

### **III. MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Pembuatan salep ekstrak daun sirih merah dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Penyediaan, pengadaan, dan pemberian perlakuan pada hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penelitian ini dilaksanakan selama satu bulan pada Januari 2024.

#### **3.2 Materi Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat yang dipakai pada penelitian yaitu botol tabung, batang pengaduk, kandang tikus berserta makanan dan air, spuit 1cc, sarung tangan, masker, timbangan elektronik, rotary evaporator, waterbath, oven, pinset, needle holder, benang jahit silk dengan ukuran 3,0 , jarum jahit, clipper, pinset, scapel, blade, groove director, pot salep, gelas ukur, timbangan, saringan, kapas, batang pengaduk, sarung tangan, masker, alat tulis.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu Tikus (*Wistar*) Jantan 20 ekor, simpisia daun sirih, vaseline album, etanol 96% , anestesi ketamin, anestesi atropin, anestesi acepromacin, salep gentamicin.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorik dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari empat kelompok

yang berbeda. Kelompok perlakuan terdiri dari :

1. K- : Tikus (*Wistar*) Jantan yang telah dilakukan insisi dan dijahit pada bagian kulit tanpa pemberian salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*).
2. K+ : Tikus (*Wistar*) Jantan yang telah dilakukan insisi dan dijahit pada bagian kulit dengan pemberian salep Gentamicin.
3. P1 : Tikus (*Wistar*) Jantan yang telah dilakukan insisi dan dijahit pada bagian kulit dengan pemberian salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*) dengan konsentrasi 30%
4. P2 : Tikus (*Wistar*) Jantan yang telah dilakukan insisi dan dijahit pada bagian kulit dengan pemberian salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*) dengan konsentrasi 45%

Perhitungan jumlah hewan coba yang dipakai pada penelitian ini berdasarkan rumus Federer, yaitu :  $(n-1) \geq 15$ . Perhitungannya sebagai berikut :

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

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

$$= 4n - 4 \geq 15$$

$$= 4n \geq 19$$

$$= n \geq 19 : 4$$

$$n = 5 \text{ ekor.}$$

Keterangan : n (ulangan).

### 3.4.1 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dari penelitian ini yaitu variable bebas : salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*). Variable kendali : Tikus (*Wistar*)

Jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-200gr. Variable terikat : kekeringan luka jahitan (*eksudat*) dan kemerahan luka (*eritema*)

### 3.4 Pengamatan Skor Kondisi Luka

Pengamatan dilakukan dengan cara melihat lama penyembuhan luka dari setiap perlakuan dan kontrol. Parameter penelitian ini, yaitu dengan melihat kekeringan luka jahitan (*eksudat*) dan melihat kemerahan (*eritema*) dengan sistem skoring. Kondisi klinis luka dikategorikan ke dalam 5 skor nilai berdasarkan modifikasi penilaian dari Marti dkk, (2017).

Tabel 3. 1 **Skoring Eritema**

Parameter	Skor	Keterangan
Kemerahan (Eritema)	0	Tidak terdapat tanda-tanda peradangan atau infeksi. Luka operasi telah sembuh dengan sepenuhnya, area insisi tidak lagi terlihat, tidak ada luka terbuka, dan tidak ada eksudat berupa keropeng atau kerak kering.
	1	Masih ada eritema lokal pada seperempat bagian dari $\frac{1}{4}$ area insisi tersebut.
	2	Terdapat eritema lokal di $\frac{1}{2}$ area insisi
	3	Terdapat eritema di $\frac{3}{4}$ pada area insisi
	4	Terdapat eritema di sepanjang area insisi

Tabel 3. 2 **Skoring Eksudat**

Parameter	Skor	Keterangan
Cairan (Eksudat)	0	Tidak ada tanda-tanda peradangan atau infeksi. Luka operasi telah sembuh sepenuhnya, area insisi tidak lagi terlihat, tidak ada luka terbuka, dan tidak ada eksudat seperti keropeng atau kerak kering.
	1	Masih terdapat eksudat basah atau kering di $\frac{1}{4}$ area insisi
	2	Terdapat eksudat, baik dalam bentuk basah atau kering, yang terlihat di $\frac{1}{2}$ area insisi tersebut.
	3	Terdapat eksudat basah di $\frac{3}{4}$ area insisi
	4	Terdapat eksudat basah atau nanah yang terlihat sepanjang insisi tersebut.

