

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Rancangan penelitian

Penelitian ini akan menggunakan konsep desain penelitian *True Experiment Design* dengan *post test control group*, karena di penelitian ini menggunakan kelompok experiment dan kelompok kontrol.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada Mei 2024. Bertempat di laboratorium hewan coba Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

C. Populasi dan Sampel

Populasi merupakan keseluruhan dari objek penelitian, sedangkan sampel adalah sebagian populasi yang diteliti. Dalam penelitian ini populasi dan sample menggunakan tikus mencit putih sebanyak 15 ekor yang akan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. 5 ekor tikus mencit putih diberikan perlakuan menggunakan olesan gel bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*).

2. 5 ekor tikus mencit putih diberikan perlakuan menggunakan olesan ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmanni*).
3. 5 ekor tikus mencit putih tanpa diberi perlakuan sebagai kelompok kontrol.

a. Teknik Sampling

Dalam penelitian ini akan menggunakan teknik *purposive quota sampling*. Yang kemudian untuk pengelompokannya menggunakan *simple random sampling*.

Dengan cara sebagai berikut:

1. Identifikasi dan Nomori Tikus:
 - Beri nomor setiap tikus dari 1 sampai 15.
2. Ambil Sampel Secara Acak:
 - Ambil secara acak 5 nomor dari 1 sampai 15 tanpa pengulangan. Tikus-tikus dengan nomor ini akan menjadi kelompok pertama.
 - Ambil lagi secara acak 5 nomor dari sisa 10 nomor. Tikus-tikus dengan nomor ini akan menjadi kelompok kedua.
 - Tikus-tikus yang tersisa (5 ekor) akan menjadi kelompok ketiga.

b. Kriteria Sampel

Untuk menghindari bias hasil penelitian maka akan ditentukan suatu kriteria sampel yaitu:

1) Kriteria Inklusi

a) Jenis kelamin tikus mencit putih

Dalam penelitian ini akan menggunakan tikus mencit berkelamin jantan.

b) Berat dan Usia

Tikus mencit yang digunakan akan berusia sekitar 3-4 bulan dengan berat rata-rata 20 – 30 gram, karena usia dan berat ini sangat berpengaruh dalam faktor penyembuhan luka nantinya.

c) Kesehatan

Dalam penelitian ini tikus yang dipilih adalah tikus dengan tingkat kesehatan yang baik, dengan menggunakan parameter keaktifan tikus itu sendiri. Tikus yang tidak aktif dan juga jika didapati adanya kelainan genetik maka tidak dapat dijadikan subjek penelitian.

2) Kriteria Eksklusi

Dalam penelitian ini kriteria eksklusinya adalah tikus mencit putih yang mati ataupun sakit pada saat dilakukan proses penelitian.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: Perawatan luka insisi dengan diberi olesan gel bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*), olesan ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmanni*), dan tanpa perlakuan pada tikus mencit putih.
2. Variabel terikat: Waktu kesembuhan luka insisi pada tikus mencit putih yang diolesi gel bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*), olesan ekstrak etanol daun kayu manis (*Cinnamomum burmanni*), dan tanpa perlakuan.
3. Variabel pengganggu
 - a. Oksigenasi akan dikendalikan dengan penempatan kandang dilingkungan yang sama.
 - b. Jenis luka akan dikendalikan dengan pembuatan luka insisi linear yang sama yaitu di posisi punggung dengan panjang ± 2 cm dan kedalaman ± 1 mm.
 - c. Status gizi akan dikendalikan dengan pemberian pakan yang sama dan sesuai kecukupan gizi dari tikus mencit putih tersebut.
 - d. Mobilitas tikus akan dikendalikan dengan cara membatasi ruang gerak tikus tersebut.

E. Definisi Operasional

1. Luka Insisi

Merupakan luka yang dibentuk dengan cara menyayat bagian punggung tikus mencit putih menggunakan pisau bedah yang sudah steril, dengan berbentuk lurus linear panjang dan kedalaman ± 2 cm dan kedalaman ± 1 mm sekitar area dermis.

2. Perawatan Luka

Pemberian perawatan luka pada penelitian ini sesuai dengan prinsip steril dengan tahapan pembersihan luka yang biasa dilakukan dengan NaCl fisiologis (pembersihan luka dilakukan sekali pada saat awal penyayatan saja) , dan selanjutnya dibagi menjadi 3 kelompok dengan perlakuan berbeda yaitu diberi olesan gel bunga rosella, ekstrak etanol daun kayu manis, dan membiarkan luka tanpa diberi perlakuan. Pada penelitian akan digunakan perawatan luka terbuka karena metode ini dinilai memberikan keuntungan diantaranya perawatan lebih efisien, praktis, dan juga mudah untuk mengamati luka.

3. Kesembuhan luka

Kesembuhan luka dinilai mulai dari waktu terbentuknya luka hingga luka sembuh (tertutup) 100% selain perkembangan luka, kriteria luka juga dinilai meliputi adanya infeksi, ataupun adanya penyembuhan tidak sempurna (ditemukan jaringan tambahan misalnya keloid/jaringan parut). Pada penelitian ini luka dikatakan sembuh apabila tidak ditemukan infeksi maupun tanda penyembuhan yang tidak normal, selama jalannya penelitian akan

didokumentasikan secara visual baik berupa foto maupun video. Kesembuhan luka akan diamati selama 14 hari (2 minggu) sesuai standar kesembuhan umum luka.

4. Alat dan bahan

1) Alat penelitian

- a. Kasa steril
- b. Alkohol 70%
- c. Duk kain operasi
- d. Kaca pembesar
- e. Obat bius (xylazine ketamin)
- f. Spuit 5 ml
- g. Scalpel yang sudah diberi tanda batas kedalam luka
- h. Alat dokumentasi
- i. Pencabut bulu
- j. Sarung tangan
- k. Kandang
- l. Bak instrumen steril yang diberikan cairan disinfektan
- m. Penggaris
- n. Pinset anatomis dan sirugis
- o. Bak instrumen tanpa cairan

p. Spidol

2) Bahan penelitian

- a. Gel bunga rosella
- b. Ekstrak etanol daun kayu manis
- c. Nacl 0,9%

F. Prosedur Penelitian Dan Pengambilan Data

1. Jalannya penelitian

a. Pembuatan bahan

i. Gel bunga rosella

1) Pembuatan ekstrak

Diawali dengan pembuatan ekstrak etanol bunga rosella menggunakan teknik maserasi pertama adalah proses pengeringan siapkan bunga rosella merah sekitar 500 gr kemudian bersihkan di air mengalir (jangan terlalu lama agar tidak merusak kandunginya) setelah itu potong bunga rosella dengan tujuan untuk mempercepat pengeringan, kemudian taruh

di wadah terbuka tempatkan pada ruangan yang terkena matahari namun beri tutup wadah menggunakan kain hitam bertujuan agar tidak merusak kandungan zat aktif pada bunga rosella jangan juga memanaskan terlalu lama karena bisa merusak kandungannya cukup dengan durasi 2 jam jika panas tercukupi, selanjutnya blender bunga rosella dan timbang hingga mencapai 10 gr, kemudian siapkan wadah seperti botol maupun gelas yang bisa ditutup masukkan 10 gr bunga rosella kedalam botol tersebut selanjutnya siapkan zat pelarut bisa aquades maupun etanol sebanyak 100 ml pada penelitian ini menggunakan etanol 70% jadi interval untuk didiamkan sekitar 6-9 jam, kemudian masukkan zat pelarut dengan perbandingan 1:10 yaitu 50 ml kedalam botol yang berisikan bunga rosella aduk secara perlahan kemudian tutup dan taruh di ruangan yang tidak terkena cahaya matahari diamkan selama 3 jam kemudian aduk kembali secara perlahan dan tutup kembali lalu diamkan selama 6 jam, setelah itu saring menggunakan wadah yang sudah dilapisi kain flanel lalu taruh sisa ampas itu ke dalam botol kembali kemudian lakukan pengulangan prosedur sama seperti sebelumnya dimulai dari menuangkan 50 ml etanol 70% kemudian kedua hasil tersebut digabung menjadi satu wadah, lalu dilanjutkan dengan teknik evaporasi untuk mengurangi kadar air.

2) Pembuatan gel

Sebelum menuju pembuatan gel, pertama yaitu penentuan dosis konsentrasi efektif ekstrak dari bunga rosella terlebih dahulu. Pada penelitian Hidayah tahun 2019 menyatakan bahwa konsentrasi efektif yaitu 15%, maka dapat disimpulkan dengan rumus berikut:

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

Keterangan:

L = Konsentrasi larutan (%)

α = Massa zat terlarut

b = Massa larutan (mg)

pada penelitian ini menggunakan gelling agent yaitu hydroxyethylcellulose sebanyak 0,70 gr sehingga didapat hasil:

- Konsentrasi 15%

0,105 ekstrak bunga rosella dicampur dengan 0,70 gr hydroxyethylcellulose.

Selanjutnya proses pembuatan gel

Siapkan air matang 90 gram lalu tuangkan ke wadah campurkan ekstrak etanol bunga rosella kemudian aduk dan diamkan selama 5 menit dengan ditutup plastik wrap, berikutnya siapkan wadah

kecil masukkan 8.80 gr *vegetable glycerine* (pelembab) dan 0,70 gr hydroxyethylcellulose (gelling agent) kemudian aduk lalu campurkan pada air ekstrak tadi aduk kembali tutup dengan plastik wrap dan diamkan selama 1 jam, kemudian pindahkan ke wadah penyimpanan.

ii. Ekstrak etanol daun kayu manis

1) Pembuatan ekstrak

Pembuatannya ekstrak sama dengan pembuatan ekstrak sebelumnya yaitu menggunakan teknik maserasi dan dilanjutkan dengan teknik evaporasi, untuk penentuan dosis konsentrasi efektif merujuk pada penelitian (Astika et al., 2022) menyatakan bahwa konsentrasi efektif yaitu 20%, maka dapat disimpulkan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

L = Konsentrasi larutan (%)

α = Massa zat terlarut

b = Massa larutan (mg)

pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 70% 100 ml dengan dibagi menjadi 2 siklus yaitu 50 ml pertama dan 50 ml kedua, sehingga didapat hasil:

- Konsentrasi 20%

10 gram ekstrak daun kayu manis dicampur dengan pelarut etanol 70% 50 ml (dengan 2 kali siklus hingga 100 ml)

b. Pemilihan tikus

Pemilihan tikus mencit putih akan disortir dengan dasar kriteria inklusi yang sudah dibuat.

c. Pembagian kelompok perlakuan

Tikus putih yang digunakan berjumlah 15 ekor dibagi menjadi 3 kelompok yaitu:

- 1) 5 ekor tikus mencit putih diberi perlakuan dengan olesan gel bunga rosella (kelompok eksperimen)
- 2) 5 ekor tikus mencit putih diberi perlakuan dengan olesan ekstrak etanolik daun kayu manis (kelompok eksperimen)
- 3) 5 ekor tikus mencit putih tanpa diberi perlakuan (kelompok kontrol)

d. Pemberian perlakuan

Langkah – langkah kerja sebagai berikut:

- 1) Tentukan lokasi insisi yaitu pada area punggung tikus mencit putih
- 2) Memangkas bulu menggunakan alat cukur dengan diameter luas sekitar ± 4 cm kemudian bersihkan area tersebut menggunakan kasa steril dan alkohol 70%
- 3) Pasang duk kain operasi pada area insisi
- 4) Kemudian cuci tangan
- 5) Gunakan sarung tangan
- 6) Lakukan anestesi menggunakan obat bius (xylazine ketamin) secara intramuscular
- 7) Ukur panjang luka insisi linear menggunakan penggaris dengan panjang ± 2 cm kemudian tandai menggunakan spidol.

- 8) Lakukan penyayatan kulit menggunakan scalpel steril pada luka yang sudah diberi tanda, perhatikan juga kedalaman luka (± 1 mm dengan melihat panjang mata pisau scalpel pada umumnya).
- 9) Taruh scalpel pada bak steril berisi disinfektan
- 10) Kemudian segera lakukan irigasi luka menggunakan NaCl 0,9% menggunakan spuit 5 ml hingga pendarahan berhenti
- 11) Keringkan luka menggunakan kasa steril kering dengan gerakan dari dalam keluar
- 12) Lalu ganti sarung tangan dengan sarung tangan baru
- 13) Kemudian lakukan prosedur perawatan luka kelompok eksperimen dengan olesan gel bunga rosella, ekstrak etanolik daun kayu manis, dan kelompok kontrol cukup sampai dipembersihan luka
- 14) Perawatan luka akan dibiarkan terbuka agar memudahkan proses pengamatan
- 15) Taruh kembali tikus ke dalam kandang

e. Perawatan luka

Semua kelompok mendapat perawatan luka dengan intensitas sama yang dilakukan setiap hari pada pukul 09.00 WIB, dengan prosedur kerja sebagai berikut:

- 1) Cucilah tangan terlebih dahulu
- 2) Gunakan sarung tangan

- 3) Posisikan tikus nyaman mungkin agar mempermudah perawatan
- 4) Kemudian amati kondisi luka, ukuran luka, dan adanya cairan (eksudat)
Catat hasil temuan dan dokumentasikan luka tersebut
- 5) Ganti sarung tangan dengan yang baru
- 6) Kemudian pada kelompok eksperimen oleskan gel bunga rosella, ekstrak etanolik daun kayu manis, dan kelompok kontrol cukup dibiarkan saja
- 7) Taruh kembali tikus ke dalam kandang
- 8) Lepaskan sarung tangan kemudian rapikan semua instrumen dan cuci tangan

2. Pengamatan penelitian

Pengamatan dilakukan pada hari kedua, pada ketiga kelompok tikus setiap pagi harinya pada saat dilakukan perawatan, pengamatan dilakukan secara makroskopik dengan menggunakan kaca pembesar jika dibutuhkan, dan difoto sebagai dokumentasi perkembangan luka. Selain itu pencatatan dibantu dengan menggunakan check list kriteria kesembuhan luka meliputi wound base (nekrotik, slough, granulasi, dan epitelisasi), tanda infeksi, kedalaman luka, dan tepi luka.

G. Metode Analisis Data

Pengolahan data dibantu menggunakan komputerisasi, hasil penelitian tanda penyembuhan luka insisi didapatkan dari data rata – rata lama penyembuhan luka insisi dalam hitungan hari. Analisis data yang dipilih adalah skala data numerik dengan diuji terlebih dahulu normalitasnya dengan metode *Shapiro wilk* tes karena sampel yang kecil ≤ 50 . Dengan asumsi distribusi data tidak normal maka akan dilakukan metode analisis *Kruskal wallis* pada semua kelompok penelitian, kemudian dilanjutkan dengan tes *Man whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan signifikan dari kelompok tersebut.

H. Etika Penelitian

Prinsip prinsip dasar etika menggunakan hewan coba yaitu.

a. Yang pertama adalah

1) Respect

Menghormati hewan coba sebagai makhluk hidup.

2) Benefeciary

Bermanfaat bagi manusia dan mkhluk lain.

3) Justice

Adil dalam memanfaatkan hewan coba.

b. Yang kedua adalah

1) Reduction

Memanfaatkan hewan semiminal mungkin yang dapat memberikan hasil penelitian yang valid.

2) Replacement

Relatif, menggunakan anatomi ataupun sel dari hewan yang dimatikan secara manusiawi.

3) Refinement

Mengurangi rasa penderitaan hewan dan menjamin kesejahteraannya.

c. Yang ketiga adalah

1) Freedom from hunger and thirst

Memberikan nutrisi yang memadai.

2) Freedoms from discomfort

Bebas dari rasa yang tidak nyaman (merujuk pada lingkungan dan kandang).

3) Freedoms from pain, injury and disease

- Pemilihan prosedur yang dapat meminimalkan rasa sakit
- Penggunaan anestesia jika diperlukan

4) Freedoms from fear and distress

Usahakan kondisi lingkungan yang baik dan berikan waktu untuk adaptasi.

5) Freedoms to express natural behavior

Memberikan lingkungan yang sebisa mungkin seperti habitat aslinya.

Jangan lupa buatlah assessment atau log book yang dipergunakan untuk mencatat perkembangan dari penelitian itu sendiri.