu; 1 kelompok dengan perawatan SSD, 1 kelompok dengan perawatan larutan NaCl 0,9%, 1 kelompok

dengan perawatan vaselin, dan 3 kelompok lainnya dengan perawatan menggunakan salep ekstrak daun dewa dengan berbagai konsentrasi. Perhitungan jumlah sampel pada setiap kelompok menggunakan rumus *Federer* sebagai berikut:

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

Keterangan:

r = jumlah sampel tiap kelompok

t = jumlah perlakuan

15 = sebagai jumlah sampel minimal yang dibutuhkan dalam penelitian *true-experiment*.

Dalam penelitian ini diketahui 6 perlakuan, maka (t) = 6, sehingga didapat nilai

(r) sebagai berikut:

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

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 20/5$$

$$r \geq 4$$

Jadi jumlah minimal sampel yang dibutuhkan setiap kelompok adalah 4, sehingga total sampel yang dibutuhkan dalam penelitian adalah 4 tikus pada setiap perlakuan dengan total yaitu 24 tikus.

4.4. Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas (Variabel *Independent*)

- Perawatan luka bakar derajat IIB menggunakan ekstrak daun dewa (*Gynura segetum*) dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%.
- Perawatan luka bakar derajat IIB yang menggunakan *silver sulfadiazine*.
- Perawatan luka bakar derajat IIB menggunakan larutan NaCl 0,9%.
- Perawatan luka bakar derajat IIB menggunakan *Vaseline*.

4.4.2 Variabel Terikat (Variabel *Dependent*)

Persentase reepitelisasi pada luka bakar derajat IIB

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang 1 bulan.

4.6 Bahan, Alat atau Instrumen Penelitian

4.6.1 Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

1. Alat dan Bahan Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

NO	Nama Alat	Jumlah
1.	Pisau cukur dan gagangnyanya	1 buah
2.	Besi ukuran 2x2 cm	1 buah
3.	Korentang	1 buah
4.	Kassa steril	Secukupnya
5.	Spiritus	Secukupnya
6.	Pemantik api	1 buah
7.	Alkohol 70%	Secukupnya
8.	Larutan NaCl 0,9%	Secukupnya
9.	Perlak	1 buah
10.	Sarung tangan bersih	1 pasang
11.	Jas lab	1 buah
12.	Obat anestesi (ketamine)	1 ampul
13.	Bengkok	1 buah

14.	S spuit 3 cc	1 buah
15.	Pinset anatomis	1 buah
16.	Penggaris	1 buah
17.	Arloji	1 buah

Tabel 4.1 Alat dan bahan pembuatan luka bakar derajat IIB

2. Prosedur Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

Prosedur tindakan yang harus dilakukan untuk membuat luka bakar derajat IIB adalah sebagai berikut:

1. Ditentukan area yang akan dibuat luka yaitu punggung kanan atas tikus.
2. Bersihkan bulu dan cukur area tersebut sampai jarak 3 cm dari area yang akan dibuat luka bakar.
3. Pasang perlak/alas di bawah tubuh tikus.
4. Buka bak instrument steril.
5. Cuci tangan dan pakai sarung tangan bersih.
6. Desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar dengan alcohol 70%, tunggu sampai kering.
7. Lakukan anastesi menggunakan ketamine pada area kulit yang akan di buat luka bakar dengan dosis ketamin 60mg/kg (Fatemi, 2014).
8. Panaskan plat besi dengan luas 4cm² dengan ketebalan 2mm 8 menit secara konstan dengan menggunakan api bunsen yang diatur tinggi sumbu 1 cm.