### 3.5 Prosedur Penelitian

#### 3.5.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba dalam penelitian ini menggunakan Tikus (*Wistar*) Jantan dengan berat 150-200gr, yang berumur 2-3 bulan sebanyak 20 ekor. Tikus di adaptasi selama 7 hari sebelum digunakan dalam penelitian. Tikus diberi makan dan minum secara ad libitum, pakan yang digunakan yaitu berbentuk pelet sebanyak 10 % berat badan setiap pagi dan sore. Pakan diberikan sebanyak 20 gram per hari. Tikus terdiri dari empat kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor. Hewan coba Tikus dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

### 3.5.2 Desain Penelitian

Hewan coba dibagi empat kelompok : Kelompok kontrol negatif di insisi di jahit tanpa pengobatan. Kelompok kontrol positif di insisi dan di jahit dengan pengobatan salep Gentamicin. Kelompok perlakuan satu di insisi dan di jahit dengan pengobatan salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*) dengan konsentrasi 30%. Kelompok perlakuan dua di insisi dan di jahit dengan pengobatan salep ekstrak daun sirih merah (*Piper Crocantum*) dengan konsentrasi 45%. Terapi dilakukan selama 14 hari dengan interval pemberian sehari dua kali.

### 3.5.3 Pembuatan Salep Ekstrak

Daun sirih merah (*Piper Crocantum*) di dapatkan di taman bunga depan rumah di Kecamatan Jiwan Kabupaten Madiun. Proses ekstraksi dauh sirih merah (*Piper Crocantum*) menggunakan metode maserasi dan evaporasi. Daun sirih dipotong-potong dan di keringkan menggunakan oven hingga kering, daun sirih yang sudah kering di hancurkan menggunakan blender hingga halus dan di ayak. Selanjutnya dilakukan proses ekstraksi dengan menimbang simpisia daun sirih sebanyak 1000gr simpisia daun sirih merah kemudian di maserasi dengan dengan larutan etanol 96% sampai volume 2L diaduk hingga 30 menit lalu ditinggalkan selama 3 x 24 jam sampai dapat mengendap dan disimpan di tempat yang gelap, tiap hari dibuka dan diaduk, simpisia yang di campur larutan etanol 96% di saring untuk diambil filtratnya, filtrat yang sudah siap, diekstraksi menggunakan rotary evaporator dengan kecepatan 45rpm dan waterbath yang di isi air hingga penuh, setelah rorary evaporator di pasang dan pemanas waterbath di atur dengan suhu 50°C hingga mendapatkan ekstrak kental daun sirih merah sebanyak 50gr, setelah di

dapatkan ekstrak kental di timbang sebanyak 15mg dan 22,5mg ekstrak daun sirih, kemudian masing-masing dicampur dengan 50mg Vaseline album dan dihomogenkan (Kusumawardhani dkk, 2015).

Konsentrasi ekstrak daun sirih yang dicampurkan vaseline album dengan menggunakan rumus :

$$L = \frac{a}{b} \times 100\%$$

Keterangan : L : Konsentrasi daun sirih (%), a : Ekstrak daun sirih (mg), b : Vaseline album (mg)

Konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang digunakan memakai cara menambahkan Vaseline album 50mg, sesuai rumus di atas maka didapatkan hasil : Konsentrasi 30% : 15mg ekstrak daun sirih dicampurkan 50mg Vaseline Album (Widyawati dkk, 2021). Konsentrasi 45% : 22,5mg ekstrak daun sirih dicampurkan 50mg Vaseline Album (Kusumawardhani dkk, 2015).

#### **3.5.4 Induksi Luka Insisi Dan Penjahitan**

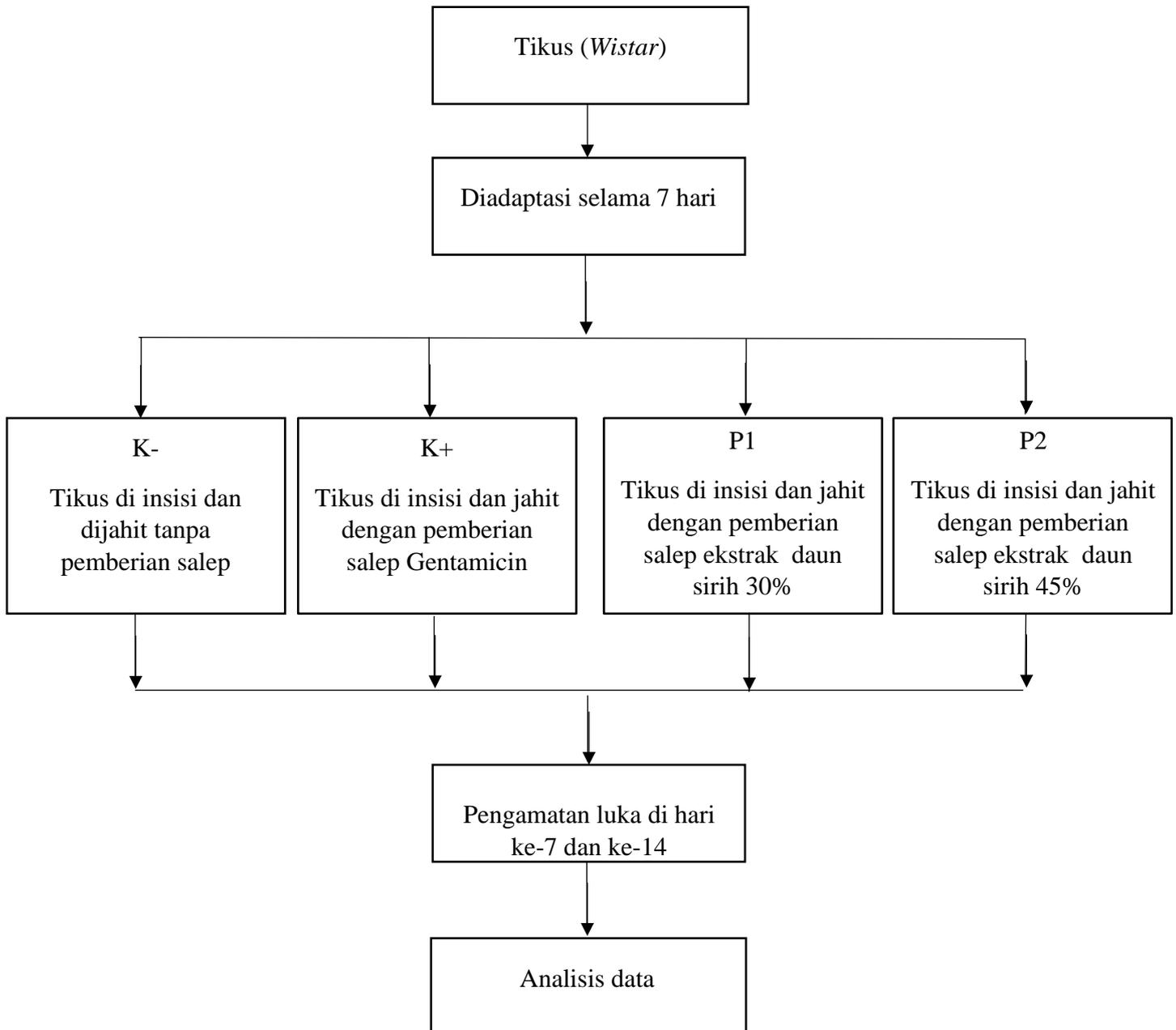
Tikus yang berjumlah 20 ekor dibagi menjadi empat kelompok, tiap kelompok berjumlah lima ekor Tikus. Tikus di premedikasi menggunakan atropine (0,05 mg/kg BB) dan acepromacin (2,5 mg/kg BB), setelah itu di anastesi menggunakan ketamine (50 mg/kg BB) secara intraperitoneal. Setelah itu dilakukan pencukuran menggunakan clipper pada area punggung bagian kiri sekitar 1cm pada bagian yang akan di lakukan tindakan penelitian. Kemudian dilakukan pemberian povidone iodine untuk mensterilkan area yang akan di insisi dengan cara di usap menggunakan kapas pada bagian punggung sebelah kiri yang telah dicukur.

Bentukan luka insisi yang ada di punggung mencit sepanjang 1 cm dan dalam 0,2 cm dengan menggunakan scapel steril dan groove director untuk membantu menginsisi kulit agar tidak sampai ke bagian musculus (Khuluqi, 2017). Setelah di insisi luka di jahit dan ditutup menggunakan benang jahit silk ukuran 3,0 dengan pola jahitan terputus sederhana.

### **3.5.5 Terapi Salep Ekstrak Daun Sirih Merah**

Tikus di lihat dan diamati perkembangan kesembuhan atau kekeringan luka jahitan pada hari ke-7 dan juga pada hari ke-14 dengan diolesi salep ekstrak daun sirih merah sebanyak dua kali sehari, diberi makan dan minum secara ad libitum.

### 3.6 Kerangka Operasional



Gambar 3.4 Kerangka Penelitian

### **3.7 Analisis Data**

Data yang dihasilkan dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam format tabel berdasarkan masing-masing kelompok perlakuan tikus yang diteliti. Data yang didapatkan dalam analisis memakai uji data non parametrik *Kruskal Wallis Test* untuk melihat terdapat perbedaan pada kelompok perlakuan. Jika terdapat pengaruh yang signifikan, uji *Mann-Whitney* dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL).