

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *quasy experiment design* laboratorium *in vitro* pada hewan uji. Dimana hewan uji dilakukan pengamatan setelah diberikan intervensi.

B. Populasi dan sampel

Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* sebanyak 30 ekor dalam keadaan sehat, tidak mempunyai kelainan genetik, umur \pm 2 bulan dengan berat 200-250 gram.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY dan waktu penelitian ini selama 2 bulan (Maret-April).

D. Variable Penelitiandan Definisi Oprasional

1. Variabel Bebas: Konsentrasi gel lendir bekicot (5%, 10% dan 20%), Bioplacenton®.
2. Variabel Terikat: Penyembuhan luka (luas luka dan lama waktu penyembuhan luka)
3. Variabel Terkendali:
 - a. Subyek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *Sprague Dawley* umur \pm 2 bulan, berat 200-250 gram.
 - b. Pemilihan subyek penelitian dilakukan secara random.

- c. Umur, berat badan, galur yang digunakan dan kondisi percobaan dibuat hampir seragam karena tidak bisa dikendalikan untuk mengurangi adanya variasi biologis dan faktor-faktor yang dapat mempengaruhi percobaan.
- d. Semua tikus dikondisikan dan diadaptasikan sama dalam hal makanan dan lingkungannya.

Definisi Operasional

1. Luka bakar derajat dua dalam penelitian ini adalah luka bakar derajat dua yang dibuat pada bagian dorsal dextra tikus putih (*Rattus norvegicus*), Dengan menempelkan logam tembaga murni dengan diameter 20 mm pada suhu 100°C dengan spesifikasi 80 watt, 240 volt selama sepuluh detik pada bagian *dorsal dextra* tikus putih (Sarkhail 2011).

2. Perawatan Luka

a. Gel lendir bekicot

Perawatan luka bakar dengan menggunakan gel lendir bekicot masing-masing kelompok dengan kadar 5%, 10%, 20%. Bekicot yang digunakan adalah spesies *Achatina fulica*. Basis gel (bahan pembawa) menggunakan gel hidrofilik, yaitu karbopol 934. Penelitian ini menggunakan skala nominal yaitu dengan membandingkan antara yang menggunakan gel lendir bekicot dan yang tidak.

b. Bioplacenton

Bioplacenton yang terbuat dari 10% ekstrak plasenta dan 0.5% neomisin sulfat dalam bentuk sediaan gel. Penelitian ini menggunakan skala

nominal yaitu dengan membandingkan antara yang menggunakan gel bioplacenton dan yang tidak.

3. Kesembuhan Luka

Penentuan kesembuhan luka bakar pada tikus putih adalah dengan melihat secara makroskopik diameter luka bakar dari tikus putih sudah menjadi 0 mm (penutupan epitelisasi sempurna). Kesembuhan luka juga dinilai meliputi ada atau tidaknya tanda-tanda seperti infeksi, pembengkakan (udema), eksudat, granulasi dan epitelisasi serta ukuran luka tersebut. Luka juga dikatakan sembuh apabila sudah membaiknya kontinuitas pada setiap lapisan kulit dan sudah tidak mengganggu aktifitas normal. Peneliti menggunakan skala data rasio dalam kriteria penyembuhan luka pada hewan coba, yaitu dengan membandingkan perbedaan waktu antara enam kelompok penelitian dengan perhitungan jumlah hari dari masa penyembuhan luka.

E. Instrument Penelitian

Alat-alat penelitian adalah alat pembuat luka bakar yaitu Soldier yang sudah dimodifikasi (diameter 2cm), alat pencukur rambut, pinset bedah, jangka sorong, sarung tangan steril, masker, spidol, *loop*, flakon steril, kandang tikus, timbangan analitik dan kamera.

Bahan penelitian adalah lendir bekicot, basis gel, Bioplacenton®, larutan Eter, kapas dan alkohol 70%.

F. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan Sediaan Gel Lendir Bekicot

Lendir bekicot diambil dengan cara cangkang bekicot dibersihkan terlebih dahulu dan dioleskan alkohol 70% kemudian cangkang bekicot dipecahkan pada bagian *apex* dengan pisau. Lendir yang mengalir pada ujung cangkang diambil dengan jarum suntik *disposable* dan dimasukkan dalam botol volumetrik kemudian stok lendir bekicot disterilkan dengan metode filtrasi (Nnamani and Adikwu, 2005).

Sediaan gel lendir bekicot dibuat dengan dasar gel (bahan pembawa) adalah basis gel dengan kadar lendir bekicot 5%, 10% dan 20%. Masing-masing formula antara basis pembawa akan dicampur dan digerus hingga homogen dan didiamkan selama tiga puluh menit sampai kental dan formula gel lendir bekicot siap digunakan.