9. Tempelkan plat besi pada punggung tikus selama 6 detik.
10. Angkat besi kemudian dikompres dengan kassa yang telah dicelupkan kedalam larutan NaCl 0,9%. Sekitar 30 detik setelahnya (Taji, 2014).
11. Tutup luka dengan kassa dan ikatkan ke tubuh tikus.
12. Lepas sarung tangan
13. Rapihan alat dan cuci tangan

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



4.6.2 Perawatan Luka Bakar Derajat IIB

1. Alat dan Bahan Perawatan Luka Bakar Derajat IIB

No.	Nama Alat	Jumlah
1.	Sarung tangan steril	1 pasang
2.	Sarung tangan bersih	1 pasang
3.	Bak instrument kecil	1 buah
4.	Pinset anatomis	2 buah
5.	Kom steril	2 buah
6.	Kasa steril	24 buah
7.	Kasa + Larutan NaCl 0,9%	Secukupnya
8.	Bengkok	1 buah
9.	Perlak/alas	3 lembar
10.	Plester	1 roll
11.	Gunting plester	1 buah
12.	Larutan NaCl 0,9%	1 botol
13.	Ekstrak daun dewa	Secukupnya
14.	<i>Silver sulfadiazine</i> (SSD)	Secukupnya
15.	<i>Vaseline</i>	Secukupnya
16.	Korentang dan tempatnya	1 buah
17.	Tas plastic pembuang sampah	1 buah

Tabel 4.2 Alat dan bahan perawatan luka bakar derajat IIB

2. Prosedur Perawatan Luka Bakar Derajat IIB

Pada perawatan luka dibutuhkan minimal 2 orang (1 sebagai perawat luka dan 1 sebagai asisten). Berikut prosedur perawatan luka bakar menggunakan SSD dan gel ekstrak daun dewa (Maslahatun. 2014).

a. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB Dengan Larutan NaCl 0,9%

- 1) Cuci tangan.
- 2) Tempatkan perlak dibawah tikus yang akan dirawat.
- 3) Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan perawatan.
- 4) Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
- 5) Buka balutan.
- 6) Pakai sarung tangan steril.
- 7) Irigasi luka dengan larutan NaCl 0,9% yang dimasukkan ke dalam spuit 3cc.
- 8) Basahi kasa dengan larutan NaCl 0,9% dan peras. Kemudian bersihkan luka dan keringkan.
- 9) Tutup semua area luka bakar dengan kasa steril yang telah dibasahi larutan NaCl 0,9%.
- 10) Bereskan peralatan.
- 11) Lepas sarung tangan steril dan buang plastik.
- 12) Cuci tangan.

b. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan *silver sulfadiazine* (SSD)

- 1) Cuci tangan
- 2) Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
- 3) Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
- 4) Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
- 5) Pakai sarung tangan bersih.
- 6) Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
- 7) Bersihkan luka dengan larutan NaCl 0,9%.
- 8) Oleskan SSD sebanyak 50 mg pada luka.
- 9) Tutup dengan kasa steril dan plester.
- 10) Bereskan peralatan.
- 11) Lepas sarung tangan buang plastic dan cuci tangan.

c. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan *Vaseline*

- 1) Cuci tangan
- 2) Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
- 3) Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
- 4) Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
- 5) Pakai sarung tangan bersih.
- 6) Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
- 7) Bersihkan luka dengan larutan NaCl 0,9%.

- 8) Oleskan *Vaseline* sebanyak 50 mg pada luka.
- 9) Tutup dengan kasa steril dan plester.
- 10) Bereskan peralatan.
- 11) Lepas sarung tangan buang plastic dan cuci tangan.

d. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan Ekstrak Daun Dewa

- 1) Cuci tangan
- 2) Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
- 3) Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
- 4) Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
- 5) Pakai sarung tangan bersih.
- 6) Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
- 7) Bersihkan luka dengan larutan NaCl 0,9%.
- 8) Oleskan ekstrak daun dewa sebanyak 50 mg pada masing-masing perlakuan di area luka.
- 9) Tutup dengan kasa steril dan plester.
- 10) Bereskan peralatan.
- 11) Lepas sarung tangan buang plastik dan cuci tangan.

4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Dewa (*Gynura segetum*)

1. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Dewa

No	Nama Alat	Jumlah
1.	Oven	1 buah
2.	Timbangan	1 buah
3.	Gelas <i>erlenmeyer</i>	2 buah
4.	Corong gelas	1 buah
5.	Kertas saring	1 buah
6.	Labu <i>evaporator</i>	1 buah
7.	Labu penampung etanol	1 buah
8.	<i>Evaporator</i>	1 buah
9.	Pendingin spiral	1 buah
10.	Selang water pump	1 buah
11.	<i>Water bath</i>	Secukupnya
12.	<i>Vacum pump</i>	1 buah
13.	Daun Dewa	Secukupnya (sesuai konsentrasi)
14.	Etanol 96%	Secukupnya (sesuai konsentrasi)
15.	<i>Aquades</i>	Secukupnya (sesuai konsentrasi)
16.	Botol hasil ekstrak	Secukupnya

Tabel 4.3 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Daun Dewa

2. Prosedur Pembuatan Ekstrak Daun Dewa

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani. Semua atau hampir semua pelarut tersebut kemudian diuapkan (Depkes, 2000). Proses ekstraksi daun dewa dibagi menjadi 3 tahap, yaitu sebagai berikut:

a. Proses Pengeringan

Sebelum dikeringkan, cuci bersih daun dewa yang masih basah, potong kecil-kecil, kemudian masukkan oven dengan suhu 40-60°C atau dengan panas matahari hingga kering (bebas kandungan air).

b. Proses Ekstraksi

- Daun dewa yang telah dikeringkan, kemudian diblender sampai halus.
- Timbang sebanyak 100 gram sampel kering.
- Masukkan 100 gram sampel bubuk halus daun dewa ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
- Bubuk halus daun dewa tersebut kemudian direndam dengan etanol 900 ml.
- Kocok sampai benar benar tercampur (± 30 menit).
- Diamkan selama 1 malam sampai benar benar mengendap.
- Ambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur (bisa dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring).

- Lakukan proses prendaman ini sampai 3 kali.

c. Proses Evaporasi

- Masukkan daun dewa yang telah diekstrak ke dalam labu evaporasi 1 liter.
- Pasang labu evaporasi pada evaporator.
- Isi *water bath* dengan air sampai penuh
- Pasang semua rangkaian alat termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sesuai dengan titik didih etanol). Sambungkan dengan aliran listrik.
- Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi.
- Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu panampung (1,5-2 jam untuk 1 labu) ±900ml.
- Hasil yang diperoleh kira-kira $\frac{1}{4}$ dari bahan alam kering.
- Masukkan hasil ekstraksi ke dalam botol plastic / kaca.
- Kemudian simpan dalam *freezer* (Laboratorium Farmakologi FKUB, 2013)

4.6.4 Penghitungan Campuran Ekstrak Daun Dewa dengan Vaseline

Hasil ekstrak daun dewa dicampur dengan Vaseline berdasarkan luas luka yang akan diberikan ($2 \times 2 \text{ cm}^2$) dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

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

Keterangan:

L : Konsentrasi Larutan (%)

a : Massa zat terlarut (mg)

b : Massa zat pelarut (mg). Massa larutan ditetapkan dengan jumlah 50mg sesuai dengan ukuran luka $2 \times 2 \text{ cm}^2$ (Negara.2015).

Penelitian ini menggunakan 3 dosis ekstrak daun dewa yaitu 2,5%, 5%, dan 10% sehingga jika dimasukkan ke dalam rumus penambahan Vaseline didapatkan hasil sebagai berikut:

a) Konsentrasi 2,5%

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

$$2,5\% = \frac{a}{50} \times 100$$

$$a = \frac{2,5 \times 50}{100}$$

$$a = 1,25 \text{ mg/ hari}$$

Total : 4 tikus x 14hari x 1,25 mg = 70 mg Ekstrak daun dewa

4 tikus x 14 hari x (50-1,25) mg = 2730 mg Vaseline

Sehingga dalam ekstrak daun dewa dengan konsentrasi 2,5% terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 1,25 mg dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 48,75 mg untuk setiap sampel. Dalam ekstrak daun dewa konsentrasi 2,5% terdapat 70 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan 2730 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 2,5%.

b) Konsentrasi 5%

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

$$5\% = \frac{a}{50} \times 100\%$$

$$a = \frac{5 \times 50}{100}$$

$$a = 2,5 \text{ mg/ hari}$$

Total : 4 tikus x 14 hari x 2,5 mg = 140 mg Ekstrak daun dewa

4 tikus x 14 hari x (50-2,5) mg = 2660 mg Vaseline

Sehingga dalam ekstrak daun dewa dengan konsentrasi 5% terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 2,5 mg dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 47,5 mg untuk setiap sampel. Dalam ekstrak daun dewa konsentrasi 5% terdapat 140 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan 2660 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 5%.

