

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian *invivo* pada hewan uji dengan metode eksperimental murni. Subjek dalam penelitian ini diamati tanda klinis dan dilakukan pengukuran panjang luka pada hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-10 pasca pembedahan dan pengukuran terhadap variabel subjek dilakukan pada saat pemeriksaan. Untuk terapi subjek penelitian dilakukan sebanyak satu kali sehari, dua kali sehari, dan tiga kali sehari.

B. Lokasi dan Waktu penelitian

Tempat penelitian : Di Laboratorium Penelitian Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dan waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Februari – Maret 2018.

C. Subjek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah 24 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley dengan kriteria berumur sekitar 6-8 minggu dan berat sekitar 180-250 gram. Tikus dipelihara di kandang Laboratorium Hewan Uji Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY.

D. Identifikasi Variabel Penelitian

1. Identifikasi Variabel Penelitian

- I. Variabel Bebas :Topikal Gel Lidah Buaya 90%
- II. Variabel Terikat :Waktu penyembuhan luka (dalam hari) dan pengukuran panjang luka (dalam milimeter) pada penyembuhan luka yang dilihat secara klinis.
- III. Variabel Terkendali
 - a) Subjek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Sprague Dawley.
 - b) Berat tikus putih 180-250 gram
 - c) Umur tikus putih sekitar 6-8 minggu
 - d) Pemilihan subyek penelitian diambil secara random sehingga semua subjek memungkinkan dimasukkan dalam perlakuan kelompok A, kelompok B, kelompok C, dan kelompok D
 - e) Semua tikus putih dilakukan adaptasi dalam jenis makanan.
 - f) Tikus akan dilakukan adaptasi selama 3 untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan baru.
 - g) Pakan subyek penelitian pelet HI-PRO-VITE Medicated 511
 - h) Gingiva yang di lakukan insisi dibentuk secara elips dengan ukuran panjang 5 mm berbentuk elips dengan lebar 1-2 mm disepanjang regio 2 bukomaksila tikus putih.

E. Definisi Operasional

1. Topikal Gel Lidah Buaya konsentrasi 90%

Perantara topikal lidah buaya sediaan gel yang di oleskan 1 ml setiap kali oles ke bagian luka sayat insisi berbentuk elips pada gingiva tikus putih dengan panjang 5 mm dan bagian terlebar elips 2 mm dengan dilakukan pengolesan pada luka setelah 1 hari pasca pembedahan.

2. Pengamatan penyembuhan dan pengukuran panjang luka

Pengukuran panjang luka dengan waktu yang dibutuhkan mukosa mulut tikus putih untuk menyembuhkan luka yang diamati secara klinis pada hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7, dan hari ke-10 menggunakan busur dan jangka sorong *sliding caliper* dengan kaliberasi 0,01mm

3. *Gelling agent Hydroxypropyl Methylcellulose (HPMC)*

Gel dibuat dengan pengendapan fase dispersi agar mendapatkan suatu derajat kehaluan dari bagian-bagian partikel dan mempunyai sifat seperti gelatin yang diinginkan, yaitu apabila larutan unsur organik bereaksi maka membentuk suatu senyawa yang tidak larut dan mempunyai daya tarik-menarik yang tinggi dengan air yang menghasilkan gel netral, jernih, tidak berwarna, berasa, stabil pada Ph 3-11.

F. Instrumen penelitian

Alat-Alat Penelitian

a. Alat diagnostik pinset

- b. Bengkok sebagai tempat meletakkan alat diagnostik
- c. Sarung tangan dan masker sebagai alat kontrol infeksi
- d. Alat pengukur penggaris dan jangka busur untuk mengukur panjang dan lebar luka
- e. Cotton bud media pengantar pewarnaan asam pikrat kuning
- f. Kamera digital dokumentasi proses penyembuhan pada luka
- g. Hand Scapel no.3 dan no.4
- h. Blade no.11 dan no.22
- i. Timbangan tikus
- j. Kandang tikus
- k. Sduit injeksi 10ml
- l. Oral Sonde

Bahan-Bahan Penelitian

- a. Larutan Dettol untuk sterilisasi alat
- b. Topikal gel lidah buaya konsentrasi 90% untuk membantu proses penyembuhan luka
- c. Kloroform
- d. Kasa steril
- e. Kapas

f. Alkohol 70%

G. Besar Sampel

Penentuan jumlah sampel menurut FREDERER :

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

t = kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan

Berdasarkan rumus diatas, dengan t = 4, didapatkan jumlah sampel pada percobaan ini :

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

$$(n-1) \geq 5$$

$$n \geq 6$$

$$\mathbf{n = 6}$$

Besar sampel (N) = t x n

$$= 4 \times 6$$

$$= 24 \text{ ekor tikus}$$

Jadi besar sampel yang akan digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 6 ekor dengan 1 ekor tikus sebagai cadangan tiap kelompok dan jumlah kelompok yang akan digunakan adalah 4 kelompok sehingga penelitian ini akan menggunakan 28 ekor tikus putih dari populasi yang ada.

H. Cara Kerja Penelitian

Ada 2 tahapan dalam penelitian ini, yaitu tahap persiapan dan tahap pelaksanaan.

1. Tahap persiapan :

- a. Mengurus surat izin penelitian
- b. Memilih subyek penelitian
- c. Menyiapkan alat dan bahan
- d. Identitas masing-masing subyek penelitian dicatat pada formulir yang tersedia.

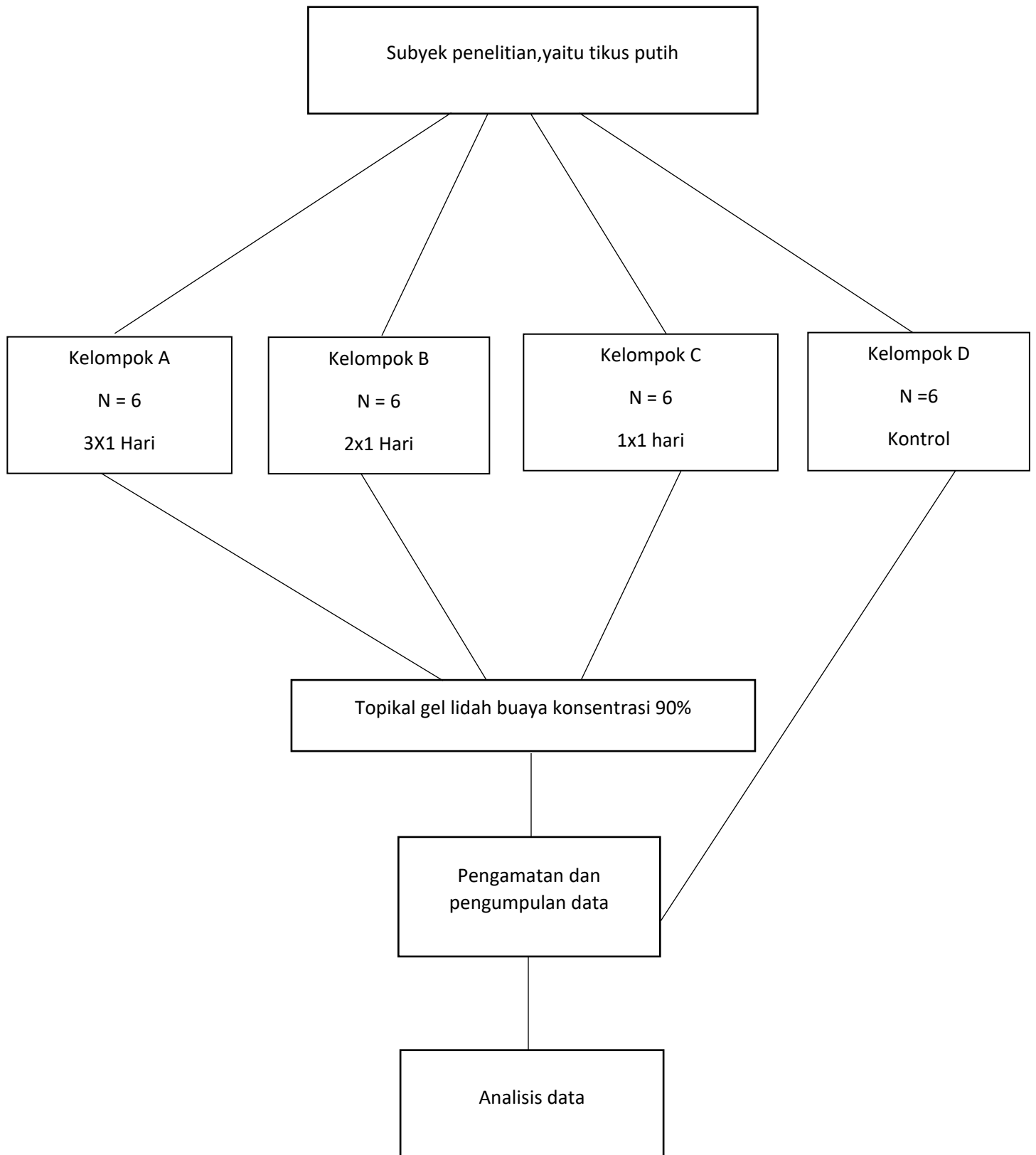
2. Tahap pelaksanaan :

- a. Melakukan persiapan jenis subyek yang akan diteliti pada hewan coba dengan memilih jenis kelamin, berat badan, pembagian kelompok dan tindakan perlakuan.
- b. Melakukan persiapan bahan, alat dan jenis lidah buaya dan dibuat dalam bentuk sediaan gel dengan basis *Hydroxypropyl methylcellulose* (HPMC) dengan metode maserasi. Rancangan formula gel ekstrak daun lidah buaya dengan basis HPMC adalah sebagai berikut :

Ekstrak etanol lidah buaya 1,0 g

HPMC	3,5 g
Propilenglikol	15 g
Metil paraben	0,2 g
Propil paraben	0,05 g
Aquadest	100ml

- c. Melakukan pengenalan dan penjelasan kepada penanggung jawab laboratorium ataupun asisten laboratorium tentang jenis penelitian dan tindakan apa yang akan dilakukan mengenai jalannya penelitian.
- d. Setelah dilakukan luka sayat insisi berbentuk elips oleh laboran atau asisten laboran pada gingiva tikus putih, Hal ini dilakukan agar terjadi pembekuan darah yakni 1-6 menit setelah terjadi perdarahan.
- e. Proses percepatan penyembuhan luka langsung dilakukan pemberian topikal gel lidah buaya 1 hari pasca pembedahan.
- f. Melakukan pengolesan topikal gel lidah buaya sebanyak satu kali sehari, dua kali sehari, dan tiga kali sehari yang dilakukan selama 10 hari.
- g. Mengukur dan membandingkan proses penyembuhan luka yang diamati secara klinis pada hari ke-3, ke-5, ke-7, dan ke-10.
- h. Menyajikan data dalam bentuk tabulasi.

I. Alur Penelitian

J. Analisis Penelitian

Analisis data pada penelitian ini dalam menentukan perbandingan waktu dalam proses penyembuhan luka sayat gingiva tikus putih dengan menggunakan topikal gel lidah buaya 90% pada kelompok tikus putih kelompok A satu kali sehari, kelompok B dua kali sehari, kelompok C tiga kali sehari, dan kelompok D tanpa perlakuan.

Pengolahan analisa data dibuat dalam bentuk tabulasi, setelah data diperoleh dilakukan uji normalitas data untuk mengetahui data terdistribusi secara normal atau tidak menggunakan *Shapiro Wilk*, kemudian dilanjutkan *Uji Homogenitas Levene Test*, jika uji normalitas dan homogenitas normal maka dilanjutkan Uji *One Way Anova* dengan menggunakan program *SPPS 16.0 for windows* dengan tingkat signifikansi $p > 0.05$, dengan langkah-langkah sebagai berikut :

a) Uji Normalitas Data ($p > 0.05$)

Untuk pengujian normalitas data digunakan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui data tersebut normal atau tidak normal. Pengujian ini digunakan untuk menentukan tahap analisis berikutnya. Jika data terdistribusi dengan normal maka dilanjutkan uji parametrik dan jika data tidak terdistribusi dengan normal maka dilanjutkan dengan uji non parametric.

b) Uji Homogenitas

Untuk pengujian homogenitas menggunakan *Leven's* untuk mengetahui data homogenitas atau tidak homogen. Pengujian ini digunakan untuk menentukan tahap analisis berikutnya. Jika data Homogen maka akan dilakukan uji parametrik dan jika data tidak homogeny maka akan dilakukan uji non parametrik.

c) Uji Parametrik (*One Way Anova*)

Untuk pengujian perbedaan pengaruh penyembuhan luka tikus putih pada kelompok A, kelompok B, kelompok C, dan Kelompok D.