

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental, *invivo* dengan hewan uji.

B. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama tiga bulan, dimulai dari bulan Mei sampai dengan bulan Juli 2011.

C. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY.

D. Subyek Penelitian

Subjek yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Sprague Dawley umur 5-8 minggu dan berat rata-rata 180-265 gram.

E. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas : pemberian gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*).

3. Variabel Terkendali:

- a) Subyek penelitian yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Sprague Dawley umur 5-8 minggu dan berat \pm 180-265 gram yang dipilih secara acak atau randomisasi.
- b) Tikus diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama satu minggu, dengan pakan dan tempat yang sama.

F. Definisi Operasional

1. Perlakuan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) adalah perlakuan yang dilakukan dengan cara memberikan kombinasi ekstrak (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) dalam bentuk gel.
2. Ekstraksi adalah pemisahan kandungan kimia yang dapat larut terhadap air dengan bahan kimia yang tidak larut air sehingga dapat dicampur dengan sediaan gel.
3. Gel didefinisikan sebagai suatu sistem setengah padat yang terdiri dari partikel organik dan anorganik yang diresapi cairan.
4. Luka bakar kimia dalam penelitian ini adalah suatu kerusakan jaringan pada permukaan kulit yang terjadi karena kontak antara kulit dengan zat kima, dalam hal ini adalah asam sulfat dengan konsentrasi 75%
5. Metode penyembuhan luka dan persentasi penyembuhan menggunakan metode Morton yaitu waktu penyembuhan dihitung dalam hari berdasarkan

6. Indikator kesembuhan adalah diameter luka bakar yang diukur secara makroskopis dan persentase kesembuhan yang dihitung dari data diameter tersebut.

G. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat pada penelitian ini dibagi menjadi dua jenis, yakni alat pembuatan ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*), daun pepaya (*Carica papaya*) dan sediaan gel serta alat untuk perlakuan (pembuatan luka pada hewan uji).

a) Alat untuk pembuatan ekstrak dan sediaan gel

Alat yang digunakan untuk pembuatan ekstrak dan sediaan gel antara lain, *homogenizer*, kompor listrik, gelas ukur, gelas beker, neraca analitik, pipet tetes, mesin penyerbuk, pengaduk, labu alas bulat, tabung *elenmeyer*, cawan *porcelain*, oven pengering, corong *boechmen*, mesin *vacuum*, *rotary vacuum evaporatory*, botol *flacon*.

b) Alat untuk perlakuan (pembuatan diameter luka)

Pada perlakuan hewan uji, penelitian ini membutuhkan alat-alat berupa, cincin pembatas luka dengan diameter 15 mm dan spuit 1ml, alat pencukur bulu tikus, mortir, stamper, sendok, jangka sorong, sarung

2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan dibagi menjadi dua kelompok yakni bahan pembuatan ekstrak dan bahan perlakuan,

a) Bahan Pembuatan Ekstrak

Bahan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak meliputi, daun pepaya (*Carica papaya*) segar, batang dan daun tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) segar, CMC, aquadest dan kertas saring.

b) Bahan Perlakuan

Bahan yang digunakan adalah etanol 70%, asam sulfat 75%, alkohol 70%, kapas, steroform, aquades dan gel hidrofilik.

H. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak dan Sediaan Gel

Berdasarkan Standar Prosedur Operasional (SOP) pembuatan ekstrak di Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu Unit III Universitas Gajah Mada, pembuatan ekstrak memiliki tahap-tahap sebagai berikut:

a) Pembuatan Ekstrak Tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) Dalam Sediaan Gel.

- 1) Disiapkan bahan tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) kemudian segar yang terdiri dari batang dan daun, cuci dengan air bersih.
- 2) Tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dikeringkan dengan cara dimasukkan ke dalam mesin pengering (oven) dengan suhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$.