c) Konsentrasi 10%

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

$$10\% = \frac{a}{50} \times 100\%$$

$$a = \frac{10 \times 50}{100}$$

$$a = 5 \text{ mg/hari}$$

Total : 4 tikus x 14hari x 5 mg = 280 mg Ekstrak daun dewa

4 tikus x 14 hari x (50-5) mg = 2520 mg Vaseline

Sehingga dalam ekstrak daun dewa dengan konsentrasi 10% terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 5 mg dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 45 mg untuk setiap sampel. Dalam ekstrak daun dewa konsentrasi 10% terdapat 280 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan 2520 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 10%.

4.7 Teknik Sterilisasi

4.7.1 Alat Dan Bahan Sterilisasi

Bahan dan alat yang digunakan dalam teknik sterilisasi adalah autoklaf dan korentang.

4.7.2 Prosedur Sterilisasi

Metode sterilisasi peralatan perawatan luka terhadap alat-alat logam menggunakan *autoklaf* elektrik (UV) dengan timer otomatis. Prosedur setrilisasinya yaitu mesin autoklaf dihidupkan, masukkan alat yang sudah dikeringkan dan bungkus dengan kain, lalu putar tombol *timer* pada angka 30 menit. Jika tombol *timer* sudah menunjukkan angka nol maka proses sterilisasi selesai. Setelah itu, alat-alat yang sudah disterilisasikan dikeluarkan dengan menggunakan korentang. Sedangkan untuk sterilisasi peralatan non logam (misalnya kasa, sarung tangan, dan lain-lain) menggunakan teknik panas kering yaitu udara panas oleh oven listrik dengan menggunakan *menmert* pada suhu 160-170°C selama ≥ 1 jam (Kusumawati, 2010).

4.8 Pemeliharaan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

4.8.1 Alat Pemeliharaan Tikus

Alat dan bahan pemeliharaan tikus adalah kandang tikus, penutup kandang dari anyaman kawat, botol air minum, makanan tikus, sekam dan alas tidur tikus.

4.8.2 Cara Pemeliharaan Tikus

1. Sebelum dan Selama Penelitian

Sebelum diinduksi luka bakar, tikus diadaptasikan dahulu di tempat penelitian selama 1 minggu. Masing – masing tikus ditempatkan pada kandang yang berbeda. Kandang tikus harus cukup kuat (tahan gigitan), dan mudah dibersihkan serta dilengkapi dengan penutup kandang dari anyaman kawat. Alas tidur tikus diganti setiap hari.

Pemberian makan dan minum pada tikus sebelum dan selama penelitian dilakukan setiap hari. Untuk menghindari kesalahan pada penelitian maka setiap kandang dan ekor tikus diberi tanda.

2. Setelah Penelitian

Setelah penelitian tikus dikorbankan pada hari ke 14 dengan inhalasi ether kloroform, dan dipastikan tikus tidak lagi bernafas dan bergerak. Setelah itu dilakukan pengambilan jaringan dengan mengekisi jaringan luka dengan pisau bedah hingga mencapai batas lapisan otot 5-10mm batas kulit normal. Lalu jaringan direndam dalam larutan fiksasi formalin 10% yang sebelumnya dibungkus dengan kertas saring. Kemudian dimasukkan ke dalam larutan etanol 70% selama 24 jam. Tikus yang sudah mati dilakukan tindakan aseptik dengan alkohol 70% kemudian dilakukan penguburan.

