

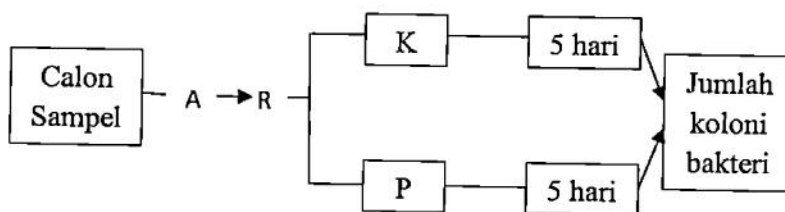
BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *true experiment* dengan *Pretest-Posttest control group design*, yang bertujuan untuk mengetahui kemungkinan saling hubungan sebab akibat dengan cara dilakukan perlakuan dan membandingkan hasilnya dengan grup kontrol. Serta untuk mengetahui perbedaan keadaan awal antara grup eksperimen dan grup kontrol (Nursalam, 2008). Perlakuan yang diberikan berupa *cleansing* luka dengan rebusan daun sirih selama 5 hari dan dilakukan 1 hari sekali. Sebagai kontrol adalah *cleansing* luka menggunakan NaCl 0.9% selama 5 hari dan dilakukan 1 hari sekali, dengan *outcome* berupa jumlah koloni bakteri.

Skema rancangan penelitian adalah :



Keterangan :

A : Adaptasi 5 hari

R : Randomisasi

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian

Riyanto (2011) mengemukakan populasi adalah seluruh objek (manusia, binatang percobaan, data laboratorium, dan lain-lain) yang akan diteliti dan memenuhi karakteristik yang ditentukan. Populasi merupakan keseluruhan dari sumber data yang diperlukan dalam suatu penelitian (Hidayat, 2007). Dalam penelitian ini menggunakan populasi tikus jantan galur *Wistar* usia 2-3 bulan dengan berat 160-190 g per ekor.

2. Sampel penelitian

Sampel merupakan bagian dari populasi terjangkau yang dapat digunakan sebagai subjek penelitian. Sedangkan sampling adalah proses menyeleksi porsi dari populasi yang dapat mewakili populasi yang ada (Nursalam, 2008). Penentuan kelompok kontrol dan eksperimen menggunakan random sampling. Tikus diperoleh dari laboratorium penelitian UMY.

Besar sampel yang diambil menurut WHO 5 ekor dan perkiraan *drop out* 10%, jadi pada penelitian ini memakai jumlah sampel sebanyak 6 ekor tiap kelompok (WHO, 1993). 12 ekor tikus dikelompokkan menjadi 2 kelompok dimana masing-masing terdapat 1 ekor tikus cadangan. Tikus yang dijadikan sampel pada penelitian tidak ada yang mengalami kematian.

Kriteria sampel adapun sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus jenis galur wistar jantan
- 2) Berat 160-190 g
- 3) Usia 2-3 bulan
- 4) Tidak ada abnormalitas
- 5) Mengalami diabetes dengan kadar gula darah sewaktu > 250 mg/dl (Gutierrez & Vargas, 2006).

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Sakit selama masa adaptasi 5 hari
- 2) Hewan uji yang mati atau tidak terjadi diabetes.

Pembagian sampel untuk menjadi kelompok eksperimen dan kelompok kontrol dilakukan dengan cara acak atau randomisasi. Pengacakan atau randomisasi sampel dilakukan dengan pembagian angka genap dan angka ganjil. Setiap angka genap dan angka ganjil masing-masing ditulis pada sebuah kertas kecil kemudian di kocok dan di ambil satu per satu. Hasilnya adalah angka genap untuk kelompok kontrol dan angka ganjil untuk kelompok eksperimen.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta Oktober 2013 – September 2013.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : *Cleansing*.

2. Variabel terikat : Jumlah koloni bakteri.

E. Definisi Operasional

1. Proses pencucian luka (*Cleansing*) untuk membuang jaringan nekrosis, cairan luka yang berlebihan, sisa balutan dan sisa metabolik dengan menggunakan teknik *showering* (mengguyur) sampai luka terlihat bersih, dilanjutkan dengan irigasi luka menggunakan spuit 30 ml dengan jarum 18 G untuk mengangkat *slough* dan bagian – bagian yang tidak terjangkau. Bahan yang digunakan untuk *cleansing* yaitu rebusan daun sirih dan NaCl 0.9%. Data untuk skala pengukurannya menggunakan skala nominal.
2. Jumlah koloni bakteri adalah banyaknya jumlah koloni yang tumbuh dalam satu cawan dalam satu kali pembiakan, yang telah dibiakkan selama 1x24 jam. Bakteri dihitung menggunakan metode *Plate Count* dengan perhitungan jumlah koloni bakteri:

CFU's/ml= jumlah koloni X faktor pengenceran

Perhitungan menggunakan alat *Colony Counter*. Data yang diperoleh adalah jumlah koloni bakteri yang memenuhi syarat untuk dihitung yaitu yang berjumlah 30 – 300 dalam satuan CFU/ml (Purnaningsih, 2012). Data yang diinput menggunakan skala pengukuran rasio, yaitu yang mempunyai nilai 0 (nol) empiris absolut.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian:

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah penimbang berat badan tikus, kandang tikus, tempat minum, alat cukur, spuit 30 ml, jarum suntik, *blade*, *scalpel*, pipet, timbangan gram, kompor listrik, ose, incubator, lup, sterile swab, labu erlenmeyer, cawan petri, dan tabung reaksi.

