BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian kuantitatif yang telah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada tanggal 04 Maret 2016. Penelitian dilakukan dengan metode *True Experimental Laboratory* dengan metode *Randomize Post-Test Only Control Group Design* (Nursalam, 2008). Metode ini digunakan untuk mengetahui efek perawatan menggunakan salep ekstrak etanol daun dewa (*Gynura Segetum*) terhadap peningkatan prosentase kontraksi luka bakar derajat IIB pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*). Pada rancangan penelitian terdapat 1 kelompok yang dirawat dengan *Silver Sulfadiazine* (SSD), 1 kelompok yang dirawat dengan Vaseline dan 1 kelompok yang dirawat dengan *Normal Saline* sedangkan 3 kelompok lainnya dirawat dengan salep ekstrak daun dewa (*Gynura Segetum*) dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Rattus Norvegicus (tikus putih) *galur wistar* merupakan populasi yang digunakan dalam penelitian ini. Tikus putih cocok digunakan dalam penelitian karena sifatnya yang telah diketahui yaitu, relatif sehat dan mudah dipelihara. Tikus ini memiliki beberapa persamaan dan respon

biologis yang sama dengan manusia. Selain itu, tikus ini juga memiliki daya tahan terhadap penyakit yang lebih baik dibanding galur lainnya (Depkes, 2011; Harkness & Wagner, 2003).

4.2.2 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) yang masuk dalam kriteria inklusi. Hal ini bertujuan untuk menghomogenkan sampel dan menghindari faktor-faktor yang dapat mempengaruhi proses penyembuhan luka. **Kriteria inklusi** adalah sebagai berikut :

a. Umur tikus 2 – 3 bulan (usia pertumbuhan).
b. Berat badan tikus antara 150-200 gram.
c. Jenis kelamin jantan, untuk menghindari kerancuan hasil penelitian dikarenakan pengaruh hormone estrogen dan progesterone yang dapat menurunkan sekresi TNF-α dan meningkatkan jumlah pembuluh darah pada penyembuhan luka (Claire & Gillian, 2008).
d. Kondisi sehat ditandai dengan pergerakan aktif, bulu bersih, dan mata jernih.
e. Tidak mendapat pengobatan sebelumnya.

Kriteria eksklusi adalah sebagai berikut :

a. Tikus sakit selama penelitian
b. Tikus mati selama penelitian

Homogenitas dengan menambahkan variabel kendali, yaitu :

a. Perlakuan dilakukan dengan cara dan waktu yang sama.

b. Makanan tikus sama yaitu makanan yang disediakan oleh laboratorium farmakologi setiap hari 12-20 gram/hari.

c. Minuman tikus sama yaitu minuman dalam botol sebanyak 20-45 ml/hari.

d. Bentuk kandang dibuat sama, segi empat dengan luas ± 900 cm^2, dilapisi sekam yang diganti setiap sehari sekali agar tetap bersih dan kering

e. Luas luka bakar sama yaitu 4 cm^2.

4.2.3 Teknik Sampling dan Penentuan Jumlah Sampel

Pada penelitian ini menggunakan *simple random sampling* yang selanjutnya dikelompokkan ke dalam masing-masing kelompok kontrol atau kelompok perlakuan. Sampel dibagi menjadi enam kelompok dengan perhitungan menurut rumus, sebagai berikut (Hidayat, 2009) :

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

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

r = banyak sampel pada tiap kelompok, maka :

= (t-1)(r-1) ≥ 15

= (6-1)(r-1) ≥ 15

= 5(r-1) ≥ 15

= 5r-5 ≥ 15

= 5r ≥ 15+5

= r ≥ 20/5

= r ≥ 4

Berdasarkan hasil perhitungan diatas menunjukkan bahwa pengulangan yang dibutuhkan untuk setiap kelompok minimal sebanyak 4 kali atau 4 ekor, sehingga jumlah total tikus yang dibutuhkan adalah 24 ekor tikus. Setiap tikus akan diberikan penomeran (1-24) dan setiap kandang diberi tanda (A-F) untuk membedakan kelompok. Kemudian, dilakukan randomisasi untuk mengelompokkan tikus sehingga didapatkan kelompok tikus yang akan menempati setiap kandang.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Terikat Penelitian (Variabel *Dependent*)