4.9 Pembuatan Preparat Jaringan Luka

1. Alat dan Bahan Eksisi Jaringan dan Pembuatan Preparat

No.	Nama Alat	Jumlah
1.	Papan bedah	1 buah
2.	Pisau bedah	1 buah
3.	Pinset	2 buah
4.	Mikrotom	1 buah
5.	Beaker glass 250 mL	Secukupnya
6.	Kuas	1 buah
7.	Objek glass	Secukupnya
8.	Inkubator	1 buah
9.	Hot plate 38-40°C	1 buah
10.	Wadah larutan fiksatif	1 buah
11.	Larutan xitol	Secukupnya
12.	Parafin blok	Secukupnya
13.	Etanol, air	Secukupnya
14.	Air hangat 38-40°C	Secukupnya

Tabel 4.4 Alat Eksisi Jaringan dan Pembuatan Preparat

2. Prosedur Pembuatan Preparat

- a. Tikus dikorbankan pada hari ke 14
- b. Jaringan luka mencapai batas lapisan otot dieksisi menggunakan pisau bedah 5-10 mm batas kulit normal.
- c. Jaringan direndam dalam larutan fiksasi formalin 10% yang sebelumnya dibungkus dengan kertas saring lalu dimasukkan kedalam larutan etanol 70% selama 24 jam.
- d. Memindahkan jaringan tersebut ke dalam larutan etanol 60% selama 2 jam; larutan etanol 90% selama 20 menit; dan larutan etanol absolut selama 20 menit, dengan 3 kali perlakuan.
- e. Memindahkan jaringan luka pada larutan xitol 1 dan 2 masing-masing selama 20 menit. Dilanjutkan pada larutan xitol 3 pada suhu 60-63°C selama 30 menit.
- f. Mencilupkan jaringan luka pada paraffin cair yang telah dituang ke dalam wadah.
- g. Menunggu sampai memadai dimana jaringan luka berada dalam blok paraffin (Sumber : Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2013).

4.9.1 Pewarnaan Hematoksilin eosin

1. Alat dan Bahan Pewarnaan Hematoksilin eosin

No.	Nama Alat	Jumlah
1.	Hematoksilin	Sesuai kebutuhan
2.	Eosin	Sesuai kebutuhan
3.	Preparat jaringan periartikular	Sesuai kebutuhan
4.	Alcohol 1%	Sesuai kebutuhan
5.	Cover glass	Sesuai kebutuhan
6.	Pipet	Sesuai kebutuhan

Tabel 4.5 Alat dan Bahan Pewarnaan Hematoksilin eosin

2. Prosedur Pewarnaan Hematoksilin eosin

- a. Masukkan specimen kedalam hematoksilin selama 5 menit dan dibilas dengan air.
- b. Masukkan kedalam alcohol 1% selama beberapa detik dan dibilas dengan air kembali.
- c. Masukkan kedalam eosin selama 5 menit (Laboratorium Patologi Anatomi FKUB, 2013).

4.10 Definisi Operasional

No.	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Variabel Independen: Ekstrak Daun Dewa (<i>Gynura Segetum</i>)	Ekstrak daun dewa : Serbuk daun dewa didapatkan dari Materia Medika Batu. Serbuk daun dewa menjadi ekstrak melalui prosedur ekstraksi maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak daun dewa dibuat dalam bentuk sediaan salep dengan cara dicampurkan dengan vaseline, kemudian dibagi menjadi tiga konsentrasi yaitu 2,5%, 5%, dan 10%.	Mg	Rasio
2.	Variabel Independen: Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan Ekstrak Daun Dewa	Proses membersihkan area cedera karena termal terlebih dahulu dengan NaCl 0,9% lalu diberi ekstrak daun dewa pada masing-masing perlakuan dan ditutup dengan menggunakan		

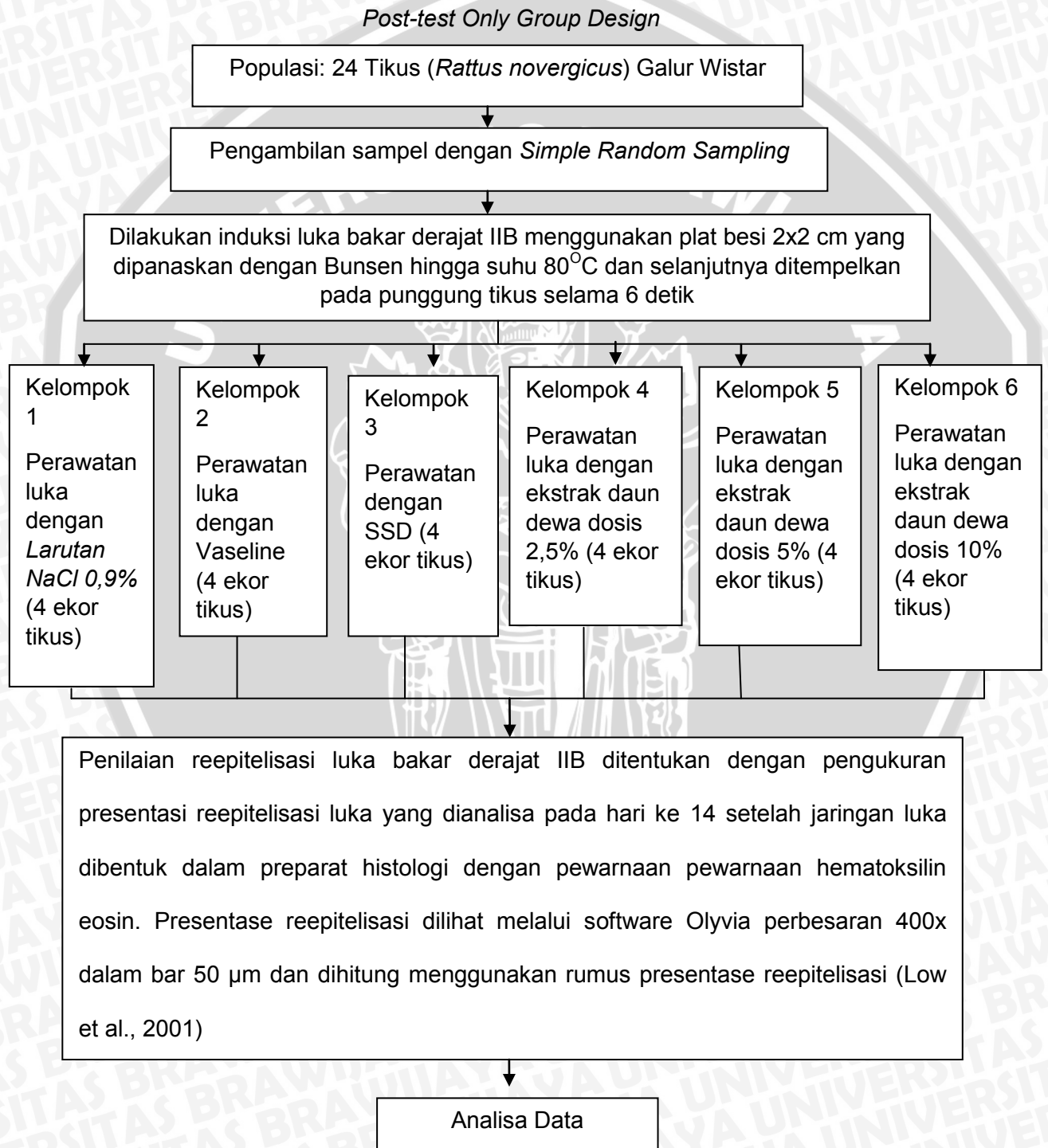
	(<i>Gynura Segetum</i>)	balutan kassa steril setelah itu diplester. Balutan dibuka pada hari berikutnya (24 jam) untuk dilakukan perawatan luka kembali.		
3	Variabel Independen: Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan NaCl 0,9%	Perawatan luka bakar derajat IIB dengan normal salin (NaCl 0,9%) dengan cara luka dibersihkan dengan normal salin lalu luka ditutup dengan kassa steril.		
4.	Variabel Independen: Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan Vaseline	Perawatan luka bakar derajat IIB dengan <i>Vaseline</i> dengan cara luka dibersihkan terlebih dahulu dengan Larutan NaCl 0,9% kemudian diolesi <i>Vaseline</i> dan ditutup dengan kassa steril.		
5.	Variabel Independen: Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan <i>Silver Sulfadiazine</i> (SSD)	Perawatan luka bakar derajat IIB dengan silver sulfadiazine (SSD) dengan cara luka dibersihkan terlebih dahulu dengan Larutan NaCl 0,9% kemudian diolesi SSD dan ditutup dengan kassa steril.		

