

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian *true experiment* (experimental sungguhan) dengan menggunakan hewan uji. Hewan uji dibagi menjadi lima kelompok yaitu, kelompok yang diolesi dengan *propolis* salep 2,5%, *propolis* salep 5%, *propolis* salep 7,5%, diolesi *silver sulvadiazine* (kontrol positif), dan kelompok yang tidak diberi perlakuan (kontrol negatif). Berikut ini adalah tabel desain penelitian dan perlakuan:

Tabel 1. Desain penelitian dan perlakuan

Subject	Pra	Perlakuan	Pasca-tes
X1	—	—	O
X2	—	I	O
X3	—	I	O
X4	—	I	O
X5	—	I	O

Keterangan:

- X : Variabel bebas
- X1 : *Primary dressing (Melolin)*
- X2 : *Silver Sulvadiazine*
- X3 : Propolis salep 2,5%
- X4 : Propolis salep 5%
- X5 : Propolis salep 7,5%
- I : Intervensi
- O : Observasi kesembuhan luka

## B. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dan sampel penelitian ini menggunakan tikus putih jantan (*rattus norvegicus*) dari galur *Sprague dawley* sebanyak 25 ekor dengan kriteria sehat (tidak dalam keadaan sakit), tidak memiliki kelainan genetik, umur 2-3 bulan, dan berat 180-230 gram. Jumlah sampel masing-masing tikus diperoleh dari rumus Federer, yaitu:

$$\begin{aligned} (n-1)(t-1) &\geq 15 \\ (n-1)(5-1) &\geq 15 \\ (n-1)(4) &\geq 15 \\ (n-1) &\geq 15/4 \\ (n-1) &\geq 3,75 \\ n &= 3,75 + 1 \\ n &= 4,75 = 5 \text{ ekor} \end{aligned}$$

Selama proses penelitian tidak ada tikus yang mati, semua tikus berada dalam kondisi sehat dan tercukupi nutrisinya karena tikus diberi makan tiap hari.

## C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Biomedis Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) UMY sebagai tempat pemeliharaan dan perlakuan pada hewan uji, laboratorium Farmasi UGM sebagai tempat pembuatan formulasi salep propolis. Penelitian ini dilakukan pada bulan Maret – April 2012.

#### D. Variabel dan Definisi Operasional

##### 1. Variabel Penelitian

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Variable bebas adalah perawatan luka bakar derajat II dengan olesan *propolis* salep berbagai kadar secara topikal.
- b. Variabel terikat adalah kesembuhan luka bakar derajat II.
- c. Variabel terkontrol:
  - 1). Lingkungan : Penempatan tikus di dalam wadah yang ukurannya sama yaitu 30 cm x 20 cm x 10 cm, di dalam ruangan yang sama sehingga suhu dan kelembapan udara yang dapat berpengaruh terhadap luka dapat dikendalikan.
  - 2). Status imunitas: Status imunitas dikendalikan dengan cara memilih tikus yang sehat dan tidak cacat/ kelainan secara kasat mata.
  - 3). Status nutrisi : Dikendalikan dengan cara pemberian makan yang sama sesuai kebutuhan tikus putih.
  - 4). Aktivitas tikus putih : Dapat dikontrol/dikendalikan dengan cara membatasi ruang gerak tikus.
  - 5). Jenis luka: Jenis luka yang dibuat adalah jenis luka yang sama yaitu luka bakar derajat II.
  - 6). Diameter: Diameter luka dikendalikan dengan menggunakan diameter 20 mm.

7). Usia: Usia seluruh sampel adalah tikus yang berusia sama yaitu 2-3 bulan, karena pada usia ini sistem metabolik tikus sudah matang.

8). Infeksi: Semua tikus dikendalikan perawatan luar tertutup untuk menghindari kontaminasi, sehingga faktor infeksi dapat dicegah.

## 2. Definisi Operasional

### a. Luka Bakar Derajat II

Luka bakar derajat II yang dimaksud di dalam penelitian ini adalah luka bakar derajat dua dangkal (*superficial*) yang dibuat pada bagian dorsal dextra tikus putih (*Rattus norvegicus*). Luka bakar dibuat dengan menggunakan alat penginduksi panas yang berdiameter 20 mm dengan suhu 100° C selama 5 detik.

### b. Perawatan luka dengan propolis

Perawatan luka dengan propolis topikal adalah dengan memberikan salep propolis masing-masing 2,5%, 5%, 7,5% pada masing-masing kelompok hewan coba, sebanyak 0,1 ml yang diukur dengan menggunakan spuit insulin, dilakukan setiap 2 hari sekali dengan cara diolesi ke punggung yang sudah dibuat luka bakar derajat II. Perawatan luka bakar dilakukan dengan menerapkan 3 tahap perawatan luka yaitu *cleansing* dengan menggunakan kassa steril dan NaCl 0,9%, *debridement*, dan *dressing*. Skala data adalah skala nominal.

c. Pemberian *silver sulfadiazine*

Perawatan dengan olesan *Silver sulfadiazine* adalah memberi olesan Burnazine® yang mengandung *silver sulfadiazine* 1% ke punggung tikus putih yang sudah dibuat luka bakar derajat II sebanyak 0,1 ml yang diukur dengan menggunakan spuit insulin, dilakukan setiap 2 hari sekali pada sore hari. skala data adalah nominal.

d. Kesembuhan luka bakar

Kesembuhan luka bakar dinilai dengan menggunakan *checklist* perkembangan luka dari Agri 2012 yang telah diuji validitas dan realibilitasnya, Kriteria kesembuhan luka bakar adalah luka dapat dikatakan sembuh apabila luka sudah tertutup epitel secara sempurna, permukaan luka berwarna merah muda (*pink*), tidak terdapat *scar* dan tanda-tanda infeksi juga sudah tidak terlihat lagi. Proses kesembuhan luka dinilai setiap 2 hari sekali dengan dilakukan skoring sesuai kriteria kesembuhan luka dan selanjutnya skor dijumlahkan. Kriteria kesembuhan luka sesuai dengan *checklist* perkembangan luka (*checklist* terlampir). Skala data ini adalah rasio.

## E. Alat dan Bahan Penelitian

### 1. Alat penelitian

Solder yang sudah dimodifikasi, spuit 3 ml, spuit 5 ml, spuit insulin, *loup*, gelas ukur, , penggaris, masker, pencukur bulu, cotton buds, sarung tangan bersih dan steril, pinset (anatomis dan sirugis), kandang tikus, timbangan, dan *checklist* kesembuhan luka.

### 2. Bahan Penelitian

Ekstrak *propolis*, formula basis salep, 25 ekor tikus putih, eter, kasa steril, kapas, akuades, alkohol 70%, Burnazine® (*silver sulvadiazine* 1%), NaCl, antiseptik (saflon), *mellolin*.

## F. Cara Pengumpulan Data

### 1. Pembuatan Bahan Uji

Sediaan uji dibuat dengan menambahkan ekstrak propolis 2,5%, 5% dan 7,5% pada suatu basis salep seperti pada tabel 2. Basis salep dibuat dengan mencairkan lanolin dan basis salep albumin dengan pemanasan, kemudian keduanya dicampur dengan alat homogenizer. Selanjutnya ditambahkan setil alkohol, metilparaben, dan propilparaben. Semua bahan diaduk lagi dengan alat homogenizer. Formula basis salep tersebut kemudian ditambahkan ekstrak propolis sesuai kadar masing-masing dan dicampur dengan mortar stamper. Lalu didiamkan selama 30 menit untuk mendapatkan massa yang kental, sehingga formula salep propolis siap digunakan. Kegiatan pembuatan bahan uji ini dilakukan di

Laboratorium Farmasi UGM oleh ahli farmasi. Di bawah ini adalah tabel formula basis salep yang digunakan untuk membuat salep propolis.

**Tabel 2. Formula Basis Salep**

Bahan	Salep propolis 2,5 %	Salep propolis 5 %	Salep propolis 7,5 %
Ekstrak propolis	2,5	5	7,5
Lanolin	10	10	10
Setil Alkohol	4	4	4
Metil paraben	0,1	0,1	0,1
Propil paraben	0,05	0,05	0,05
Vaselin hingga 100%	100	100	100

#### 1. Pengelompokan Hewan Uji

Sebelum mendapatkan perlakuan semua hewan uji telah diadaptasikan selama satu minggu. Seluruh hewan uji sejumlah 25 ekor ditimbang terlebih dahulu dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih:

Kelompok I: Kelompok hanya menggunakan *primary dressing* (kontrol negatif)

Kelompok II: Kelompok *Silver Sulavdiazine* (kontrol positif)

Kelompok III: Kelompok salep propolis 2,5 %

Kelompok IV: Kelompok salep propolis 5 %

Kelompok V: Kelompok salep propolis 7,5 %

## 2. Induksi Luka Bakar Derajat II

Semua tikus dicukur bersih bulunya pada bagian punggung, kemudian tikus dianastesi dengan menggunakan eter secara inhalasi, Setelah itu, bagian punggung dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70 %. Setelah itu dilakukan proses pembuatan luka bakar derajat dua pada tikus menggunakan alat penginduksi panas yang berdiameter 20 mm dengan suhu 100°C selama 5 detik pada bagian dorsal dextra (Aryenti, 2008).

Karakteristik luka bakar derajat II (*deep*) adalah kerusakan mengenai hampir seluruh bagian dermis. Apendises kulit masih utuh, tidak dijumpai *bullae*, reepitelisasi spontan masih dimungkinkan, penyembuhan biasanya terjadi lebih dari satu bulan (Moenadjat, 2003).

## 3. Pemberian Bahan Uji

Setelah induksi luka bakar, luka yang terjadi diukur diameternya (pengambilan data awal) kemudian tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya. Kelompok I dibiarkan tanpa perlakuan (kontrol negatif), kelompok II diolesi *silver sulvadiazine* (kontrol positif), kelompok III diolesi salep propolis 2,5%, kelompok IV diolesi salep propolis 5%, dan kelompok V diolesi salep propolis 7,5%.

#### 4. Pengamatan dan Pengambilan Data

Pengamatan dilakukan pada kelima kelompok tikus putih setiap 2 hari sekali untuk memantau perkembangan luka dan melakukan perawatan luka. Pengamatan dilakukan secara makroskopik dengan menggunakan loup dan akan dikaji berdasarkan *checklist* yang sudah diuji validitasnya.

Penilaian kesembuhan luka dengan memperhatikan kriteria perkembangan luka bakar derajat II dengan pencatatan menggunakan *checklist*. Pencatatan juga dilakukan 2 hari sekali setelah pengamatan yaitu mengenai karakteristik luka pada masing-masing kelompok perlakuan hingga luka dikatakan masuk dalam kriteria luka sembuh. Kriteria kesembuhan luka bakar derajat II adalah luka sembuh apabila luka sudah menutup dan kering tanpa adanya infeksi.

#### G. Uji Validitas dan Reliabilitas

Fase kesembuhan luka bakar yang dinilai berdasarkan pada instrumen *checklist* perkembangan luka dari Agriyanto 2011 yang telah diuji reliabilitas dengan hasil  $\alpha=0.910$ . Uji validitas dilakukan di AMC (Asri Medical Centre) pada dua pasien dengan dua *observers*, serta pada pasien *home care* dengan 6 *observers* dan didampingi oleh 2 pakar. Reliabilitas lamanya proses kesembuhan luka diamati dengan seksama selama proses perawatan dilakukan, dengan memperhatikan fase kesembuhan luka. Penelitian diamati dan dinilai oleh peneliti dengan kriteria dan tahap perkembangan luka sebagai acuan. Tahapan perkembangan luka yang diamati adalah *wound base*, ukuran luka, tanda

infeksi, kedalaman luka, jumlah eksudat, jenis eksudat, tepi luka dan bau luka.

#### **H. Pengolahan dan Metode Analisis Data**

Pengolahan data dilakukan dengan bantuan computer yaitu dengan terlebih dahulu data diuji normalitasnya dengan menggunakan *Saphiro Wilk*. Hasil uji normalitas menunjukka bahwa sebaran data tidak normal, sehingga dilakukan uji hipotesis dengan menggunakan *Krusskal Wallis* pada semua kelompok penelitian. Kemudian dilkukan juga uji Mann-Whitney untuk melihat signifikansi antar tiap 2 kelompok penelitian.

#### **I. Etik Penelitian**

Dalam penelitian ini terdapat masalah etik yaitu pada saat induksi luka bakar pada punggung tikus putih (*Rattus norvegicus*). Pada saat induksi, probandus akan merasakan nyeri dan panas. Namun, hal ini dapat diatasi dengan pemberian anastesi sehingga probandus tidak akan merasakan nyeri atau kesakitan saat diinduksi luka bakar. Penelitian ini juga sudah lulus kelayakan etik penelitian di badan Etik FKIK UMY.

**J. Diagram Prosedur Penelitian**