2. Bahan Penelitian:

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau, aquadest, aloksan, Ketamin, TSA (Trypticase Soy Agar), BHI (Brain Heart Infussion), *Staphylococcus aureus*, *P. aureginosa*, genus *Enterobacteraceae*. spiritus, dan NaCl 0.9%.

3. Proses Rebusan Daun Sirih Hijau

- a. Daun sirih hijau yang telah dipersiapkan dipotong kecil-kecil
- b. Lalu ditimbang hingga mencapai berat 30 gram
- c. Masukkan daun sirih hijau yang terpotong-potong ke dalam wadah tertutup (labu Erlenmeyer)
- d. Tambahkan aquadest sebanyak 100cc
- e. Tutup wadah (bisa menggunakan aluminium foil)
- f. Panaskan pada suhu kurang lebih 100°C selama 15 menit, kemudian biarkan dingin.
- g. Setelah dingin, tuang airnya dan didapatkan ekstraksi daun sirih hijau 30% (30gr daun sirih hijau dalam 100cc aquadest)

4. Proses Pembuatan Luka Hewan Coba

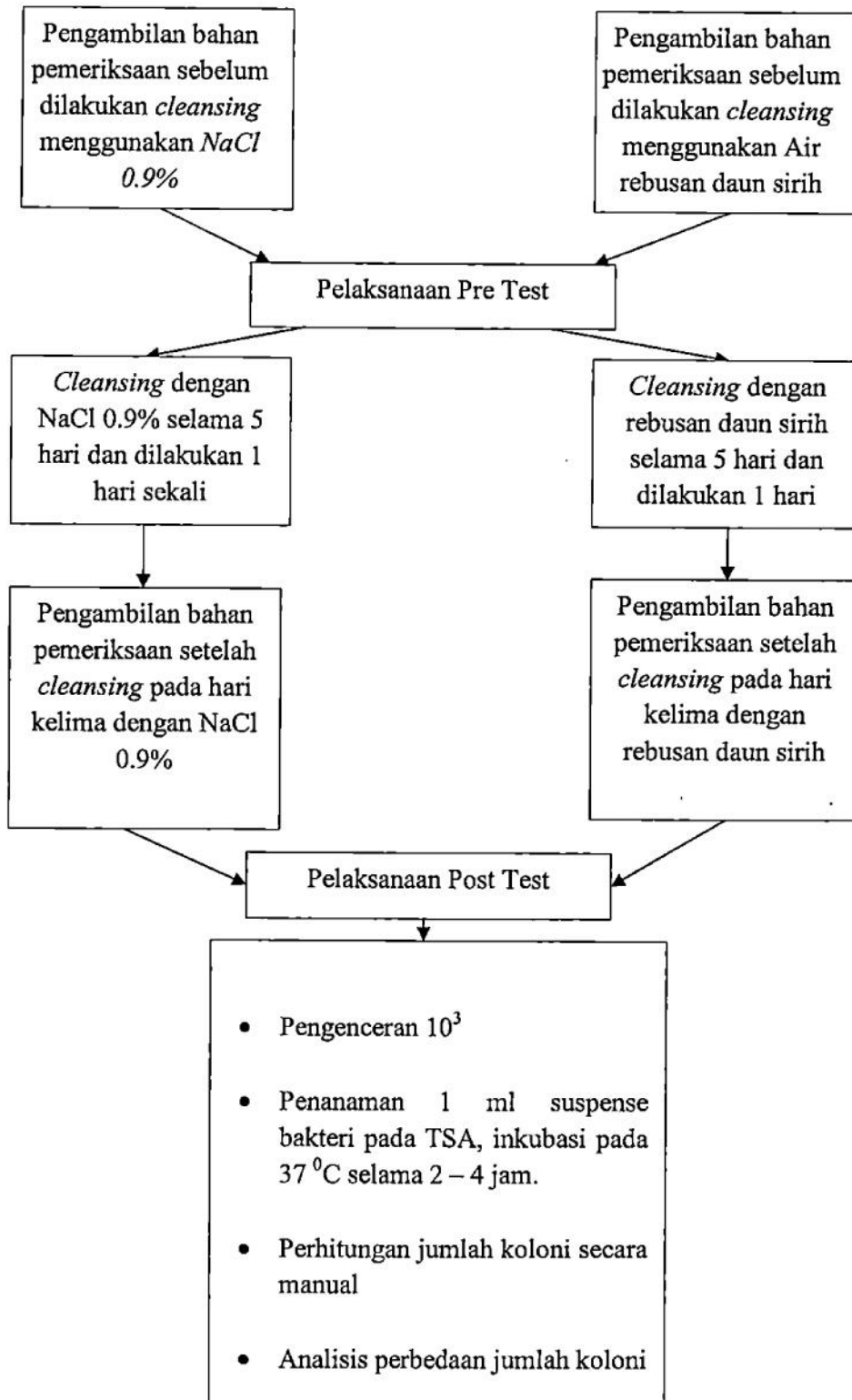
Hewan coba tikus dibius total dengan ketamin 0,1 cc per ekor (Lampiran 4), kemudian bagian punggung tikus dicukur seluas 4 cm x 4 cm. Pada daerah tersebut dilakukan insisi menggunakan scalpel sepanjang 2 cm dan kedalaman 0,25 cm dengan cara kulit diregangkan dengan jari telunjuk dan ibu jari tangan kiri bertindak sebagai peregang dan penekan. Scalpel dipegang dengan menggunakan handle pada tangan kanan dengan membentuk sudut 30-40⁰ dengan kulit. Insisi dilakukan dengan menarik scalpel kearah caudal. Luka insisi pada hewan coba dikategorikan ulkus diabetik tingkat 3. Luka diinfeksi *Staphylococcus aureus*, *P. aureginosa*, dan genus *Enterobacteraceae* dengan meneteskan suspense bakteri yang telah dibuat sebanyak satu tetes pipet (1cc).

