

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Metode Penelitian

1. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah penelitian eksperimen *invivo* pada hewan coba dengan metode *post-test control group*.

2. Populasi dan Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus dari Federer (1963), dengan rumus :

$(t-1)(r-1) \geq 15$	t : jumlah kelompok perlakuan
$(5-1)(r-1) \geq 15$	(5 kelompok)
$4(r-1) \geq 15$	
$4r-4 \geq 15$	r : jumlah sampel pada tiap
$4r \geq 19$	perlakuan
$r \geq 5$	

Jadi jumlah mencit yang digunakan dalam setiap kelompok minimal adalah 5, dan jumlah seluruh mencit yang digunakan minimal $5 \times 5 = 25$.

Sampel penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur *Sparague Dawley*, hal ini sesuai dengan ketentuan WHO yang menyebutkan bahwa jumlah minimal sampel tikus adalah 5 setiap kelompoknya. Tikus diadaptasikan dalam kandang hewan di Laboratorium

3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY dengan waktu penelitian selama lima bulan.

4. Variabel Penelitian

- a. Variabel Bebas : Perlakuan lidah buaya secara topikal berupa salep lidah buaya 25 % dan perlakuan lidah buaya secara oral berupa jus lidah buaya 5gram/KgBB/hari.
- b. Variabel Terikat : Waktu penyembuhan luka dan persentase penyembuhan luka.
- c. Variabel Terkendali :
 - 1) Subyek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan jenis kelamin betina berumur 3 bulan dan berat 150-250 gram.
 - 2) Faktor genetik menggunakan tikus satu galur yaitu dari galur *Sparague Dawley* dengan proses pembagian sampel pada masing-masing kelompok secara acak (randomisasi).
 - 3) Kondisi kandang dan pakan sama

5. Definisi Operasional

- a. Perlakuan lidah buaya secara topikal adalah memberikan lidah buaya yang berbentuk salep konsentrasi 25% dengan bahan pembawa vaselin golongan album pada luka bakar kimiawi. Salep dioleskan sebanyak 0,1cc/hari dengan menggunakan pengukur berupa spuit insulin agar jumlah salep

buaya secara oral adalah memberikan jus lidah buaya langsung menuju lambung tikus sebanyak i. Jus dibuat dari semua bagian dari daun lidah buaya g terlebih dahulu bagian durinya.

awil pada penelitian ini adalah suatu kerusakan jaringan diakibatkan kontak antara kulit dengan asam sulfat 75% kerusakan yaitu luka bakar derajat tiga dan katagori ukannya termasuk penyembuhan sekunder. Kriteria luka bakar derajat tiga adalah tidak dijumpai bula (airan infiltrat), permukaan kulit terlihat berlemak, uti epidermis, dermis, subkutan, folikel rambut, kelenjar njar sebacea. Kulit yang terluka berwarna atau pucat abu-

sekunder karena tidak dilakukan intervensi untuk luka dengan penjahitan atau jenis intervensi lain, sehingga uhan luka bisa menghasilkan jaringan parut dan waktu na (Boswick, 2004).

dan penilaian presentase penyembuhan adalah dengan modifikasi "Metode Morton" (Morton dalam Kusmiati dkk.,

nelitian waktu sembuh adalah waktu penyembuhan dihitung

- 2) Metode penilaian presentase penyembuhan adalah presentase penyembuhan didapatkan dari hasil pengukuran diameter luka setiap hari. Berdasarkan diameter tersebut lalu dilakukan perhitungan presentase penyembuhan setiap hari dengan menggunakan suatu rumus presentase.
- 3) Indikator kesembuhan adalah pengamatan luka secara makroskopik dengan data diameter luka dan presentase penyembuhan yang dihitung dari waktu ke waktu telah mencapai diameter 0 mm (presentase 100%) dan ditunjang dengan tanda-tanda luka bakar derajat 3 yang menghilang tergantikan jaringan parut serta tanda-tanda radang menghilang (tidak terlihat bengkak, warna kulit bekas luka berwarna pucat atau berwarna sama dengan kulit yang sehat dan tidak terasa panas) (Suratman dkk., 1996).

6. Instrumen Penelitian

a. Alat-Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat pencukur rambut, gunting jaringan, pinset bedah, mortar, sendok, toples, mistar, jangka sorong, sarung tangan steril, masker, timbangan analitik, sonde, alat pembuat preparat histologi, mikroskop cahaya dan kamera.

b. Bahan-Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk lidah buaya murni, Vaseline golongan album, larutan eter, streptozotocin, bahan kapas, formalin, asam sulfat pekat, akuades dan alkohol 70%.

7. Prosedur Penelitian

a. Pembuatan sediaan salep lidah buaya (topikal)

Formula salep lidah buaya dibuat menggunakan bahan dasar salep (bahan pembawa) yaitu vaselin dengan dosis lidah buaya 25%. Masing-masing formula antara vaselin dan lidah buaya dicampur, digerus hingga homogen, didiamkan selama 30 menit untuk mendapatkan massa kental dan salep lidah buaya siap digunakan.

b. Pembuatan sediaan jus lidah buaya (oral)

Jus lidah buaya dibuat dengan cara duri daun lidah buaya di buang, kemudian bagian gel dan kulitnya diblender tanpa penambahan air dan disaring. Dosis yang digunakan untuk semua kelompok adalah 5gram/KgBB/hari.

c. 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 lima kelompok yang masing-masing terdiri dari lima ekor tikus, yaitu: Kelompok I sebagai kontrol negatif (tanpa perlakuan), Kelompok II sebagai kontrol negatif (vaselin), Kelompok III diberi salep lidah buaya 25 %, Kelompok IV diberi jus lidah buaya 5gram/KgBB/hari dan Kelompok V diberi salep

d. Induksi Diabetes Mellitus

Setelah hewan uji diadaptasikan dilaboratorium hewan selama seminggu, selanjutnya hewan uji siap untuk diinduksi diabetes mellitus dengan bahan penginduksi yaitu streptozotocin. Pertama-tama hewan uji yaitu tikus ditimbang dulu berat badannya. Selanjutnya streptozotocin ditimbang dengan timbangan analitik untuk mendapatkan dosis 100 mg/kgBB sesuai dengan berat badan tikus yang telah dihitung sebelumnya. Streptozotocin yang telah ditimbang dimasukkan kedalam sebuah eppendorf. Setelah mendapatkan dosis streptozotocin yang sesuai dengan berat badan tikus, streptozotocin dalam eppendorf tersebut dilarutkan dengan buffer sitrat (pH 4,5) tidak melebihi 1 ml/100g berat badan tikus. Larutan streptozotocin yang telah tercampur sempurna kemudian disuntikkan ke hewan uji secara intraperitoneal dengan menggunakan spuit insulin yang diganti setiap tikusnya.

Pengukuran kadar gula darah puasa pada hewan uji dilakukan empat hari setelah tikus putih diinduksi dengan streptozotocin dengan menggunakan glukometer. Sebelum diukur, tikus putih dipuasakan selama 10-12 jam. Darah diambil dari ekor, kemudian dihisap menggunakan *oxidase-peroxidase reactive strips* selanjutnya dipasang pada glukometer.

e. Induksi luka bakar kimiawi

Setelah didapatkan bahwa tikus putih mengalami kenaikan gula darah puasa yang menunjukkan adanya gejala diabetes mellitus, tikus putih

dilakukan menggunakan tetesan 0,1 ml asam sulfat 75% yang diteteskan kedalam cincin pembatas luka berdiameter 15 mm selama 15 menit pada kulit bagian punggung bawah kanan tikus yang sebelumnya telah dicukur untuk mendapatkan permukaan kulit yang bersih dari bulu. Setelah dicukur bersih, tikus uji dilakukan tindakan anestesi menggunakan eter secara inhalasi dan kemudian dilakukan pembuatan luka bakar kimiawi.

f. Pemberian perlakuan salep lidah buaya dan jus lidah buaya

Sesaat setelah induksi luka bakar kimiawi, luka yang terjadi diukur diameternya (pengambilan data awal) kemudian tikus diberi perlakuan sesuai kelompoknya. Kelompok I dibiarkan tanpa perlakuan, kelompok II diolesi vaselin, kelompok III diolesi salep lidah buaya 25%, kelompok IV diberi jus lidah buaya 5gram/KgBB/hari, dan kelompok V diolesi salep lidah buaya 25% dan jus lidah buaya 5gram/KgBB/hari. Pemberian semua perlakuan topikal dan oral dilakukan setiap hari hingga luka sembuh.

Pemberian jus lidah buaya dengan dosis 5gram/KgBB/hari dilakukan pada semua kelompok. Jus lidah buaya diberikan dalam waktu yang bersamaan dengan pemberian salep lidah buaya. Pemberian jus lidah buaya menggunakan bantuan sonde.

g. Pengamatan dan pengambilan data

Pengamatan dan pengambilan data makroskopis dilakukan dengan pengukuran diameter luka setiap hari terus-menerus selama 25 hari dengan indikatornya diameter luka semakin mengecil

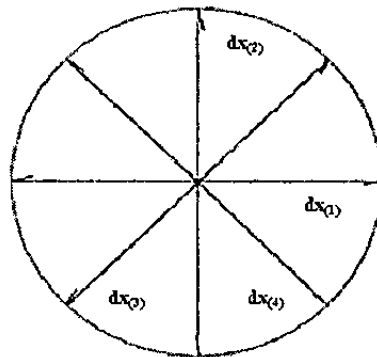
Luka yang terjadi diukur diameternya (dalam mm) dengan cara dihitung rata-ratanya menggunakan rumus :

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

keterangan:

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

$dx_{(1),(2),(3)}$ dan (4) : diameter luka diukur dalam berbagai arah (lihat Gambar 5).



Gambar 5 Cara mengukur Diameter Luka (Suratman dkk., 1996)

8. Analisis Data

a. Perhitungan persentase penyembuhan

Metode untuk menilai waktu penyembuhan luka bakar kimiawi 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

Setelah hasil diameter luka didapat kemudian dilakukan perhitungan persentase penyembuhan luka (dalam %) 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 (dalam %)
- d₁ : diameter luka hari pertama
- dx : diameter luka hari ke-x

b. Pengolahan data dengan statistik

Data-data yang diperoleh adalah berupa 2 data pengamatan secara makroskopis. Data makroskopis meliputi waktu penyembuhan (dalam hari) dan persentase penyembuhan (dalam %). Data didapatkan berskala numerik,1 selanjutnya dilakukan uji normalitas untuk menentukan data akan diolah menggunakan uji parametrik atau uji non-parametrik. Untuk uji parametrik, data selanjutnya akan dianalisis secara statististik menggunakan metode analisis *ANOVA* satu arah dilanjutkan dengan analisis *Student Newman-Keuls* dan *FSD* atau *Tukey*. Sedangkan untuk uji non parametrik digunakan