Variabel *dependent* pada penelitian ini adalah kontraksi luka bakar derajat IIB

4.3.2 Variabel Bebas Penelitian (Variabel *Independent*)

a. Ekstrak daun dewa (*Gynura segetum)* dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%
b. Perawatan dengan *silver sulfadiazine* (SSD)
c. Perawatan dengan Vaseline
d. Perawatan dengan Normal Saline

4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang selama 14 hari dengan perawatan luka bakar dilakukan setaip hari dimulai pukul 09.00 WIB (Fatemi *et al.,* 2014).

4.5 Alat dan Bahan serta Prosedur Penelitian

4.5.1 Teknik Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

a. Alat dan Bahan

Pisau cukur dan gagangnya, besi ukuran 2x2cm dan korentang, kassa steril, spiritus, pemantik api, alkohol 70%, Normal Saline, perlak, sarung tangan bersih, jas lab, obat anastesi general (ketamin), bengkok, spuit 3cc, aquades injeksi dan penggaris.

b. Ekplorasi Penentuan Luka Bakar Derajat IIB

Penentuan derajat luka bakar dapat dilakukan dengan menggunakan dua metode induksi luka bakar. Metode tersebut dibedakan berdasarkan sumber panas dan suhu. Dua metode tersebut adalah sumber panas dengan menggunakan kompor dan sumber panas menggunakan bunsen.

Dari Hasil uji eksplorasi yang dilakukan oleh Fitria (2014) terhadap sediaan histopatologis dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) yang dianalisis menggunakan mikroskop cahaya menunjukkan bahwa metode yang tepat untuk induksi luka bakar derajat IIB adalah dengan metode sumber panas menggunakan bunsen, yakni dengan menggunakan plat besi bersuhu 80^0C yang dipanaskan selama ±8 menit dan ditempelkan pada punggung tikus selama 6 detik (Fitria, 2014). Hal ini didasarkan pada kerusakan jaringan yang terjadi mengenai epidermis dan 2/3 bagian dermis serta apendises kulit yang sebagian masih utuh (Moenadjat, 2009).

4.5.2 Prosedur Pembuatan Luka Bakar Derajat IIB

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, cuci tangan dan pakai sarung tangan bersih.
5. Desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar, tunggu sampai alcohol kering.
6. Lakukan anastesi menggunakan ketamine pada area kulit yang akan di buat luka bakar dengan dosis (60mg/kgbb).
7. Panaskan plat besi dengan luas 2x2 dan ketebalan 2mm hingga mencapai suhu 80°C atau selama 8 menit secara konstan dengan menggunakan api Bunsen yang diatur tinggi sumbu 1 cm.
8. Tempelkan plat besi pada punggung tikus selama 6 detik.
9. Angkat besi kemudian dikompres dengan kassa yang telah dicelupkan kedalam Normal Saline sekitar 30 detik untuk mencegah terjadinya penyebaran luka bakar
10. Tutup luka dengan kassa dan ikatkan ke tubuh tikus.
11. Lepas sarung tangan
12. Rapikan alat dan cuci tangan (Fitria, 2014).