6.	Variabel Dependen: Luka Bakar Derajat IIB	Luka bakar derajat IIB dibuat dengan memanaskan plat besi dengan ketebalan 2mm dipanaskan selama 8 menit lalu ditempelkan pada punggung tikus selama 6 detik.	Cm ²	Rasio
7.	Variabel Dependent: Persentase Reepitelisasi	Pengukuran reepitelisasi luka dilakukan dengan menggunakan rumus % of reepithelization dengan menggunakan software olyvia perbesaran 400x dalam bar 50 µm (Low et al., 2001). Untuk mengetahui persentase reepitelisasi maka dilakukan pengukuran panjang luka yang sudah terjadi reepitelisasi dan panjang luka keseluruhan dengan mengukur panjang luka epitel yang terbentuk dari jarak folikel rambut yang terdekat dengan luka (Jeschke et al., 2005)	%	Rasio

Tabel 4.6 Definisi Operasional

4.11 Prosedur Penelitian atau Pengumpulan Data

4.11.1 Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Alur Kerja Penelitian

4.11.2 Pengumpulan Data

1. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan teknik observasi eksperimen, yang mana sampel dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan 3 kelompok control. Kemudian dilakukan perawatan luka selama 13 hari dan pada hari ke-14 tikus dikorbankan kemudian diambil sampel untuk pemeriksaan mikroskopis. Pemeriksaan epitel menggunakan mikroskop *Olympus* yang dikonversi ke *software Olyvia*.

2. Pengukuran Reepitelisasi Luka

Penilaian reepitelisasi luka bakar derajat IIB ditentukan dengan penggunaan pengukuran persentase reepitelisasi yang telah terjadi dengan menggunakan rumus berikut (Low *et al.*, 2001);

$$\% \text{ Re - epitelisasi: } \frac{\text{panjang luka yang ditutupi epitel}}{\text{panjang luka keseluruhan}} \times 100\%$$

Cara mengukur panjang reepitelasi adalah dengan mengukur panjang epitel yang terbentuk dari tepi luka dihitung dari jarak folikel rambut yang terdekat dengan luka (Jesche *et al.*, 2005). Pencitraan untuk perhitungan tersebut menggunakan *software Olyvia* perbesaran 400x dalam bar 50 μm .

4.12 Analisa Data

4.12.1 Uji Normalitas Dan Homogenitas

Sebelum melakukan analisis *One Way ANOVA* dengan statistic *SPSS version 16.0 for windows*, maka nilai presentase reepitelisasi luka bakar derajat IIB pada setiap kelompok dianalisis dengan uji normalitas dan homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji Shapiro-Wilk karena sampel kecil (kurang dari 50) dengan nilai $\alpha=0,05$. Jika data menunjukkan *p value* $> 0,05$ maka data berdistribusi normal (Dahlan, 2009). Kemudian pada uji homogenitas menggunakan uji *Levene test* dengan $\alpha=0,05$, jika data menunjukkan *p value* $> 0,05$ maka datanya homogen, sehingga dapat dilakukan uji parametric lanjut menggunakan *One Way Anova*, jika datanya tidak normal dan tidak homogen yaitu menunjukkan nilai *p value* $< 0,05$ pada uji Shapiro-Wilk dan uji *Levene* maka digunakan uji *Kruskall-Wallis* (Dahlan, 2009).

4.12.2 Uji *One way ANOVA*

Uji *One Way ANOVA* merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui perbedaan antara kelompok uji coba. Jika signifikansi *p value* $< \alpha$ (0,05), maka terdapat perbedaan yang signifikan pada minimal satu pasang kelompok terhadap reepitelisasi luka bakar derajat IIB (Dahlan, 2009).

4.12.3 Uji Perbandingan Berganda (*Post hoc*)

Jika setelah uji *One Way ANOVA* didapatkan hasil berbeda maka dilanjutkan dengan uji *Post hoc* yang digunakan untuk mengetahui kelompok perlakuan mana yang signifikan antara kelompok. Nilai signifikansi antar kelompok yang paling kecil dengan nilai $p\text{ value} < \alpha (0,05)$ (Dahlan, 2009).

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

