

### III. MATERI DAN METODE

#### 3.1 Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Ekstraksi dan pembuatan salep dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Airlangga Surabaya pada bulan Desember-Januari 2023.

#### 3.2 Materi Penelitian

##### 3.2.1 Alat

Adapun alat penelitian yang digunakan yaitu timbangan, kamera penggaris, batang pengaduk, pipet, clipper, gelas ukur, corong, mortar, stemper, saringan, oven, pinset bedah, masker, *glove*, pot salep, blade, kassa steril, alat tulis, kandang tikus ukuran 30 x 35 cm, spuit 1 ml

##### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*), salep ekstrak kulit pisang raja (*Musa paradisiaca L.*), pakan hewan coba (pelet), air minum, *vaselin album*, *adeps lanae*, NaCl 0,9%, alkohol 70 %, salep ekstrak kulit pisang raja, *ketamin*, *acepromazine*, *athropine sulfat*, salep *povidone iodine* 10%.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan rancangan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak salep kulit pisang raja terhadap penyembuhan luka insisi pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*).

#### 3.3.2 Populasi dan Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang dilukai secara insisi pada bagian punggung menggunakan blade. Sampel yang digunakan adalah 20 ekor tikus putih jantan dengan umur 6 bulan dengan berat 300 g. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. Ulangan sebanyak 5 kali diperoleh dari rumus Federer yaitu :

$$t(n - 1) \geq 15$$

Keterangan:

t : jumlah perlakuan

n : jumlah ulangan

dengan  $t = 4$ , maka didapat :

$$t(n - 1) \geq 15$$

$$4(n - 1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 4 + 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n = 5$$

Berdasarkan hasil perhitungan di atas didapatkan jumlah ulangan adalah 5 ekor dalam setiap kelompok. Jadi pada penelitian ini dibutuhkan 20 ekor tikus.

### **3.3.3 Variabel Penelitian**

Penelitian ini menggunakan 3 variabel penelitian yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel kendali. Variabel bebas yaitu dosis terapi salep ekstrak kulit pisang raja. Variabel terikat yaitu penyembuhan luka dengan indikator kesembuhan luka dan kemerahan (eritema) pada tikus. Variabel kendali yaitu umur, ukuran kandang, jenis luka.

### **3.4 Parameter Penelitian**

Kesembuhan luka diukur dengan menggunakan beberapa parameter dalam bentuk skoring, yaitu skor kesembuhan luka dan kemerahan (eritema) pada luka insisi tikus putih.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dengan umur 6 bulan dan berat 300 g. Tikus ditempatkan pada kandang dan diberikan makan dan minum secara *ad libitum*. Tikus diadaptasi selama tujuh hari sebelum perlakuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan baru, mengurangi stress, dan memastikan hewan coba dalam kondisi yang sehat dan layak untuk dilakukan pengujian. 20 ekor tikus dibagi menjadi empat kelompok setiap kelompok terdiri dari enam ekor tikus putih. Masing-masing kelompok yaitu kelompok P0 (kontrol negatif), P1 (kontrol positif dengan salep *povidone iodine* 10%), P2 (salep ekstrak kulit pisang 15%) dan P3 (salep ekstrak kulit pisang 25%).

### **3.5.1 Pembuatan Luka Insisi**

Pada masing-masing tikus diberi label pada bagian ekornya menggunakan spidol permanen sesuai kelompok. Sebelum di anastesi tikus di puasakan terlebih dahulu selam 6-12 jam. Kemudian tikus di anastesi menggunakan kombinasi atropin 0,04 mg/kg, *acepromzine* 2,5 mg/kg, dan ketamin 50 mg/kg. Sebelum dilakukan pembuatan luka insisi, bulu pada bagian yang akan dilakukan insisi dicukur kemudian daerah tersebut dibersihkan menggunakan alkohol 70%. Setelah itu dilakukan insisi *longitudinal midline* pada daerah dorsal tikus sepanjang 2 cm dengan kedalaman 2 mm dengan menggunakan blade yang ditandai dengan keluarnya darah, kemudian daerah luka dibersihkan dengan NaCl 0,9%.

### **3.5.2 Pembuatan Konsentrasi Salep Ekstrak Kulit Pisang**

Kulit buah pisang raja dipisahkan dari buahnya dan dibersihkan dengan air mengalir. Kemudian dikeringkan dengan oven dan ditimbang sebanyak 300 gram. Sampel diekstrak dengan metode maserasi menggunakan pelarut ethanol 96%. Ekstraksi dilakukan selama 3 x 24 jam dan dilakukan pengadukan setiap 1x 24 jam. Dilakukan penyaringan dan didapatkan ekstrak encer. Selanjutnya, ekstrak dievaporasi selama 1x 24 jam pada suhu pemanasan 70°C hingga pelarut tidak mengalami penguapan lagi dan di dapat ekstrak yang kental.

### **3.5.3 Pembuatan Salep**

Salep dibuat menggunakan bahan dasar hidrokarbon yaitu vaselin album yang bersifat melembabkan permukaan kulit dan tidak mudah hilang apabila terkena air sehingga kotoran dan benda asing sulit masuk ke dalam luka dan menggunakan bahan dasar salep serap adeps lanae yang bersifat mudah melekat sehingga bertahan lama pada kulit. Formulasi standar salep menurut Pamungkas (2018) yaitu adeps lanae sebanyak 15 g dan vaselin album sebanyak 85 g sehingga didapati konsentrasi 100 g. Pada penelitian ini salep dibuat dengan memformulasikan ekstrak kulit pisang raja dengan basis salep vaselin album. Masing-masing salep dibuat dengan konsentrasi 100 g yang disimpan dalam pot salep dan diberi label.

### **3.5.4 Perawatan Luka**

Tikus yang sudah dilukai pada bagian punggungnya masing-masing diberi perawatan berdasarkan kelompoknya. Perawatan tersebut dilakukan selama 14 hari sebanyak 2 kali sehari dan di bersihkan menggunakan kassa steril dan NaCl 0,9%.

### **3.5.5 Pengamatan Kesembuhan Luka dan Kemerahan (eritema)**

Pengamatan dilakukan dengan cara melihat lama penyembuhan luka dari setiap perlakuan dan kontrol. Parameter pada penelitian ini, yaitu dengan melihat adanya kemerahan (eritema) dan kesembuhan luka yang dilihat dari hari pertama, ketujuh, dan empat belas. Skoring untuk parameter kemerahan (eritema) dan kesembuhan luka dapat dilihat pada tabel:

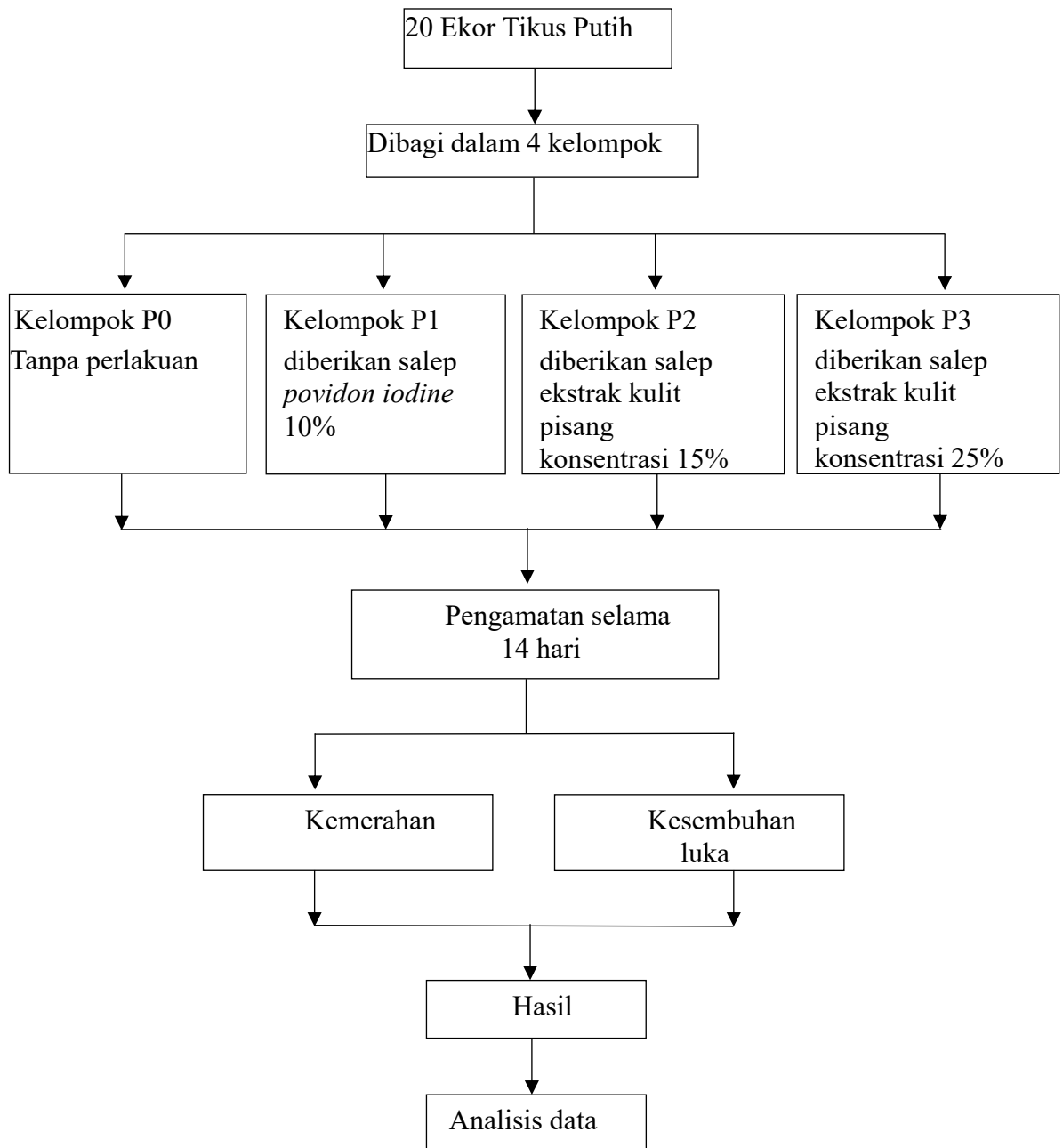
Tabel 3.1 **Tabel Skoring Kemerahan (Eritema)**(Tamuntuan, dkk., 2021).

Parameter	Skor	Keterangan
Kemerahan (Eritema)	0	Sembuh (tidak ada kemerahan)
	+1	Kemerahan 25% berkisar 0,25 cm sepanjang luka
	+2	Kemerahan 50% berkisar 0,5 cm sepanjang luka
	+3	Kemerahan 75% berkisar 0,75 cm sepanjang luka
	+4	Kemerahan 100% berkisar 1 cm sepanjang luka

Tabel 3.5.5 **Tabel Skoring Kesembuhan Luka** (Putra, 2018).

Parameter	Skor	Keterangan
Kesembuhan Luka	0	Sembuh (luka menutup)
	+1	Luka 25 % (ukuran luka menutup berkisar 0,25 cm)
	+2	Luka 50% (ukuran luka menutup berkisar 0,5 cm)
	+3	Luka 75% (ukuran luka menutup berkisar 0,75 cm)
	+4	Luka 100% (ukuran luka berkisar 1 cm)

### 3.6 Kerangka Operasional Penelitian



**Gambar 3.6** Kerangka Penelitian

### **3.7 Analisis Data**

Data yang diperoleh merupakan data kategorik yang diambil secara statistik. Uji statistik menggunakan uji Kruskal Wallis dengan kepercayaan 95%. Jadi terdapat pengaruh dari uji Mann-Whitney U Test. Analisis data dilakukan dengan software SPSS.



