

III. METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Dan penelitian ini akan di laksanakan pada tanggal...

3.2 Materi Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang di gunakan dalam penelitian ini adalah kandang untuk hewan coba, tempat makan dan minum, scapel, pinset, gunting bedah, timbangan gram, penggaris, spuit 1cc, kassa steril, pinset, blander, nampan, gelas ukur, oven, *mikroskop*, *object glass*, *autoclave*, kliper.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *cover glas*, sarung tangan *glove*, tikus *Sprage Dawley*, silet, sebanyak 20 ekor dengan berat 120- 150 gram dengan kriteria sehat dan aktif, pakan pelet, air minum, sekam, alcohol 70%, jaringan kulit tikus, formalin 10%, ekstrak buah berenuk *Crescentia Cujute L*, ketamin, Vaseline.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan teknik pengambilan sampel menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

3.3.2 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus *Sprage Dawley* yang dibagi menjadi beberapa kelompok ulangan dan perlakuan kelompok perlakuan dalam penelitian ini akan di jelaskan pada **tabel 3.1**

Tabel 3.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok Rancangan	Perlakuan
Kontrol negatif	Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang tidak diinsisi, dan tidak diberikan terapi ekstrak buah berenuk <i>Crescentia cujete L.</i>
Kontrol positif	Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang di insisi dan tidak diberikan terapi ekstrak buah berenuk <i>Crescentia cujete L.</i>
Terapi 1	Tikus <i>Sprague dawley</i> yang diinsisi serta dilakukan terapi ekstrak buah berenuk <i>Crescentia Cujete L</i> dengan konsentrasi 1%.
Terapi 2	Tikus <i>Sprague Dawley</i> yang diinsisi serta dilakukan terapi ekstrak buah berenuk <i>Crescentia cujete L</i> dengan konsentrasi 2%.

3.3.3 Variabel Penelitian

Berdasarkan uraian dalam penelitian terdapat 3 variabel, maka dalam hal ini peneliti menggunakan 3 variabel penelitian sebagai berikut: variabel bebas yaitu konsentrasi krim buah benenruk, variabel terikat yaitu perlekatan luka dan panjang luka, variabel kontrol yaitu berat badan dan umur tikus putih, pengukuran luka.

Jumlah sampel dihitung dengan Rumus Federer = $(n-1) k \geq 16$. Keterangan = n: Ulangan, k: Kelompok perlakuan. Hasil perhitungan Rumus Federer sebagai berikut = $(n-1) k \geq 16 = (n-1) 4 \geq 16 = 4n-4 \geq 16 = 4n \geq 16 = n = 5$ ekor.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Persiapan Hewan Coba

Tikus di adaptasi di Laboratorium Farmakologi FKH UWKS selama 7 hari. Sebelumnya dilakukan pencukuran bulu pada bagian punggung berbentuk kotak. Kemudian dilakukan desinfeksi dengan alkohol 70%.

3.4.2 Prosedur Indikasi Luka

Tikus di anastesi dengan Ketamin, (dosis 50 mg/kgBB) dan Xylazine (dosis 4 mg/kgBB). Selanjutnya, tikus diletakkan rebah ventral. Bagian punggung tikus diinsisi dengan *blade* sepanjang 1 cm. Insisi dilakukan secara Full Thickness. Luka dibiarkan terbuka tanpa dressing.

3.4.3 Proses Pembuatan Krim

Pembuatan krim ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya Buah berenuk dikupas, dipotong, dimasukkan ke dalam blender untuk dan diekstraksi dengan alcohol 70%. Ekstrak buah berenuk dibuat menjadi krim dengan konsentrasi 1% sd 2%. Krim dibuat dari campuran ekstrak buah berenuk, asam stearat, kalium hidroksida (KOH), gliserin, metil paraben, propil paraben, dan air. Dengan cara maserasi kemudian krim di timbang seberat 0,167 0,25 0,375 yang di larutkan dalam 10 gram basis biocream.

3.4.4 Perawatan

Luka insisi diterapi dengan krim berbagai konsentrasi. Terapi dilakukan sebanyak 1 kali 1 hari pada pukul 09.00 WIB. Terapi dilakukan sesuai dengan kelompok perlakuan (**Tabel 3.1**). Terapi dilakukan selama 14 hari.

3.4.5 Pembuatan Preparat Histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi dilaksanakan di laboratrium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Wijaya Kusuma Surabaya. Cara pembuatannya melalui beberapa tahap sebagai berikut: Spesimen yang telah dikumpulkan disimpan dalam bufer netral formalin 10%, didehidrasi, diblok dalam parafn, dan dipotong menggunakan mikrotom untuk pewarnaan H&E dan IHC. Pewarnaan IHC menggunakan antibody monoklonal untuk CD4+ (anti tikus CD4+, Novocastra, RTU-CD4-1F6, Cat. number PA0427) dan CD8+ (anti-rat CD8+, Novocastra, RTU-CD8-295, Cat. Number PA0183).

3.4.6 Parameter Penelitian

Parameter yang diukur adalah adanya perubahan pada gambaran histopatologi kulit dengan kondisi luka insisi dengan membandingkan kelompok pelakukannya. Parameter yang diamati yaitu inflamasi, reepitelisasi, dan angiogenesis. Metode pengamatan dilakukan dengan skor. Metode skor dilakukan sebagai berikut (Tabel 3.2).

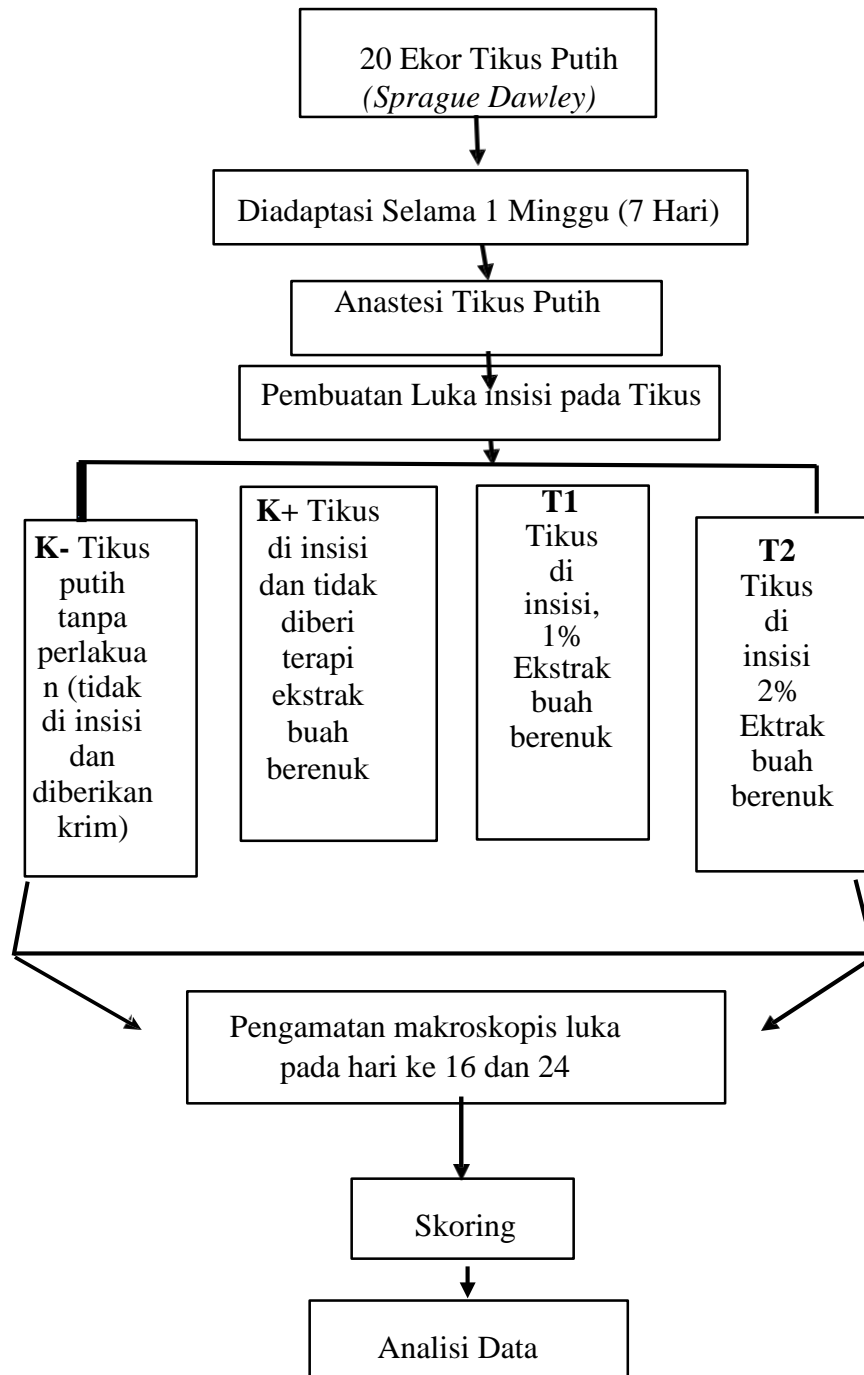
Tabel 3.2 Metode Skor

Skor	Keterangan
1	TAP/Normal
2	Terjadi perubahan di 1-30% arah luka
3	Terjadi perubahan di 31-60% arah luka
4	Terjadi perubahan di > 60% arah luka

3.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan SPSS versi 26. Uji statistik dilakukan dengan uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney U test. Derajat kepercayaan yang dijawab yaitu 95% dengan $\alpha = 0,05$.

3.6 Kerangka Oprasional



Gambar 4. Skema Kerangka Konsep Penelitian