4.5.3 Prosedur Perawatan Luka Bakar

a. Alat dan Bahan

Tabel 4.1 Alat dan Bahan Perawatan Luka Bakar

No.	Alat dan Bahan	Jumlah
1	Sarung tangan steril	1 pasang
2	Sarung tangan bersih	1 pasang
3	Bak instrumen kecil	1 buah
4	Pinset anatomis	2 buah
5	Kom steril	2 buah
6	Kassa steril	24 buah
7	Kasa + Normal Saline	secukupnya
8	Bengkok	1 buah
9	Perlak/alas	3 lembar
10	Plester	1 roll
11	Gunting plester	1 buah
12	Normal Saline	1 botol
13	Ekstrak daun dewa	50mg
14	Korentang	1 buah
15	Tas plastik pembuang sampah	1 buah
17	*Silver sulfadiazine*	50mg
18	Vaseline	50mg

b. Prosedur Perawatan Luka

1. Prosedur Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan menggunakan *Silver Sulfadiazine.* Perawatan minimal dilakukan oleh 2 orang (1 sebagai perawat luka dan 1 sebagai asisten)
   a. Cuci tangan
   b. Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
   c. Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
   d. Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
   e. Pakai sarung tangan steril.

f. Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
g. Irigasi luka dengan Normal Saline yang dimasukkan ke dalam spuit 3 cc.
h. Basahi kassa dengan Normal Saline dan peras, kemudian bersihkan luka dan keringkan.
i. Oleskan 50mg SSD pada luka.
j. Tutup dengan kasa steril dan plester kemudian balut dengan kassa gulung
k. Rapikan peralatan.
l. Lepas sarung tangan, buang plastik dan cuci tangan.

2. Prosedur Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan menggunakan Vaseline. Perawatan minimal dilakukan oleh 2 orang (1 sebagai perawat luka dan 1 sebagai asisten)
   a. Cuci tangan
   b. Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
   c. Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
   d. Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
   e. Pakai sarung tangan steril.
   f. Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
   g. Irigasi luka dengan Normal Saline yang dimasukkan ke dalam spuit 3 cc.
   h. Basahi kassa dengan Normal Saline dan peras, kemudian bersihkan luka dan keringkan.

i. Oleskan 50mg Vaseline pada luka.

j. Tutup dengan kasa steril dan plester kemudian balut dengan kassa gulung

k. Rapikan peralatan.

l. Lepas sarung tangan, buang plastik dan cuci tangan.

3. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan Ekstrak Daun Dewa. Perawatan minimal dilakukan oleh 2 orang (1 sebagai perawat luka dan 1 sebagai asisten)

a. Cuci tangan

b. Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.

c. Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.

d. Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.

e. Pakai sarung tangan steril.

f. Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.

g. Irigasi luka dengan Normal Saline yang dimasukkan ke dalam spuit 3 cc.

h. Basahi kassa dengan Normal Saline dan peras, kemudian bersihkan luka dan keringkan.

i. Oleskan 50mg salep ekstrak daun dewa sesuai dengan dosis masing masing kelompok perlakuan pada luka bakar.

m. Tutup dengan kasa steril dan plester kemudian balut dengan kassa gulung

j. Rapikan peralatan.

k. Lepas sarung tangan, buang plastik dan cuci tangan

4. Perawatan Luka Bakar Derajat IIB dengan Normal Saline. Perawatan minimal dilakukan oleh 2 orang (1 sebagai perawat luka dan 1 sebagai asisten)
   a. Cuci tangan
   b. Tempatkan perlak yang dilapisi kain dibawah luka yang akan dirawat.
   c. Atur posisi tikus senyaman mungkin sehingga memudahkan pelaksanaan tindakan.
   d. Tempatkan bengkok dekat dengan luka yang akan dirawat.
   e. Pakai sarung tangan bersih.
   f. Lipat ukuran kasa sesuai dengan besarnya luka.
   g. Irigasi luka dengan Normal Saline yang dimasukkan ke dalam spuit 3 cc.
   h. Basahi kassa dengan Normal Saline dan peras, kemudian bersihkan luka dan keringkan.
   i. Tutup semua area luka bakar dengan kasa steril yang telah dibasahi larutan Normal Saline
   j. Tutup dengan kasa steril dan plester kemudian balut dengan kassa gulung
   k. Rapikan peralatan.
   l. Lepas sarung tangan, buang plastik dan cuci tangan.

4.5.4 Persiapan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Dewa (*Gynura Segetum)*

Penentuan dosis ekstrak daun dewa pada penelitian menggunakan dosis yang digunakan pada penelitian Anjelin (2008)

dengan hasil konsentrasi yang efektif untuk ekstrak etanol daun dewa secara topikal yaitu 2,5%, 5%, dan 10%. Pemilihan penggunaan etanol dalam pembuatan ekstrak daun dewa adalah karena zat herbal dalam tanaman yang merupakan zat yang kompleks. Etanol dipilih sebagai pelarut apabila zat herbal yang dibutuhkan tidak dapat larut dalam air serta apabila tujuan penggunaan ekstrak dalam waktu lama (Morgan, 2009).

a. Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Dewa

Tabel 4.2 alat dan bahan pembuatan ekstrak etanol daun dewa

No.	Alat dan Bahan	Jumlah
1	Oven	1 buah
2	Timbangan	1 buah
3	Gelas erlenmenyer	2 buah
4	Corong gelas	1 buah
5	Kertas saring	1 buah
6	Labu evaporator	1 buah
7	Labu penampung etanol	1 buah
8	Evaporator	1 buah
9	Pendingin spiral	1 buah
10	Selang water pump	1 buah
11	Water bath	Secukupnya
12	Vacum pump	1 buah
13	Daun dewa	Secukupnya
14	Etanol 96%	Secukupnya
15	Aquades	Secukupnya
16	Botol hasil ekstrak	Secukupnya

b. Proses Pembuatan Ekstrak Daun Dewa

Pembuatan ekstraksi daun dewa terbagi menjadi tiga proses, yakni :

1. **Proses Pengeringan**

   Daun dewa yang digunakan dalam penelitian diperoleh dari Materia Medika Batu. Daun dewa kemudian dicuci secara terpisah dengan air mengalir sampai bersih dan kemuadian dikeringkan. Proses pengeringan menggunakan sinar matahari. Setelah daun dewa kering dilakukan proses penghalusan menggunakan blender sehingga menjadi bentuk serbuk (Patmawati, 2010).

2. **Proses Ekstraksi**

   Proses ekstraksi mengikuti standar pembuatan ekstrak di Laboratorium Farmakologi Universitas Brawijaya Malang dan dilakukan oleh laboran Laboratorium Farmakologi yang sudah berkompeten.

   a. Serbuk daun dewa ditimbang sebanyak 100 gram.
   b. Masukkan 100 gram serbuk ke dalam gelas Erlenmeyer ukuran 1 liter.
   c. Rendam dengan etanol sampai volume 1000 mL.
   d. Kocok sampai benar-benar tercampur.
   e. Diamkan 1 malam sampai mengendap.

3. **Proses Evaporasi**

   a. Masukkan daun dewa yang telah diekstrak ke dalam labu evaporasi 1 liter.
   b. Pasang labu evaporasi pada evaporator.
   c. Isi *water bath* dengan air sampai penuh

d. Pasang semua rangkaian alat termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur sesuai dengan titik didih etanol). Sambungkan dengan aliran listrik.
e. Biarkan larutan etanol memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu evaporasi.
f. Tunggu sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu panampang (1,5-2 jam untuk 1 labu) ±900ml.
g. Hasil yang diperoleh kira-kira ¼ dari bahan alam kering.
h. Masukkan hasil ekstraksi ke dalam botol plastic / kaca.
i. Kemudian simpan dalam *freezer* (Laboratorium Farmakologi FKUB, 2013)

4.5.5 Pencampuran Ekstrak Daun Dewa dengan Vaseline

a. Alat dan Bahan

1. Gelas ukur 3 buah
2. Timbangan 1 buah
3. Cawan 3 buah
4. Pengaduk larutan 3 buah

b. Prosedur Pencampuran Vaseline dengan Ekstrak Daun Dewa

Ekstrak daun dewa yang telah dibuat kemudian dibagi menjadi beberapa dosis yang berbeda kemudian dicampur dengan pelarut vaseline (kadar vaseline yang digunakan sebanyak 100 mg berdasarkan ukuran luas luka yang akan diberikan yaitu 2x2 cm^2) menggunakan rumus:

$$L = {}^{a}/_{b} \times 100\%$$

Keterangan :

L = Konsentrasi larutan (%)

a = Massa zat terlarut (mg)

b = Massa zat pelarut (mg)

Dosis ekstrak daun dewa yang akan digunakan adalah 2,5%, 5%, dan 10% sehingga jika dimasukkan ke dalam rumus pencampuran Vaseline didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Konsentrasi 2,5%

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

   2,5% = $\frac{a}{50}$x100

   a= $\frac{2,5x50}{100}$

   a= 1,25 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

Jika dijabarkan dalam konsentrasi 2,5% daun dewa terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 1,25 mg kemudian dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 48,75 mg untuk setiap sampel. Sehingga dalam 14 hari perlakuan terdapat 70 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan 2730 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 2,5%.

2. Konsentrasi 5%

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

5% = $\frac{a}{50}$ x100%

a = $\frac{5x50}{100}$

a = 2,5mg/ hari

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

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

Jika dijabarkan dalam konsentrasi 5% daun dewa terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 2,5 mg kemudian dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 47,5 mg untuk setiap sampel. Sehingga dalam 13 hari perlakuan terdapat 140 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan 2660 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 5%.

3. Konsentrasi 10%

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

10% = $\frac{a}{50}$x100%

a = $\frac{10x50}{100}$

a = 5mg/hari

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

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

Jika dijabarkan dalam konsentrasi 10% daun dewa terdapat ekstrak daun dewa sebanyak 5 mg kemudian dicampurkan dengan Vaseline sebanyak 45 mg untuk setiap sampel. Sehingga dalam 13 hari perlakuan terdapat 280 mg ekstrak daun dewa dicampurkan dengan

2520 mg Vaseline untuk seluruh kelompok perlakuan dengan ekstrak daun dewa konsentrasi 10%.

4.5.6 Teknik Sterilisasi

Alat-alat rawat luka yang telah digunakan akan disterilkan dengan menggunakan sistem autoklaf eletrik (UV) dengan penyetelan timer otomatis. Prosedur sterilisasi dimulai dengan mengaktifkan mesin autoklaf dan memutar tombol timer ke angka 30 menit. Jika tombol timer telah menunjukkan angka nol maka proses sterilisasi telah selesai dan dapat diambil menggunakan korentang.

4.5.7 Teknik Pemeliharaan Tikus dan Pembagian Kelompok

a. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang diperlukan adalah kandang tikus dengan luas ±650cm^2, penutup kandang dari anyaman kawat, botol air minum, makanan tikus dan alas tidur tikus (sekam)

b. Cara Pemeliharaan

Sebelum diinduksi luka bakar, tikus diadaptasikan terlebih dahulu di tempat penelitian selama 1 minggu. Satu kandang yang disediakan ditempati satu tikus untuk menghindari perkelahian antar hewan coba sehingga akan menimbulkan luka baru. Kandang tikus harus cukup kuat (tahan gigitan) dan mudah dibersihkan serta dilengkapi dengan penutup kandang dari anyaman kawat. Alas tidur tikus diganti setiap hari sekali agar tetap kering dan tidak lembab.

Pemberian makan dan minum pada tikus sebelum dan selama penelitian dilakukan setiap hari. Untuk menghindari kesalahan penilaian penyembuhan luka selama penelitian, maka masing-masing

tikus diberi tanda yang tidak mudah hilang yaitu memberi nomor pada masing-masing kandang tikus dan pada ekor tikus.

c. Penandaan Tikus

Masing-masing tikus ditempatkan pada kandang yang berbeda kemudan diberi tanda pada ekornya dan pemberian kode pada kandang tikus untuk menghindari kesalahan penilaian.

d. Pembagian Kelompok

Pembagian kelompok pada tikus dilakukan dengan teknik *simple random sampling*. Penelitian menggunakan 24 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu :

1. Kelompok 1 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan Normal Saline
2. Kelompok 2 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan vaseline
3. Kelompok 3 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan *Silver Sulfadiazine* (SSD).
4. Kelompok 4 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan ekstrak etanol daun dewa konsentrasi 2,5 %
5. Kelompok 5 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan ekstrak etanol daun dewa konsentrasi 5%
6. Kelompok 6 adalah kelompok tikus yang dirawat dengan ekstrak etanol daun dewa konsentrasi 10%

4.6 Definisi Operasional

Tabel 4.3 Definisi Operasional

Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Independen : Perawatan luka bakar derajat IIB dengan salep ekstrak daun dewa (*Gynura Segetum*).	Luka dibersihkan terlebih dahulu menggunakan normal saline, dikeringkan dan diberikan 50mg salep ekstrak daun dewa secara topikal dengan dosis sesuai kelompok, setelah itu luka ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan kassa gulung. Perawatan dilakukan sekali setiap hari, pembuatan ekstrak daun dewa menggunakan ekstrak etanol 96% . Ekstrak daun dewa dibuat dalam bentuk sediaan salep dengan cara mencapurkan vaselin kemudian dibagi menjadi tiga konsentrasi yaitu	Dosis	Persen (%)	Rasio

	2,5%, 5%, dan 10%			
Independen : Ekstrak Daun Dewa	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 mencampurkan vaseline, kemudian dibagi menjadi tiga konsentrasi yaitu, 2,5%, 5% dan 10%		mg	Rasio
Independen : Perawatan luka bakar derajat IIB dengan SSD	Perlakuan pada kelompok dengan perawatan menggunakan SSD dilakukan dengan cara luka dibersihkan terlebih dahulu dengan normal saline kemudian diolesi 50mg SSD setelah itu luka ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan	Dosis	mg	Rasio

	kassa gulung.			
Independen : Perawatan luka bakar derajat IIB dengan Normal Saline	Perlakuan pada kelompok kontrol negatif dengan menggunakan Normal Saline. Luka dibersihkan dengan normal saline kemudian setelah itu luka ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan kassa gulung.			Rasio
Independen : Perawatan luka bakar derajat IIB dengan Vaseline	Perlakuan pada kelompok kontrol positif dengan menggunakan Vaseline. Luka dibersihkan terlebih dahulu dengan normal saline kemudian diolesi 50mg Vaseline setelah itu luka ditutup dengan kasa steril dan dibalut dengan kassa gulung.	Dosis	mg	Rasio
Dependen : Kontraksi luka	Proses terjadinya penyempitan ukuran luka dengan menghitung pengurangan luas area mulai pada hari ke-0	Penggaris *Software SketchUp*	Persentase %	Rasio

	setelah diinduksi luka bakar derajat IIB yang digunakan sebagai luka awal sebelum diberikan perlakuan, kemudian diukur dan diamati luas area luka pada hari ke-1, ke-3, ke-7 dan ke-14 setelah luka dirawat (Fatemi *et al*., 2011). Luka difoto dengan menggunakan kamera digital dengan resolusi 16 *megapixel* dengan pencahayaan yang sama dan jarak ±10cm dari area luka. Luka sebelumnya dibersihkan dengan menggunakan Normal Saline dan kemudian diukur panjangnya dengan menggunakan penggaris dan *SketchUp.* Kontraksi luka kemudian dihitung dengan			

	menggunakan rumus *percent of wound contraction* pada hari ke -1, ke-3, ke-7 dan ke-14 (Pribalouti *et al*., 2009; Fatemi *et al.,* 2014).			
Dependen : Luka Bakar Derajat IIB	Luka bakar derajat IIB dibuat dengan memanaskan plat besi dengan ketebalan 2mm pada bunsen dengan tinggi sumbu 1cm hingga mencapai suhu 80°C lalu ditempelkan pada punggung tikus selama 6 detik.		Cm^2	Rasio

4.7 Prosedur Penelitian dan Pengumpulan Data

4.7.1 Pengumpulan Data

a. Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini mengguakan *post-test only control group design*. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Perawatan luka dilakukan pada masing-masing sampel dengan batas waktu penelitian selama 14 hari karena proses penyembuhan luka yang telah stabil (Aschroft *et al*., 2013).

Pengukuran luas luka dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan, yaitu pada hari ke-1, ke-3, ke-7, ke-14 pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol untuk melihat kontraksi luka (Fatemi *et al*., 2014).

b. Metode Pengumpulan

Penelitian langsung dengan cara pengamatan langsung terhadap hasil perlakuan dan kontrol secara berulang. Pengumpulan data dilakukan sekali setiap hari pada hari ke-1, ke-3, ke-7, ke-14 pada saat perawatan luka di Laboratorium Farmakologi FKUB pada pukul 09.00-11.00 WIB.

4.7.2 Identifikasi Kontraksi Luka

Proses identifikasi kontraksi luka dilakukan pada hari ke ke-1, ke-3, ke-7 dan ke-14 setelah luka dibersihkan. Luka difoto dengan menggunakan kamera digital beresolusi 16 megapixel dengan pencahayaan yang sama dan jarak ±10cm dari area luka. Panjang luka kemudian diukur dengan menggunakan penggaris dan dihitung pada *software SketchUp* (Pirbalouti, 2009).

Prosedur penghitungan luas area luka dengan menggunakan *SketchUp* dimulai dengan membuka program *SketchUp*, pilih skala milimeter. Langkah selanjutnya adalah masukkan gambar dengan cara men-*drag* gambar menuju ke *software*. Klik pada gambar dan pilih menu tampak depan. Perkecil ukuran gambar dengan cara menarik sisi-sisi dari gambar untuk memudahkan membuat skala. Selanjutnya, pilih *line* dan gambar garis lurus sepanjang 10mm. Tarik gambar mendekati skala dengan menggunakan menu *move* dan

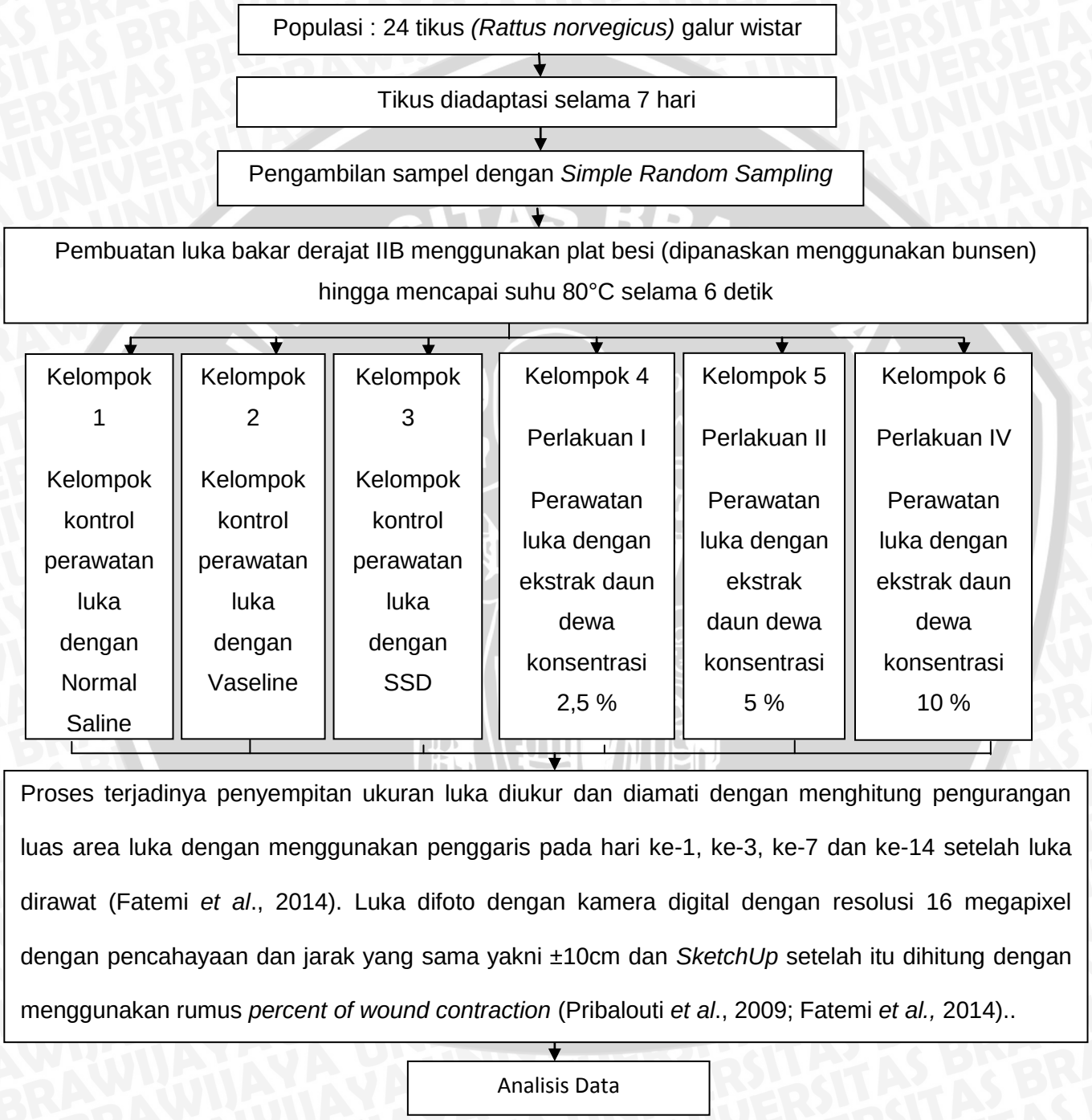
sesuaikan garis yang telah dibuat dengan ukuran penggaris yang ada pada gambar dengan menggunakan menu *rotate*. Pilih menu *free hand* untuk menggambar pinggiran dari luka. Langkah terakhir adalah setelah selesai menggambar seluruh pinggiran luka, klik kanan kemudian pilih area maka luas luka akan ditampilkan.

Rumus luas kontraksi luka (Bairy *et al.,* 2012) :

$$\% \text{ of wound contraction} = \frac{\textit{initial wound size} - \textit{spesific day wound size}}{\text{Initial wound size}} \times 100\%$$

4.7.3 Prosedur Penelitian

Post-test Only, Control Group Design



Gambar 4.1 Alur Prosedur Penelitian

4.8 Uji Analisis Data

4.8.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Kontraksi luka bakar derajat IIB dianalisis pada hari ke-1, ke-3, ke-7 dan ke-14 Fatemi *et al.,* 2014) menggunakan *software IBM SPSS Statistic* 16.0. Uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* karena dapat medeteksi sampel kecil (≤50) dengan α= 0,05. Jika data menunjukkan *p value* > 0,05 maka distribusi data adalah normal. Uji homogenistas menggunakan uji Lavene (*Lavene test homogeneity of variances*) dengan α= 0,05. Jika data menunjukkan *p value* > 0,05 maka data disebut homogen sehingga dapat dilakukan uji parametrik lebih lanjut menggunakan *One Way ANOVA* (Dahlan, 2009)

4.8.2 Uji *One Way ANOVA*

Pengujian *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui perbedaan antar kelompok yang diteliti. Jika signifikansi *p value* < α (0,05) maka terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kontraksi luka bakar derajat IIB antar kelompok (Dahlan, 2009).

4.8.3 Uji Perbandingan Berganda

Setelah data hasil penelitian dianalisis dengan *One Way ANOVA*, data selanjutnya dianalisis dengan uji *Post Hoc Test* dengan tujuan untuk mengetahui kelompok penelitian mana yang memilki hasil paling signifikan terhadap kontraksi luka. Nilai signifikansi antar kelompok yang paling bermakna dimana *p value* < α (0,05) (Dahlan, 2009).