G. Cara Pengumpulan Data

1. Sebelum penelitian dilakukan, hewan uji dipilih terlebih dahulu untuk mencari sampel yang memenuhi kriteria-kriteria inklusi dan eksklusi.
2. Hewan uji diadaptasikan dengan lingkungan selama 5 hari dengan memperhatikan standar perawatan tikus sebagai hewan percobaan.
3. Setelah diadaptasikan, semua tikus dibuat diabetes dengan menyuntikkan aloksan monohidrat secara intravena melalui ekor tikus. Dosis aloksan yang digunakan 70mg/kgBB. Untuk mencapai keadaan hiperglikemia diperlukan waktu 24 jam. Pengukuran menggunakan strip glukosa-oksidasi (OneTouch® Ultra TM, Lifescan).

4. Hewan uji dibuat luka pada punggung dengan luas luka 4 cm X 4 cm. kemudian ditanam bakteri *Staphylococcus aureus*, *P. aureginosa*, dan genus *Enterobacteraceae*.
5. Hewan uji dibiarkan selama 1 hari tanpa dilakukan perlakuan kecuali makan minum.
6. Pengambilan BP (Bahan Pemeriksaan) dilakukan sebelum *cleansing* dengan NaCl 0.9 % dan rebusan daun sirih pada luka hewan uji dengan cara *swab* dan ditanam pada TSA.
7. Pengambilan BP berikutnya dilakukan pada hari kelima setelah dilakukan *cleansing*, kemudian ditanam pada TSA.
8. Pengenceran BP: hasil swab dari luka pada hewan uji dimasukkan kedalam tabung kemudian ditambahkan BHI sebanyak 9 ml. hingga didapatkan pengenceran 10^3 .
9. BP yang telah di encerkan, diambil dengan pipet steril sebanyak 1 ml, kemudian di sebar pada cawan petri steril. Selanjutnya dimasukkan dalam inkubator 37°C dalam suasana anaerob selama 1 x 24 jam.
10. Setelah di inkubasikan dalam inkubator, dilakukan penghitungan koloni bakteri.

H. Alur Pengumpulan Data



I. Analisa Data

Distribusi data antara kelompok kontrol dan intervensi diketahui berdistribusi normal. Keseluruhan data dari jumlah koloni bakteri menggunakan statistik parametrik. Data dari jumlah koloni bakteri sebelum dan sesudah *cleansing* menggunakan NaCl 0.9 % dianalisis menggunakan uji t-test berpasangan. Analisis data dilakukan sama untuk jumlah koloni bakteri sebelum dan sesudah *cleansing* menggunakan air rebusan daun sirih. Setelah didapat hasil dari keduanya, kemudian dilakukan lagi analisis data menggunakan uji t-test tidak berpasangan.

J. Etik Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel kelompok tikus galur wistar sebanyak 12 ekor. Tikus akan diperlakukan sesuai dengan tata cara perawatan hewan uji laboratorium yang sesuai prosedur, yaitu dengan cara semua kelompok tikus akan diberikan makan secara teratur, perawatan yang sesuai standar, dan tempat tinggal yang layak. Desain dalam penelitian ini adalah *true eksperimen*, maka penelitian yang akan dilakukan harus dinyatakan lulus uji etik penelitian di FKIK UMY dengan mengajukan uji etik penelitian pada bagian Komite Etik FKIK UMY.