3) Ekstrak yang telah kering dibuat serbuk dengan mesin

- 4) Serbuk tumbuhan yodium ditimbang sebesar 200 gram untuk dilarutkan dengan etanol 70%.
 - 5) Serbuk tumbuhan yodium dan etanol 70% dihomogenkan dengan cara di blender dengan alat *homogenizer* selama 15 menit.
 - 6) Tumbuhan yodium dimaserasi selama 24 jam, dengan tujuan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan yodium dapat larut dalam etanol 70%.
 - 7) Hasil maserasi tersebut kemudian disaring dengan mesin vaccum sampai kering sehingga diperoleh larutan tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*). Cairan atau larutan hasil penyaringan dituang ke labu alas bulat.
 - 8) Larutan yang didapat diuapkan dengan mesin *rotary vaccum evaporator* sampai terlihat secara jelas adanya pemisahan antara etanol 70% dengan zat yang terkandung di dalam tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*). Cairan diambil dan dituang ke cawan porselen.
 - 9) Dididihkan cairan yang sudah dituangkan dalam porselen sampai kering, setelah kering ekstrak ditempatkan dalam wadah.
- b) Pembuatan Ekstrak Daun pepaya (*Carica papaya*) Dalam Sediaan Gel

- 2) Daun pepaya (*Carica papaya*) yang sudah bersih kemudian dikeringkan dan dimasukkan ke dalam mesin pengering (oven) dengan suhu pemanasan $\pm 45^{\circ}\text{C}$.
 - 3) Setelah kering, daun pepaya dimasukkan kedalam mesin penyerbuk.
 - 4) Serbuk daun pepaya ditimbang sebesar 200 gram untuk dilarutkan dengan etanol 70%.
 - 5) Serbuk daun pepaya dan etanol 70% dihomogenkan dengan cara di blender dengan alat *homogenizer* selama 15 menit.
 - 6) Kemudian maserasi selama 24 jam, sehingga senyawa kimia yang terkandung dalam daun pepaya larut dalam etanol 70%.
 - 7) Daun pepaya dimaserasi selama 24 jam, dengan tujuan senyawa kimia yang terkandung dalam tumbuhan yodium dapat larut dalam etanol 70%.
 - 8) Diuapkan larutan yang didapat dengan mesin *rotary vaccum evaporator* sampai terlihat secara jelas adanya pemisahan antara etanol 70% dengan zat yang terkandung di dalam daun pepaya (*Carica papaya*). Cairan diambil dan dituang ke cawan porselen.
 - 9) Dididihkan cairan yang sudah dituangkan dalam porslen sampai kering, setelah kering ekstrak ditempatkan dalam wadah.
- c) Pembuatan Sediaan Gel Ekstrak Tumbuhan Yodium (*Jatropha multifida*) dan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya*)

$$\text{konsentrasi} = \frac{B}{V} \times 100\%$$

$$15\% = \frac{B}{50 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$B = 7,5 \text{ gram}$$

Keterangan:

B : Jumlah campuran ekstrak

V : Volume

Dalam perhitungan yang didapatkan ketika sediaan gel sebesar 15% dengan volume 50 ml didapatkan hasil sebesar 7,5 gram campuran ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*).

3. Pengelompokan Hewan Uji

Sebelum dilakukan pengujian, hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu dengan suasana kandang hewan Laboratorium Biomedik FKIK UMY selama satu minggu. Sebanyak 30 ekor tikus putih sebagai hewan uji ditimbang kemudian dan dibagi secara randomisasi menjadi lima kelompok:

- a) Kelompok A adalah kelompok hewan uji kontrol negatif tanpa perlakuan.
- b) Kelompok B adalah kelompok hewan uji yang diberi sediaan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun

100% dengan perbandingan 15% dengan perbandingan

- c) Kelompok C adalah kelompok hewan uji yang diberi sediaan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) sebesar 15% dengan perbandingan 1:1.
- d) Kelompok D adalah kelompok hewan uji yang diberi sediaan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) sebesar 15% dengan perbandingan 2:1.
- e) Kelompok E adalah kelompok hewan uji kontrol positif dengan perlakuan bioplasenton.

4. Induksi Luka Bakar Kimia

- a) Setelah tujuh hari beradaptasi di laboratorium, bulu tikus dicukur bersih di bagian dorsal dekstra sehingga memungkinkan dipasang pembatas cincin luka berdiameter 15mm.
- b) Kulit pada cincin pembatas diberi alkohol 70%, kemudian dianasthesi dengan eter agar memungkinkan dilakukannya induksi luka kimia.
- c) Tikus diinduksi dengan bahan kimia yakni dengan menggunakan asam sulfat 75% sesuai dengan cincin pembatas.
- d) Setelah dilakukan induksi luka kimia, lakukan pengukuran diameter luka.

5. Pemberian Perlakuan Gel Ekstrak

Tikus yang sudah dikelompokkan dan diukur diameternya diberikan perlakuan sesuai kelompoknya. Kelompok A adalah kelompok hewan uji kontrol negatif tanpa perlakuan. Kelompok B adalah kelompok hewan uji

diinduksi dengan kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha*

multifida) dan daun pepaya (*Carica papaya*) sebesar 15% dengan perbandingan konsentrasi 1:2. Kelompok C adalah kelompok hewan uji yang diberi sediaan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) sebesar 15% dengan perbandingan konsentrasi 1:1. Kelompok D adalah kelompok hewan uji yang diberi sediaan gel kombinasi ekstrak tumbuhan yodium (*Jatropha multifida*) dan daun pepaya (*Carica papaya*) sebesar 15% dengan perbandingan konsentrasi 2:1. Kelompok E adalah kelompok hewan uji kontrol positif yang diberi olesan bioplasenton. Pemberian setiap perlakuan dilakukan setiap hari dengan volume 0,1 ml sampai luka bakar pada tikus sembuh.

6. Pengamatan dan Pengukuran Luka Bakar

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan memodifikasi metode Morton. Pengamatan terhadap luka bakar pada hewan uji dilakukan setiap hari, sedangkan pengukuran dan pengambilan data diameter luka bakar dilakukan setiap tiga hari sekali sampai sembuhnya luka atau didapatkannya diameter luka sama dengan nol pada hewan uji.

Data waktu sembuh (dalam hari) diambil berdasarkan pada data kesembuhan dan pengukuran diameter luka setiap hari, dengan indikator

luka sembuh adalah didapatkannya diameter luka sebesar 0 mm

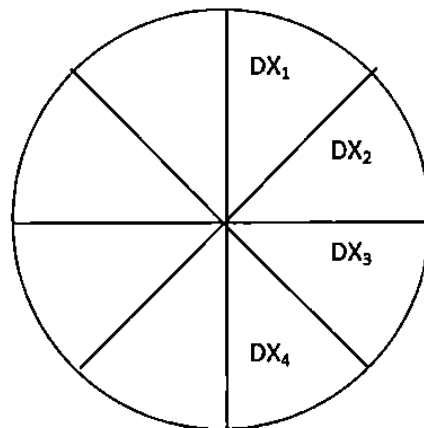
Data persentase luka diambil dari data diameter luka. Cara mengukur diameter luka adalah dengan menghitung nilai rata-rata diameter luka menggunakan rumus:

$$\bar{x} = \frac{dx_{(1)}+dx_{(2)}+dx_{(3)}+dx_{(4)}}{4}$$

Keterangan:

Dx : diameter luka hari ke-x (dalam mm)

$Dx_{(1), (2), (3) \text{ dan } (4)}$: diameter luka hari yang diukur dalam berbagai arah (lihat gambar 1)



Gambar 4. Cara Mengukur Diameter Luka

I. Analisis Data

1. Perhitungan Data Persentase Kesembuhan

Setelah data diameter luka didapatkan, kemudian dilakukan perhitungan persentase penyembuhan luka (dalam %) setiap hari dengan

Keterangan:

P_x : Persentase kesembuhan hari ke-x (dalam %)

d_1 : diameter luka hari pertama

d_x : diameter luka hari ke-x

2. Penghitungan Besar Sampel

Besar sample hewan uji dihitung berdasarkan rumus sampel Federer sebagai berikut:

$$(P_1-1) (P_2-1) \geq 15$$

Keterangan :

P_1 : Jumlah kelompok sampel

P_2 : Jumlah sampel yang dicari

3. Pengolahan Data dengan Statistik

Data yang diperoleh merupakan dua data makroskopik berupa waktu penyembuhan (dalam hari) dan persentasi kesembuhan (dalam % tingkat kesembuhan). Data selanjutnya dianalisis menggunakan statistik deskriptif ANOVA untuk diuji normalisasinya, jika diketahui sebaran data tidak normal, maka dilakukan analisis dengan metode Krusscal-Wallis pada semua kelompok penelitian, kemudian untuk melihat kelompok mana yang terdapat perbedaan kelompok maka dilakukan uji Mann-Whitney antar

J. Skema Prosedur Penelitian

