

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Menurut Sudigdo & Sofyan Ismael (2002), desain penelitian merupakan rancangan penelitian yang disusun sedemikian rupa sehingga dapat menuntut peneliti untuk dapat memperoleh jawaban terhadap pertanyaan penelitian. Sudigdo & Sofyan Ismael juga menyebutkan bahwa desain penelitian merupakan alat penelitian untuk mengontrol atau mengendalikan berbagai variabel yang berpengaruh pada suatu penelitian. Penelitian ini menggunakan desain penelitian *True Experiment Design* dengan *post test control group*, karena dalam penelitian ini menggunakan kelompok *experiment* dan kelompok kontrol.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Menurut Arikunto (2006), Populasi adalah keseluruhan subjek penelitian, sedangkan sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti. Dalam penelitian ini populasi dan sampel yang digunakan adalah tikus putih yang berjumlah 15 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. 5 ekor tikus putih diberi perlakuan dengan olesan gel daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*).
2. 5 ekor tikus putih diberi perlakuan dengan olesan *Povidone Iodine*.
3. 5 ekor tikus putih tidak diberi perlakuan sebagai kelompok kontrol.

a. Teknik Sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini adalah *purposive quota sampling*. Kemudian untuk pengelompokanya menggunakan *simple random sampling*.

b. Kriteria Sampel

Pemilihan hewan uji idealnya harus dipilih semirip mungkin dengan kondisi manusia, utamanya dalam hal absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi terhadap senyawa uji. Hal ini dilakukan untuk memperkecil perubahan respon antar jenis dan dalam satu jenis hewan uji terhadap efek senyawa uji. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih *galur wistar*. Tikus *wistar* saat ini menjadi salah satu yang strain tikus paling populer yang digunakan untuk penelitian laboratorium. Hal ini ditandai oleh kepala lebar, panjang telinga, dan memiliki ekor panjang yang selalu kurang dari panjang tubuhnya. Keuntungan penggunaan tikus putih *galur wistar* terutama yang masih muda adalah pada umumnya mempunyai nafsu makan yang kuat dan masih dalam taraf pertumbuhan yang optimal sedangkan kerugiannya berat badannya relatif belum stabil dan sering menunjukkan fluktuatif. Secara hormonal tikus putih jantan lebih stabil dibandingkan dengan tikus putih betina karena tikus putih betina mengalami masa *esterus*.

Penentuan kriteria sampel sangat membantu peneliti untuk menghindari bias hasil penelitian (Sudigdo & Sofyan Ismael, 2002).

1) Kriteria Inklusi

Menurut Sudigdo & Sofyan Ismael (2002), Kriteria inklusi merupakan persyaratan umum yang harus dipenuhi oleh subyek agar dapat diikutsertakan ke dalam penelitian. Dalam penelitian ini kriteria inklusi yang ditetapkan untuk diteliti adalah tikus putih jantan *galur wistar* yang berumur antara 3-4 bulan atau yang cukup umur dengan berat badan 250-300 gram, dalam keadaan sehat, aktif bergerak dan tidak mempunyai kelainan genetik.

a) Jenis kelamin tikus putih

Proses penelitian ini menggunakan tikus putih jantan, karena terakait dengan aktifitas tikus putih yang kemungkinan berbeda antara jantan dan betina, serta agar tidak terjadi bias dalam hasil penelitian.

b) Berat dan Usia

Tikus putih digunakan adalah berusia 3-4 bulan dengan berat rata rata 250-300 gram, karena pada usia dan berat ini tikus sudah cukup mature, karena salah satu faktor penyembuhan luka adalah berat dan usia.

c) Pergerakan dan kesehatan

Tikus putih harus dengan tingkat kesehatan dan pergerakan yang baik, karena mencit yang tidak sehat, tidak aktif dan mengalami kelainan tidak bisa dijadikan subjek penelitian dan hal ini sangat berpegaruh pada saat dan hasil penelitian.

2) Kriteria Eksklusi

Menurut Sudigdo & Sofyan Ismael (2002), Kriteria eksklusi adalah keadaan yang menyebabkan subjek yang memenuhi kriteria inklusi tidak dapat diikutsertakan penelitian. Dalam penelitian ini kriteria eksklusi adalah tikus putih yang sakit atau mati pada saat proses penelitian berlangsung.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2013, yang bertempat di Laboratorium Hewan Uji Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: Perawatan luka insisi dengan diberi olesan gel daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*), povidone iodine, atau tanpa perlakuan pada tikus putih.
2. Variabel terikat: Waktu kesembuhan luka insisi pada tikus putih yang diolesi gel daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*), povidone iodine, atau tanpa perlakuan.
3. Variabel pengganggu:
 - a. Oksigenisasi: dikendalikan dengan penempatan kandang dilingkungan yang sama.
 - b. Jenis luka yang dibuat: dikendalikan dengan pembuatan luka yang sama yaitu sepanjang ± 2 cm dan kedalaman ± 2 mm.
 - c. Status nutrisi: dikendalikan dengan cara pemberian makan yang sama sesuai kebutuhan tikus putih.

- d. Pergerakan tikus putih: dikendalikan dengan cara membatasi ruang gerak tikus putih.

E. Definisi Operasional

1. Luka Insisi

Luka insisi adalah luka yang dibuat dengan cara menyayat punggung tikus putih menggunakan pisau bedah steril. Sayatan sepanjang ± 2 cm, kedalaman ± 2 mm dengan hati-hati menggunakan pisau bedah steril yang diberi batas untuk mendapatkan hasil sayatan yang sama.

2. Perawatan luka

Perawatan luka adalah pemberian perlakuan pada luka sesuai dengan prinsip steril dan tahapan perawatan luka yaitu pembersihan menggunakan *NaCl* fisiologis, *debridement* apabila diperlukan, kemudian yaitu dengan olesan gel daun lamtoro, *povidone iodine* atau membiarkan luka tanpa perlakuan. Perawatan luka pada penelitian ini menggunakan perawatan luka terbuka karena memiliki beberapa keuntungan diantaranya : lebih praktis dan efisien, mudah diobservasi apabila terjadi infeksi dan waktu yang dibutuhkan untuk penyembuhan lebih singkat.

a. Perawatan luka dengan olesan gel daun lamtoro (*leucaena leucocephala*)

Gel daun lamtoro dibuat menggunakan daun lamtoro yang dipetik dari pohon dengan keadaan yang masih segar. Kemudian daun tersebut diekstraksi menggunakan etanol dengan metode *macerasi*. Kemudian akan didapatkan ekstrak etanolik daun lamtoro. Setelah itu ekstrak etanolik daun lamtoro akan diformulasikan menjadi gel dengan konsentrasi sebesar 5% dan 10%.

b. Perawatan luka dengan povidone iodine

Povidone iodine yang dipakai adalah obat antiseptik yang dijual dipasaran, bersifat antibakteri, dan irritable terhadap kulit. Terapi perawatan luka dengan karakter luka insisi yang sama pada tikus putih, dengan cara diolesi *povidone iodine* pada bagian luka yang sudah dibersihkan. Kemudian luka diamati kesembuhannya.

c. Perawatan luka tanpa perlakuan

Perawatan luka insisi tanpa perlakuan adalah perawatan luka insisi tetap dibersihkan menggunakan NaCl 0,9% fisiologis dan tanpa diberikan tambahan apapun dalam proses perawatannya.

3. Kesembuhan luka insisi

Kesembuhan luka adalah kembalinya jaringan ke kondisi semula seperti sebelum terjadinya luka. Kesembuhan luka insisi dinilai dari waktu yang diperlukan sampai luka sembuh 100% dan proses perkembangan luka dengan kriteria meliputi ukuran luka, terdapat tanda infeksi atau tidak, adanya eksudat, edema, granulasi dan epitelisasi luka. Luka dikatakan sembuh 100% apabila ukuran luka 0 cm, tidak ada tanda infeksi, tidak terdapat eksudasi, tidak ada edema, granulasi 100% dan terdapat epitelisasi atau terbentuknya jaringan baru. Selama proses pengamatan diamati menggunakan loup dan didokumentasi secara visual dengan kamera. Kesembuhan luka insisi diamati selama 24 hari sesuai dengan proses penyembuhan luka secara normal pada fase inflamasi sampai dengan fase maturasi. Proses kesembuhan luka diberikan skor sesuai kriteria kesembuhan setiap hari dan dinilai sesuai

dengan kriteria kemudian skor dijumlahkan. Kriteria sesuai dengan tabel *checklist* skor proses kesembuhan luka di lampiran.

F. Instrumen penelitian

1. Alat penelitian
 - a. Pisau bedah dengan pembatasan kedalaman luka.
 - b. Kasa steril
 - c. Kamera
 - d. Pengerok bulu
 - e. Sarung tangan
 - f. Kandang
 - g. Kom steril
 - h. Penggaris
 - i. Pinset anatomis
 - j. Pinset surgis
 - k. Bak instrumen
 - l. Bengkok
 - m. Gunting

2. Bahan penelitian

- a. Gel daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)
- b. Povidone iodine
- c. NaCl 0,9 %

G. Jalannya Penelitian

1. Bahan

a. Persiapan ekstraksi etanol daun lamtoro

- 1) Daun lamtoro diperoleh di pekarangan sekitar perumahan Alam Brajan
- 2) Daun ditimbang dengan berat kurang lebih 1000 gram (berat basah)
- 3) Kemudian keringakan dengan dijemur sinar matahari sampai kering/
dikeringkan menggunakan *oven*.
- 4) Daun lamtoro yang sudah kering dihaluskan untuk dibuat serbuk menggunakan mesin pengiling setelah jadi dalam bentuk bubuk kemudian di lakukan tahap ekstraksi dengan metode *maserasi*.
- 5) Serbuk daun lamtoro yang didapatkan dimasukkan ke dalam wadah, setelah itu ditambahkan pelarut *etanol* (alkohol 96%) dengan perbandingan 10 : 1.
- 6) Kemudian direndam selama 5 hari dengan melakukan pengadukan secara berkala.
- 7) Setelah itu dilakukan penampungan *filtrat*

- 8) Ampas yang didapatkan dari penyaringan kemudian direndam kembali dengan menggunakan *etanol* 96%. Prosedur ini dilakukan sebanyak 3 kali.
- 9) Setelah filtrat didapatkan maka dilakukanlah *evaporasi* dengan menggunakan evaporator hingga dihasilkan ekstrak semi padat *etanolik* daun lamtoro.
- 10) Kemudian keringkan dalam *oven* bersuhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kental *etanolik* daun lamtoro.
- 11) Kemudian hasil ekstrak etanolik daun lamtoro diformulasikan menjadi gel.

b. Pembuatan gel daun lamtoro

Pembuatan sediaan gel meliputi proses peleburan dan proses emulsifikasi. Biasanya komponen yang tidak bercampur dengan air seperti minyak dan lilin dicairkan bersama-sama di penangas air pada suhu 70-75°C, sementara itu semua larutan berair yang tahan panas, komponen yang larut dalam air dipanaskan pada suhu yang sama dengan komponen lemak. Kemudian larutan berair secara perlahan-lahan ditambahkan ke dalam campuran lemak yang cair dan diaduk secara konstan, temperatur dipertahankan selama 5-10 menit untuk mencegah kristalisasi dari lilin/lemak. Selanjutnya campuran perlahan-lahan didinginkan dengan pengadukan yang terus-menerus sampai campuran mengental. Bila larutan berair tidak sama temperaturnya dengan leburan lemak, maka beberapa lilin akan menjadi padat, sehingga terjadi pemisahan antara fase lemak dengan fase cair (Munson, 1991).

c. Pemilihan tikus putih

Tikus putih diperoleh dari unit pemeliharaan hewan coba Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY, dalam percobaan ini digunakan tikus putih galur wistar jantan yang sehat (tidak ada kelainan genetik, tidak cacat, mata jernih dengan bulu lebat dan tumbuh merata, serta tidak digunakan untuk penelitian lain) sebanyak 15 ekor dengan usia antara 3-4 bulan dengan berat badan 250-300 gram.

d. Povidone iodine

Povidone iodine didapatkan dari pasaran, obat ini mengandung antiseptik dan antibakteri, bersifat *irritable*. *Povidone iodine* digunakan sebagai bahan olesan pada luka insisi.

1) Pembagian kelompok perlakuan

Tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 15 ekor, dibagi menjadi 3 kelompok yaitu:

- a) 5 ekor tikus putih diberi perlakuan dengan olesan gel ekstrak etanolik daun lamtoro (*leucaena leucocephala*).
- b) 5 ekor tikus putih diberi perlakuan dengan olesan *Povidone Iodine*.
- c) 5 ekor tikus putih tidak diberi perlakuan sebagai kelompok kontrol.

2) Pemberian Perlakuan

Pembuatan luka insisi

Cara kerja pembuatan luka insisi adalah :

- 1) Menentukan lokasi pada daerah punggung tikus putih
- 2) Menghilangkan bulu dengan cara mencukurnya sampai sekitar ± 3 cm – 5cm disekitar area kulit yang akan di insisi. Kemudian disterilkan bagian tersebut dengan alkohol 70%.
- 3) Tikus putih diadaptasikan selama 2 hari sebelum diberi perlakuan
- 4) Pasang pernak dan alasnya di bawah tubuh tikus putih yang akan di insisi
- 5) Cuci tangan
- 6) Memakai sarung tangan bersih
- 7) Lakukan anestesi menggunakan eter
- 8) Lakukan penyayatan kulit dengan menggunakan pisau bedah steril dengan panjang luka ± 2 cm dan kedalaman luka ± 2 mm.
- 9) Melakukan pembersihan terhadap darah yang keluar dengan cara dialiri dengan Nacl 0,9 % fisiologis menggunakan spuit 5 ml sampai perdarahan berhenti.
- 10) Mengeringkan luka dengan menggunakan kasa kering dengan gerakan sirkuler dari dalam keluar.
- 11) Melepas sarung tangan bersih kemudian menggunakan sarung tangan steril.
- 12) Melakukan perawatan luka dengan menggunakan gel daun lamtoro, *povidone iodine* dan kelompok kontrol dibersihkan menggunakan Nacl 0,9 % fisiologis.
- 13) Luka diperlakukan membuka karena untuk melihat proses penyembuhan luka.

Perawatan luka

Setiap kelompok sampel dilakukan perawatan luka dengan intensitas yang sama yaitu tiap hari sekali pada waktu pagi hari jam 10.00 WIB. Cara kerjanya adalah sebagai berikut:

- 1) Cuci tangan
- 2) Pakai sarung tangan bersih
- 3) Atur posisi mencit senyaman mungkin sehingga memudahkan perawatan tindakan.
- 4) Tempatkan bengkok dan plastik terbuka di dekat luka yang akan dirawat.
- 5) Mengkaji kondisi luka, warna luka, ukuran luka, adanya cairan / pus pada luka, adanya edema pada luka.
- 6) Mengambil gambar luka sayat pada mencit dengan menggunakan kamera sebagai dokumentasi perkembangan pemulihan luka.
- 7) Membersihkan luka dengan dialiri menggunakan NaCl 0,9% fisiologis. Menggunakan spuit 5 ml.
- 8) Melepas sarung tangan bersih kemudian menggunakan sarung tangan steril.
- 9) Melakukan *debridement* jika ada nekrotik dan slough. Kemudian setelah *didebridement* luka dibersihkan lagi dengan menggunakan NaCl 0,9% fisiologis.
- 10) Mengkeringkan luka dengan menggunakan kasa kering dengan gerakan *sirkulet* dari dalam keluar.
- 11) Mengoleskan gel daun lamtoro untuk perlakuan luka sayat yang dirawat dengan daun lamtoro, begitu pula pada kelompok perlakuan yang diberi povidone iodine,

untuk kelompok kontrol hanya dibersihkan NaCl 0,9% dalam proses perawatannya.

- 12) Melepaskan sarung tangan.
- 13) Rapihan alat dan cuci tangan.

Pengamatan

Pengamatan dilakukan pada ketiga kelompok mencit setiap sore harinya, pada saat dilakukan perawatan setelah perlakuan. Pengamatan dilakukan dengan cara makroskopik dengan menggunakan penggaris untuk mengukur panjang luka. Kemudian menggunakan loup dan difoto untuk mengetahui perkembangan penyembuhan luka sayat.

Penelitian

Penelitian kesembuhan luka dengan memperhatikan kriteria kesembuhan luka sayat dengan pencatatan menggunakan *check list* atau lembar observasi kesembuhan luka. Pencatatan dilakukan setiap sehari sekali. Setiap kriteria diberi skor kemudian dijumlahkan. Kriteria kesembuhan luka meliputi: ada tidaknya tanda-tanda infeksi (eksudat, pus, darah, warna luka, dan lain-lain), ukuran luka (0 cm), kondisi luka (granulasi, epitelisasi, slough dan nekrotik).

H. Analisis data

Pengelolaan data dilakukan dengan bantuan komputerisasi yaitu menggunakan program SPSS. Hasil penilaian tanda-tanda penyembuhan luka sayat yang didapatkan dari penelitian data rata-rata lama penyembuhan luka sayat dalam hitungan hari. Analisis data yang digunakan adalah skala data *numeric* dengan pengujian terlebih dahulu data normalitasnya dengan menggunakan metode analitik *Shapiro-wilk* tes karena sampel kecil yaitu kurang ≤ 50 . Apabila diketahui sebaran data normal maka dilakukan dengan menggunakan metode *One way ANOVA*. Selanjutnya apabila setelah diketahui sebaran data tidak normal, maka dilakukan analisis dengan metode *Kruskal-Wallis* semua kelompok penelitian. Kemudian dilanjutkan dengan *Man-Whitney* tes untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda dan kelompok mana yang tidak berbeda.