

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan rancangan penelitian *post-test only control design*.

#### **B. Tempat dan Waktu**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY). Penelitian ini dilakukan pada bulan April-Mei 2012.

#### **C. Subyek Penelitian**

Subyek penelitian ini adalah 15 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Uji FKIK UMY. Subyek penelitian ini memiliki kriteria sebagai berikut: usia sekitar 2-3 bulan, jenis kelamin jantan, dan memiliki berat badan  $\pm$  200-300 gram.

#### **D. Variabel Penelitian**

##### **1. Variable bebas**

Salep ekstrak metanol biji asam jawa (*Tamarindus indica*) dengan konsentrasi 20%, 25% dan 50%.

##### **2. Variable tergantung**

Waktu penyembuhan dan diameter luka bakar pada masing-masing subjek penelitian.

##### **3. Variabel terkontrol**

Uji 2.3.1.1. Uji ini dilakukan dengan jantan, berat badan subyek  $\pm$  200-300 gram

## E. Definisi Operasional

1. Biji asam jawa yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari daerah Lendang Nangka, Kabupaten Lombok Timur, Provinsi Nusa Tenggara Barat.
2. Ekstrak metanol biji asam jawa adalah hasil ekstraksi serbuk biji asam jawa dengan penyari metanol. Ekstrak metanol biji asam jawa dalam penelitian ini dibuat dalam sediaan salep. Karena tidak terdapat referensi mengenai konsentrasi ekstrak metanol biji asam jawa untuk penyembuhan luka bakar, maka pengambilan konsentrasi ekstrak yang digunakan berdasarkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak metanol biji asam jawa terhadap bakteri-bakteri penginfeksi luka bakar. Dalam penelitian sebelumnya (Setyabella, 2012) didapatkan KBM ekstrak metanol biji asam jawa terhadap bakteri gram positif adalah 25% dan bakteri gram negatif yaitu 0,781%. Sehingga konsentrasi salep ekstrak metanol biji asam jawa yang diujikan adalah 25%. Salep dengan konsentrasi 20% dan 50% digunakan sebagai pembanding dalam penelitian ini.
3. Dalam penelitian ini terdapat 3 konsentrasi salep ekstrak metanol biji asam jawa, yaitu:
  - a. Salep dengan konsentrasi 20% adalah 20 gram ekstrak metanol biji asam jawa murni dicampurkan dalam 100 gram bahan salep.
  - b. Salep dengan konsentrasi 25% adalah 25 gram ekstrak metanol biji asam jawa murni dicampurkan dalam 100 gram bahan salep.
  - c. Salep dengan konsentrasi 50% adalah 50 gram ekstrak metanol biji asam jawa murni dicampurkan dalam 100 gram bahan salep.

4. Luka bakar yaitu luka termal yang diinduksi menggunakan alat penginduksi luka bakar berdiameter 2 cm dengan suhu 100°C selama 5 detik.
5. Waktu penyembuhan luka diamati dari diameter luka bakar pada setiap hewan uji. Pada awal induksi, luka bakar pada hewan uji berdiameter 2 cm. Kemudian luka pada hewan uji diukur setiap hari sebelum memberi perlakuan sesuai kelompok masing-masing. Luka dikatakan sembuh apabila luka bakar pada hewan uji telah berdiameter 0 cm.
6. Perawatan hewan uji pada penelitian ini adalah sama untuk setiap kelompoknya. Perawatan meliputi membersihkan kandang dan memberi makan setiap hari. Perbedaan hanya pada perlakuan pemberian obat luka bakar, tiga kelompok mendapatkan perawatan biasa dan pemberian salep ekstrak metanol biji asam jawa dengan konsentrasi berbeda, satu kelompok sebagai kontrol positif dengan perawatan biasa dan pemberian bioplacenton, serta satu kelompok sebagai kontrol negatif dengan perawatan biasa dan tanpa pemberian obat luka bakar.

## **F. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

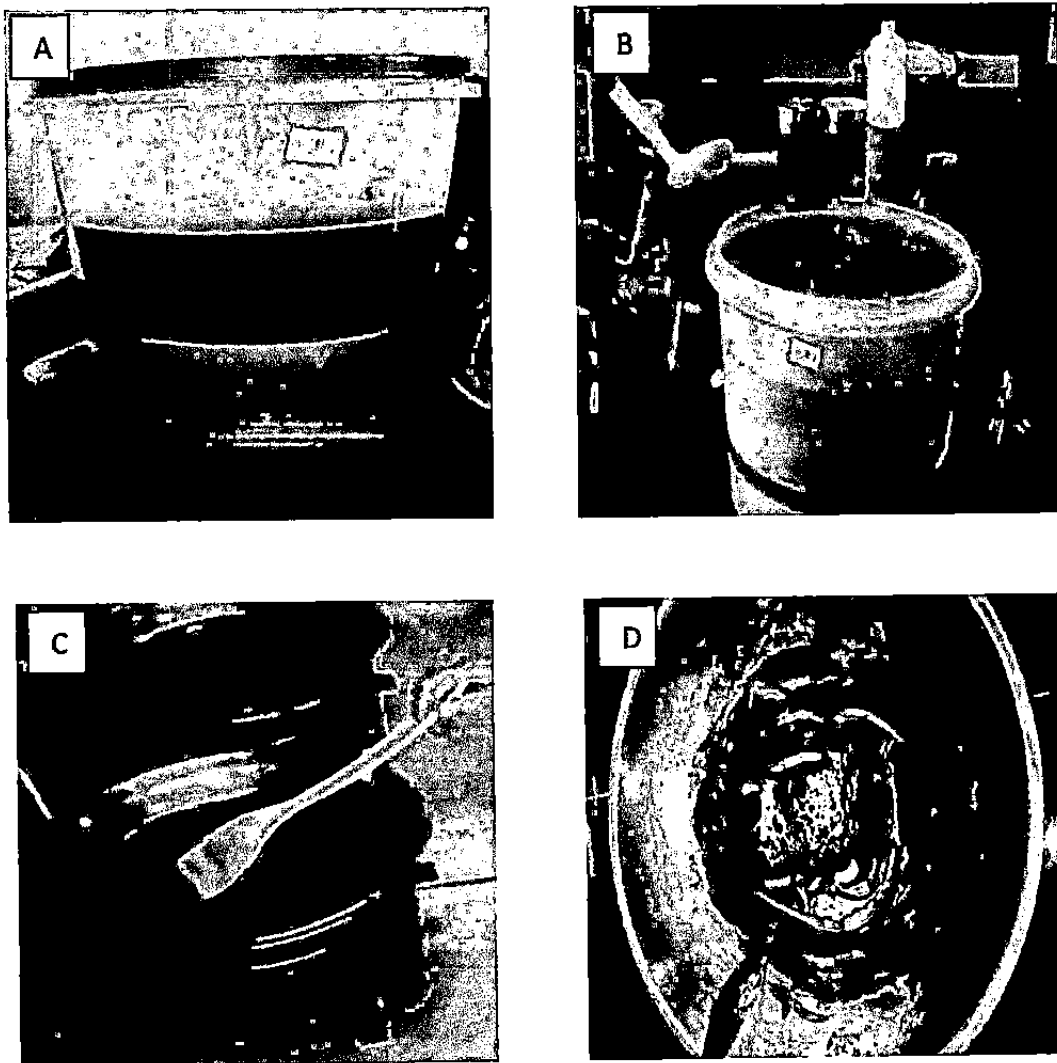
Solder 80 watt, 240 volt yang telah dimodifikasi ujungnya menggunakan tembaga murni berbentuk lingkaran dengan diameter 20 mm, aether, masker, sarung tangan, alat pencukur rambut, toples ukuran besar, pisau, jangka sorong,

## 2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih sebagai objek penelitian dan ekstrak metanol biji asam jawa disertai bahan-bahan campuran salep.

## G. Prosedur Penelitian

### 1. Pembuatan ekstrak metanol biji asam jawa



Gambar 3 : A. Maserasi biji asam jawa  
B. Penyaringan biji asam jawa  
C. Pemanasan biji asam jawa  
D. Ekstrak metanol biji asam jawa

Bagian buah asam jawa yang digunakan pada penelitian ini adalah biji yang terdapat dibagian dalam buah yang berwarna hitam kecoklatan dan sangat keras. Biji asam jawa yang diperoleh kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 60°C sampai kering. Setelah itu, biji asam jawa ditumbuk sehingga bagian dalam biji yang berwarna putih terlepas dari bagian selubung biji yang berwarna hitam kecoklatan. Bagian biji yang berwarna putih ini diambil untuk digunakan dalam penelitian ini. Tumbukan biji asam jawa kemudian diblender sampai menjadi serbuk. Serbuk biji asam jawa diekstrak dengan penyari metanol dengan perbandingan 1:5 (1 kg serbuk memerlukan penyari metanol 5 liter) menggunakan teknik maserasi. Serbuk biji asam jawa yang telah direndam (maserasi) dengan larutan metanol selama 72 jam kemudian diambil filtratnya dengan melakukan penyaringan. Sisa hasil penyaringan direndam kembali (re-maserasi) menggunakan larutan metanol dengan perbandingan 1:2,5 (1 kg serbuk memerlukan penyari metanol 2,5 liter) selama 24 jam. Setelah itu, hasil re-maserasi disaring kembali untuk diambil filtratnya. Kemudian, hasil saringan diuapkan dalam *rotary vacuum avaporator* pada penangas air. Pada akhir proses ini, akan didapatkan ekstrak murni berupa cairan kental dari biji asam jawa.

## 2. Pembuatan salep ekstrak metanol biji asam jawa

Salep dibuat dengan 2 metode umum, yaitu pencampuran dan peleburan. Metode ini tergantung pada sifat-sifat bahannya. Dalam metode pencampuran, semua komponen dicampur bersama-sama sampai sediaan yang rata tercapai. Komponen-komponen dari salep dicampur dalam lumpang dengan sebuah alu

lebih hancur. Lalu ekstrak metanol biji asam jawa dicampur dengan sebagian bahan dasar salep sampai merata. Penambahan sejumlah air dibutuhkan agar hasilnya lebih lunak atau setengah cair. Setelah mendapatkan hasil yang diinginkan beberapa komponen dari salep dicampurkan dengan melebur bersama dan didinginkan dengan pengadukan yang konstan sampai mengental.



Gambar 4: Salep ekstrak metanol biji asam jawa

Sumber gambar : dokumen pribadi

### 3. Pengelompokan hewan uji

Jumlah subyek penelitian adalah 15 ekor tikus putih. Subyek dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor tikus putih.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok I : kelompok yang diinduksi luka bakar dan diberi salep ekstrak metanol biji asam jawa dengan konsentrasi 20%.
- b. Kelompok II : kelompok yang diinduksi luka bakar dan diberi salep ekstrak metanol biji asam jawa dengan konsentrasi 25%.
- c. Kelompok III : kelompok yang diinduksi luka bakar dan diberi salep ekstrak

metanol biji asam jawa dengan konsentrasi 50%

- d. Kelompok IV : kelompok kontrol positif, diinduksi luka bakar dan diberi bioplacenton.
- e. Kelompok V : kelompok kontrol negatif, diinduksi luka bakar dan tanpa perlakuan.

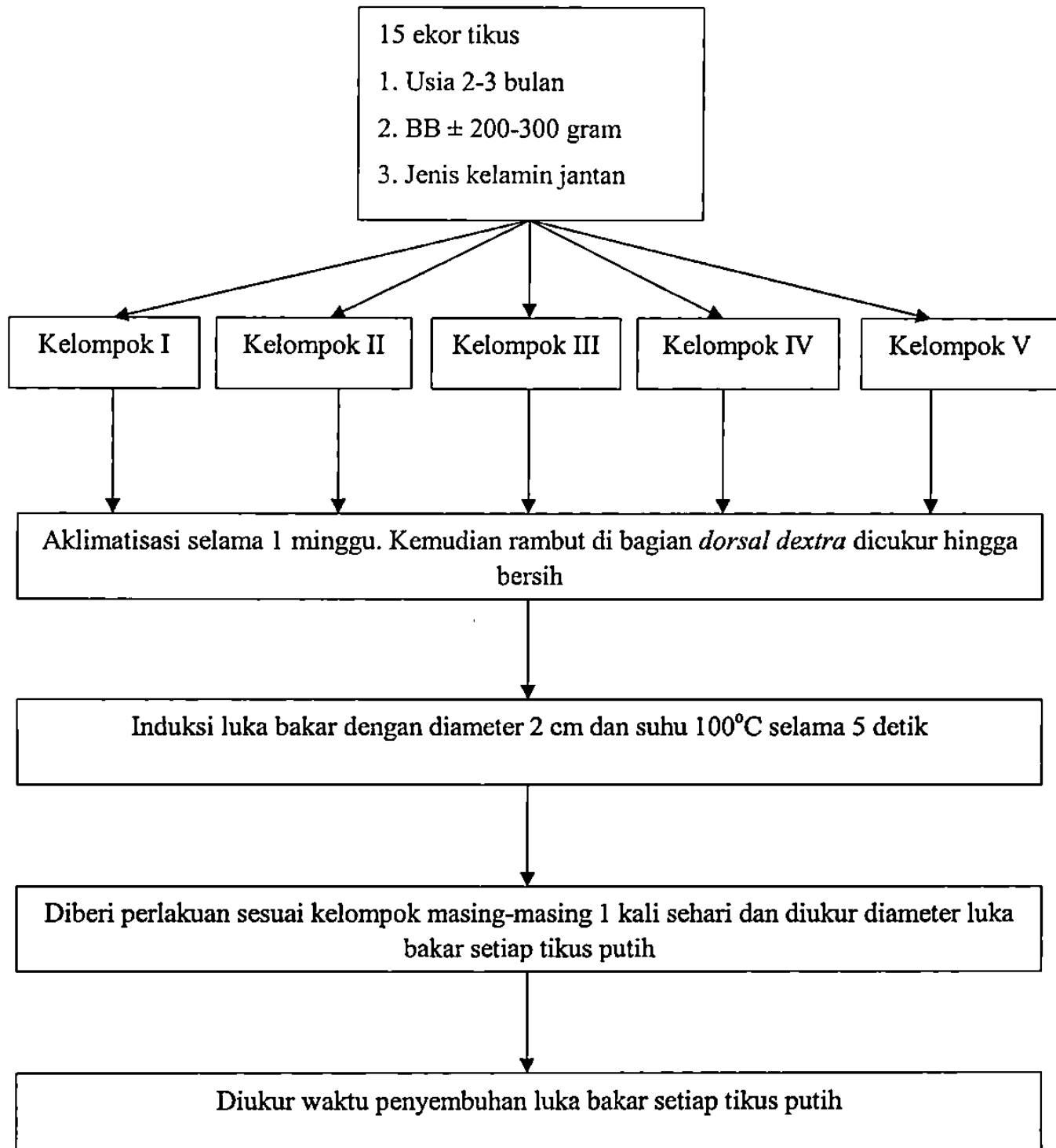
#### 4. Induksi luka bakar

Penelitian dimulai dengan mengadaptasikan tikus putih selama satu minggu tanpa memberikan perlakuan sebelum penelitian. Rambut pada bagian *dorsal dextra* tikus putih dicukur hingga bersih. Tikus dianestesi menggunakan aether secara inhalasi dengan dimasukkan kedalam toples yang berisi anastesi. Kemudian tikus diinduksi untuk membuat luka bakar termal derajat 1 dengan alat penginduksi luka bakar termal berdiameter 2 cm dan bersuhu 100° C selama 5 detik.

#### 5. Uji efek salep ekstrak metanol biji asam jawa

Setelah diinduksi, tikus putih diberikan perlakuan satu kali sehari secara teratur sesuai kelompok masing-masing. Salep dan krim yang diberikan ke kelompok perlakuan memiliki jumlah yang sama yaitu sebanyak 0,3 ml per hari dengan pengukuran menggunakan spuit 1 ml sehingga lebih akurat. Penilaian yang dilakukan pada hewan uji berdasarkan waktu sampai luka menjadi kering dan diameter luka pada masing-masing perlakuan

## H. Skema Prosedur Penelitian





## I. Analisis Data

Data hasil percobaan luka bakar dibandingkan dari waktu penyembuhan luka menggunakan terapi salep ekstrak metanol biji asam jawa, kontrol positif dan kontrol negatif. Penilaian kesembuhan luka dilakukan dengan cara observasi sampai luka bakar sembuh yang ditandai dengan menutupnya kembali luka (diameter luka 0 cm). Hasil penelitian ini diuji menggunakan metode analitik *Shapiro-Wilk* test karena subyek penelitian  $\leq 50$  ekor. Kemudian analisis data dilakukan dengan uji komparasi *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan metode *Post Hoc Test* untuk melihat kelompok mana yang berbeda dan kelompok mana yang tidak berbeda serta untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antara