Tabel 1. Formula Basis Gel

Bahan	Sediaan Uji			
	Basis gel	Gel lendir bekicot 5%	Gel lendir bekicot 10%	Gel lendir bekicot 20%
Gel lendir bekicot	0	5	10	20
Carbopol 934	2	2	2	2
TEA	1,65	1,65	1,65	1,65
Metilparaben	0,1	0,1	0,1	0,1
Propilparaben	0,05	0,05	0,05	0,05
Air hingga 100%	100	100	100	100

Keterangan : semua dalam satuan gram.

2. Pengelompokan Hewan Uji

Sebelum mendapatkan perlakuan, semua hewan uji telah diadaptasikan selama satu minggu. Seluruh hewan uji berjumlah 30 ekor yang telah

ditimbang terlebih dahulu dan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih:

- Kelompok I : Kelompok tanpa perlakuan (kontrol negatif I)
- Kelompok II : Kelompok basis gel (kontrol negatif II)
- Kelompok III : Kelompok Bioplacenton® (kontrol positif)
- Kelompok IV : Kelompok gel lendir bekicot 5%
- Kelompok V : Kelompok gel lendir bekicot 10%
- Kelompok VI : Kelompok gel lendir bekicot 20%

3. Induksi luka bakar

Semua tikus dicukur bersih di bagian punggungnya, kemudian dianestesi menggunakan Ether 75% dengan dosis 2 ml. Setelah itu, bagian punggungnya dibersihkan dengan kapas yang dibasahi alkohol 70%. Pembuatan luka bakar dengan menempelkan logam tembaga murni dengan diameter 20 mm pada suhu 100°C dengan spesifikasi 80 watt, 240 volt selama sepuluh detik pada bagian *dorsal dextra* tikus putih (Sarkhail 2011).

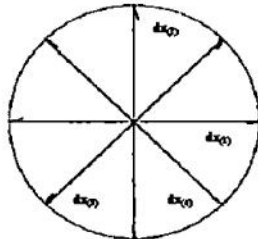
4. Pemberian perlakuan bahan Uji.

Sesaat setelah dilakukan perlakuan, luka dialiri atau dikompes dengan air selama 5 menit untuk menurunkan suhu jaringan. Kemudian diukur diameternya dan tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya. Perawatan luka meliputi *cleansing*, *debridement*, dan *dressing*. Kelompok I hanya diberikan *secondary dressing*, kelompok II diberikan perawatan luka dengan diolesi basis gel, kelompok III diberikan perawatan luka dengan diolesi Bioplacenton® dan kelompok IV, V, VI diberikan perawatan luka dengan

diolesi gel lendir bekicot 5 %, 10 % dan 20 %. Pemberian gel lendir bekicot, basis gel, maupun Bioplacenton® dilakukan setiap hari sekali sampai luka sembuh (diameter 0 mm).

5. Pengamatan dan pengambilan data

Pengamatan dan pengambilan data makroskopis kesembuhan luka dapat dilakukan dengan pengukuran diameter luka setiap hari terus-menerus sampai luka sembuh dengan indikatornya diameter luka menjadi nol. Luka yang terjadi diukur diameternya dalam mm.



Gambar 2. Cara mengukur diameter luka (Suratman, 1996)

Rumus menghitung rata-rata diameter luka:

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

keterangan:

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

dx_{(1),(2),(3) dan (4)} : diameter luka diukur dalam berbagai arah.

G. Analisa Data

1) Perhitungan persentase penyembuhan

Metode untuk menilai waktu penyembuhan luka bakar adalah modifikasi metode Morton yaitu waktu penyembuhan dihitung dalam

hari berdasarkan pada indikator kesembuhan. Indikator kesembuhan adalah diameter luka yang diukur dan persentase penyembuhan yang dihitung menggunakan rumus persentase.

Setelah hasil diameter luka didapat kemudian dilakukan perhitungan persentase penyembuhan luka dengan menggunakan rumus persentase sebagai berikut:

$$P_x = \frac{d_1^2 - dx^2}{d_1^2} \times 100 \%$$

keterangan:

P_x : persentase penyembuhan hari ke-x

d_1 : diameter luka hari pertama

dx : diameter luka hari ke-x

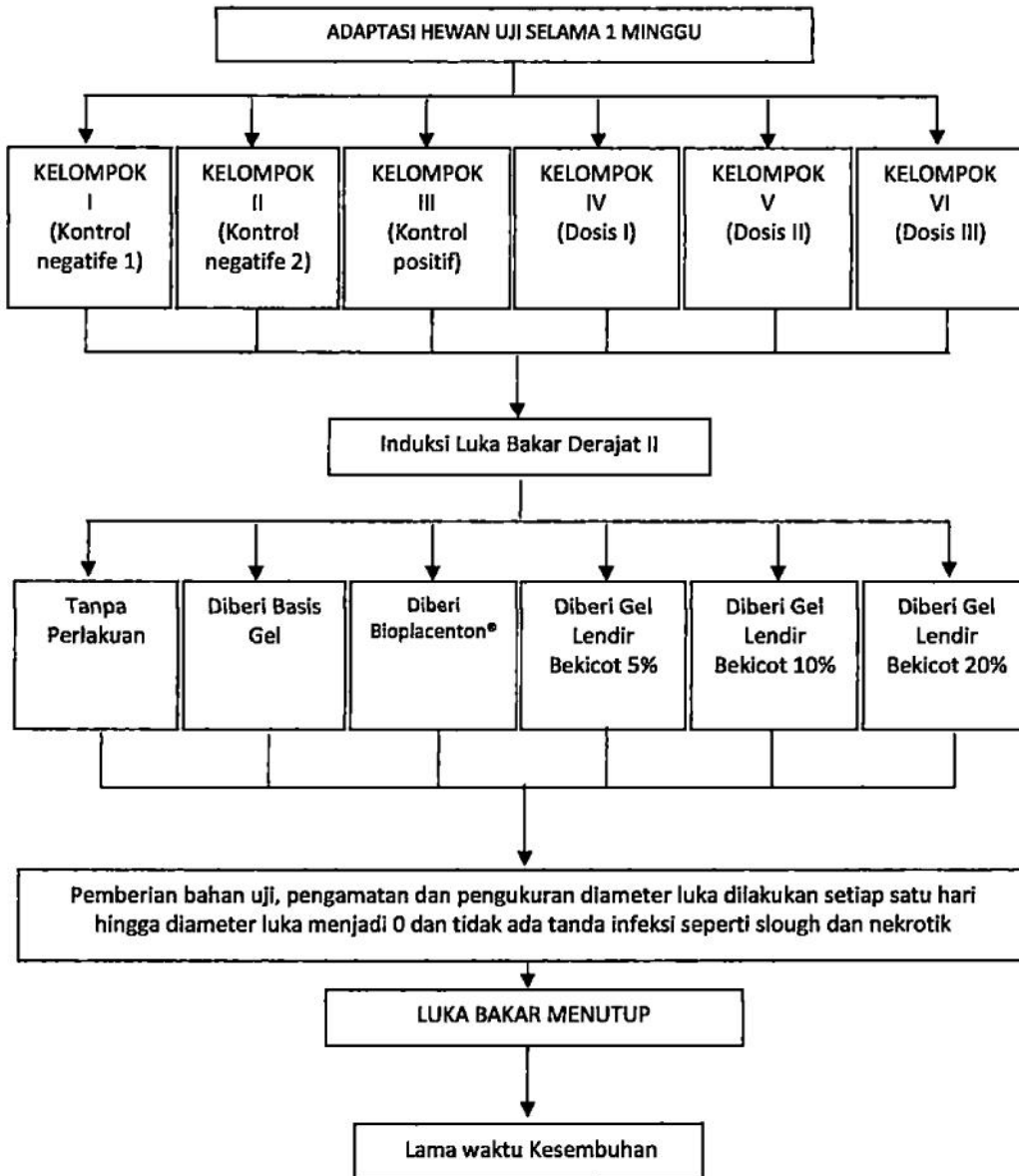
2) Pengolahan data dengan statistik

Data yang diperoleh meliputi waktu penyembuhan (dalam hari) dan persentase penyembuhan yang merupakan data berskala rasio. Data waktu penyembuhan serta prosentase penyembuhan dilakukan uji normalitas yang kemudian dilanjutkan uji homogenitas, namun pada data waktu penyembuhan uji dilakukan dengan *one-way* anova dan posthoc LSD, dan data prosentase kesembuhan dilakukan dengan *Kruskal-Wallis Test* dikarenakan syarat uji *one-way* anova tidak terpenuhi.

Dari hasil penelitian yang dilakukan pada tikus putih *Sparague dawley* mengenai pengaruh pemberian gel lendir bekicot (*Achatina fulica*) terhadap penyembuhan luka bakar pada kulit tikus putih, dapat

disimpulkan bahwa penyembuhan luka bakar pada kulit tikus putih yang diberi gel lendir bekicot khususnya pada dosis 20% dapat mempercepat proses penutupan luka ($19,80 \pm 0,83$ hari).

2) Diagram Prosedur Penelitian



Gambar 2. Diagram prosedur penelitian

H. Etik penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel hewan uji berupa tikus putih, pada penelitian ini yaitu di perlakukan selayaknya makhluk hidup yaitu diadaptasi terlebih dahulu sebelum digunakan. Sebelum digunakan diamati kesehatan fisiknya berupa keaktifan bergerak, dapat makan dan minum secara normal, tidak terdapat cacat tubuh, tidak menyendiri dari teman-teman yang lain. Penelitian ini juga membuat hewan uji yang sehat menjadi menderita luka. Hal tersebut juga peneliti memperhatikan etik-etik dalam perlakuannya. Etik yang dilakukan yaitu antara lain, tindakan anastesi sebelum dan selama pembuatan luka untuk menghilangkan rasa nyeri tersebut, cara memegang tikus, cara memberikan perlakuan dengan tempat. Memperlakukan tikus seperti layaknya hewan normal dengan cara tetap memberikan makan dan minum, perawatan luka untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka.