**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

1. **Desain penelitian**

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan desain penelitian *true experimental* dengan pengamatan *post-test only control group design,* untuk mengukur pengaruh lidah buaya *(Aloe vera)* 10%, dan 20% pada kelompok eksperimen dengan membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol yang menggunakan *Silver sulfadiazine* 1% dan Ns 0,9% terhadap kadar neutrofil, basofil dan eosinofil (Setiadi, 2013).

Gambar 3.1 Skema *post-tes only control group design*

**X1**

**X2**

**X3**

**X4**

**PA**

**PB**

**KA**

**KB**

**P**

**Ra**

**O4**

**O4**

**O4**

**O4**

**O8**

**08**

**08**

**08**

**O12**

**O12**

**O12**

**O12**

Keterangan :

1. P : Populasi
2. Ra : Random Alokasi
3. KA : Kelompok kontrol 1 menggunakan Ns 0,9%
4. KB : Kelompok kontrol 2 menggunakan Silver Sulfadiazine 1%
5. PA : Kelompok perlakuan 1 menggunakan gel lidah buaya (Aloe vera) dengan konsentrasi 10%.
6. PB : Kelompok perlakuan 2 menggunakan gel lidah buaya (*Aloe* vera0 20%.
7. X1 : Perlakuan pada kelompok kontrol 1 diberikan perawatan menggunakan Ns 0,9%
8. X2 : Perlakuan pada kelompok kontrol 2 diberikan perawatan menggunakan *Silver Sulfadiazine* 1%
9. X3 : Perlakuan pada kelompok perlakuan 1 diberikan perawatan menggunakan gel lidah buaya (Aloe vera) dengan konsentrasi 10%,
10. X4 : perlakuan pada kelompok perlakuan 2 diberikan perawatan menggunakan gel lidah buaya (*Aloe* vera) 20%.
11. O4 : hasil observasi pemeriksaan post tes terhadap kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke-4
12. O8 : hasil observasi pemeriksaan post tes terhadap kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke-8
13. O12 : hasil observasi pemeriksaan post tes terhadap kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol pada hari ke-12
14. **Teknik Sampling**
15. **Populasi**

Populasi penelitian pada penelitian ini adalah tikus galur wistar *(Rattus novegicus)* dengan luka bakar derajat II.

1. **Sampel dan Besar sampel**

Penghitungan jumlah tikus yang digunakan sebagai hewan coba, dapat menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

(r-1) (t-1) ≥ 15

t = banyak intervensi

r = Banyak sampel tiap perlakuan

Jika di dalam penelitian ini diketahui pengulangan t=12, maka didapat nilai r sebagai berikut:

(r-1) (12-1) ≥ 15

(r-1) (12-1) ≥ 15

(r-1) 11 ≥ 15

11r - 11 ≥ 15

11r ≥15+11

11r ≥ 26

r ≥ 2,4

r = 3

Jadi jumlah sampel untuk setiap kelompok minimal 3 ekor, dan cadangan 2 tikus. Jadi sampel awal yang disediakan yaitu 5 ekor pada setiap kelompok. Pengukuran dilakukan selama 3 hari pada masing-masing kelompok, sehingga masing-masing kelompok dibutuhkan jumlah sampel 15 ekor. .

1. **Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi merupakan kriteria dimana subjek penelitian mewakili sampel peneliti yang memenuhi syarat sebagai sampel. Pertimbangan ilmiah harus menjadi pedoman dalam menentukan kriteria inklusi (Nursalam, 2017). Dalam penelitian ini kriteria inklusi adalah :

1. Jenis tikus adalah tikus putih *Rattus novergicus* galur wistar.
2. Berjenis kelamin jantan.
3. Berat badan antara 150-250 gram.
4. Kondisi sehat ditandai dengan pergerakan aktif, bulunya licin, mengkilat dan bersih, bulunya tebal dan tidak ada kerontokan bulu yang berarti, badannya tegap tidak kerempeng, tidak keluar lendir, nanah atau darah dari mata atau telinga, tidak terlalu banyak ludah, tidak mencret dan pernapasan tenang.
5. Tidak mendapat pengobatan sebelumnya.
6. Tidak ada kecacatan pada bagian punggung tikus.
7. Aklimatisasi selama 7 hari.
8. **Kriteria Eksklusi**

Kriteria eksklusi (kriteria yang tidak layak diteliti) adalah menghilangkan/ mengeluarkan subyek yang memenuhi kriteria inklusi dan studi karena berbagai sebab (Setiadi, 2013). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah :

1. Tikus mengalami luka infeksi yang ditandai dengan adanya pus (nanah), eksudat yang berlebihan sebelum di aklimatisasi.
2. Tikus mengalami luka bisa karena gigitan, atau benda tajam lainnya sebelum di aklimatisasi.
3. **Teknik Sampling**

Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *purposive sampling*, sampel diambil dari 2 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan yang sesuai dari kriteria Inklusi dan eksklusi yang ditentukan oleh peneliti.

1. **Variabel Penelitian**

Variabel penelitian dibedakan menjadi variabel dependen (variabel terikat) dan variabel independen (variabel bebas).

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perawatan luka menggunakan ekstrak lidah buaya *(Aloe vera)* dengan konsentrasi 10% dan 20%.

* + 1. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil luka bakar derajat II pada tikus putih *(Rattus novergicus)* galur wistar.

1. **Definisi Operasional Variabel**

Definisi Operasional Pengaruh Gel Lidah Buaya *(Aloe avera)* dengan konsentrasi 10% dan 20 % terhadap Kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil pada Hewan Coba Tikus Galur Wistar dengan Luka Bakar Derajat II yaitu:

**Tabel 3.1 Tabel Definisi Operasional Variabel**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Variabel** | **Definisi Operasional** | **Parameter** | **Alat Ukur** | **Skala** | **Skoring** |
| Perawatan luka menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* | Suatu tindakan melakukan perawatan luka bakar derajat II dengan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* yang diekstrak dengan menggunakan etanol | 1. Perawatan luka bakar derajat II sesuai dengan SOP
 | Cheklist perawatan luka bakar derajat II | \_ | \_ |
| Kadar Neutrofil | Penilaian kadar neutrofil yaitu differensiasi dari leukosit (sel darah putih) melalui pemeriksaan darah lengkap. | Jumlah/kadar neutrofil pada differential count dalam hasil pemeriksaan dalam lengkap (dalam …. x 109/L) | Fotometer | Rasio | - |
| Kadar Basofil | Penilaian kadar basofil yaitu differensiasi dari leukosit (sel darah putih) melalui pemeriksaan darah lengkap. | Jumlah/kadar basofil pada differential count dalam hasil pemeriksaan dalam lengkap (dalam …. x 109/L) | Fotometer | Rasio | - |
| Kadar Eosinofil | Penilaian kadar eosinofil yaitu differensiasi dari leukosit (sel darah putih) melalui pemeriksaan darah lengkap | Jumlah/kadar eosinofil pada differential count dalam hasil pemeriksaan dalam lengkap (dalam …. x 109/L) | Fotometer | Rasio  | - |

* 1. **Alat, Bahan, dan Instrumen Penelitian**
1. **Pembuatan Gel Lidah Buaya (Kusumawati, 2012)**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Timbangan ukur
2. Gelas ukur
3. Alat pembuatan ekstrak
4. Alat uji daya lekat gel
5. Alat uji daya sebar gel
6. Alat uji viskositas gel
7. Alat formulasi gel
 | Bahan :1. Lidah buaya
2. Aquades
3. Handscon
4. Etanol 70%
 |

1. **Pembuatan Luka Bakar Derajat II.**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Benson
2. Pisau cukur / gunting
3. Pinset
4. Termometer
5. Jas lab
6. Pemantik api
7. Arloji
 | Bahan :1. Kassa steril
2. Povidon Iodin
3. Spirtus
4. Alcohol 70%
5. Normal saline
6. Sarung tangan
7. Obat anestesi (chloroform)
8. Povidone Iodine
9. Aquadest
10. Uang Logam
 |

1. **Pengukuran kadar neutrofil, basofil, dan eosinofl**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Spuid 3 cc
2. Alat ukur darah lengkap di laboratorium
3. Vacutainer Ungu
 | Bahan :1. Alkohol swap
 |

1. **Perawatan Luka**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Bak instrumen
2. Bengkok
3. Pinset Anatomis 2 buah
4. Kom
5. Gunting
 | Bahan :1. Kassa steril
2. Kassa bersih
3. Gel lidah buaya
4. Silver sulfadiazine 0,1 %
5. Aquades
6. Transparan film
 |

1. **Pemeliharaan Tikus Galur Wistar**
2. Kandang/bak tikus dan sekam
3. Penutup kandang dari anyaman kawat
4. Botol air
5. Makanan tikus
6. **Teknik Pencegahan Infeksi**
7. Tempat cuci tangan/wastafel
8. Sabun cuci tangan
9. *Hand Sanitizer*
10. Kain handuk kecil
11. Sarung tangan bersih/steril
12. **Instrument Penelitian**

Instrument yang digunakan dalam penelitian ini adalah lembar observasi. Dengan cara melakukan observasi pada hasil kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil setelah diberikan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* pada hari ke-4, ke-8, dan ke-12 lalu dibandingkan dengan kelompok kontrol.

* 1. **Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium hewan coba Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Malang yang akan dilaksanakan bulan Mei 2018. Dengan pembuatan gel Lidah buaya (*Aloe vera)* di laboratorium Materia Medika Batu.

* 1. **Metode Pengumpulan Data**
1. **Perijinan Penelitian**

Hal – hal yang dilakukan peneliti untuk mengurus izin penelitian adalah sebagai berikut:

1. Peneliti mengurus surat untuk perijinan penelitian menggunakan hewan coba yang ditujukan kepada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Malang.
2. Peneliti mengurus surat perijinan menggunakan Laboratorium untuk penelitian yang ditujukan kepada kepala Laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang.
3. **Pembuatan gel lidah buaya *(Aloe vera)* sekaligus analisa fitokimia.**

Peneliti menyiapkan lidah buaya yang akan dijadikan gel lalu pembuatan gel lidah buaya (*Aloe vera)* dilakukan di Laboratorium Materia Medika Batu.

1. **Menentukan Sampel Penelitian**

Sampel penelitian ditentukan sesuai dengan kriteria inklusi masing-masing 15 tikus pada tiap kelompok penelitian.

1. **Pembuatan Luka Bakar Derajat II pada Tikus**

Rambut tikus bagian punggung dicukur sampai permukaan kulit. Lalu desinfeksi dengan Alkohol. Lalu luka bakar dibuat dengan cara tempelkan uang logam yang dibungkus kassa steril yang telah dicelupkan ke dalam air steril 1000C selama 3 menit lalu ditempelkan ke kulit tikus selama 10 detik.

1. **Perawatan luka bakar derajat II**

Perawatan luka bakar derajat II dilakukan oleh peneliti dengan menggunakan NaCl 0,9% pada kelompok kontrol 1, *Silver sulfadiazine* 1% pada kelompok kontrol 2, Gel lidah buaya (*Aloe vera)* 10% pada kelompok perlakuan 1, dan Gel lidah buaya (*Aloe vera*) 20% pada kelompok perlakuan 2.

1. **Pemeriksaan kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil**

Pemeriksaan kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil dilakukan pada hari ke-4, ke-8 dan ke-12 dengan pemeriksaan darah lengkap. Yaitu sampel darah dari hewan coba akan diambil dan dilakukan pemeriksaan di laboratorium RSUB Malang.

* 1. **Analisa Data**
1. *Editting*

*Editting* adalah upaya untuk memeriksa kembaali kebenaran data yang diperoleh atau dikumpulkan (Setiadi, 2013)

1. *Coding*

Mengklasifikasikan jawaban – jawaban dari para responden ke dalam bentuk angka/bilangan. Biasanya klasifikasi dilakukan dengan cara memberi tanda/kode berbentuk angka pada masing – masing jawaban/hasil (Setiadi, 2013)

Kode kelompok tikus

PA : Kelompok perlakuan gel lidah buaya (*Aloe vera)* 10%

PB : Kelompok perlakuan gel lidah buaya (*Aloe vera)* 20%

KA : Kelompok kontrol 1 NaCl 0,9%

KB : Kelompok kontrol 2 Silver Sulfadiazine 1 %

1. *Tabulating*

Tabulating yaitu pengelompokan jawaban-jawaban serupa dengan cara yang diteliti dan teratur, kemudian dihitung dan dijumlahkan berapa banyak peristiwa yang termasuk dalam kategori kemudian diwujudkan dalam bentuk tabel-tabel.

1. Entri Data

Data entri adalah kegiatan memasukan data yang telah dikumpulkan ke dalam master tabel atau database komputer, kemudian membuat distribusi frekuensi sederhana atau bisa juga dengan membuat tabel kontinjensi (Setiadi, 2013).

1. Analisa Data

Analisa dan pengolahan data akan dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS 23. Data yang diperoleh diuji menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-wilk*  untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Setelah itu data diuji dengan uji komparasi bivariat *Independent T-test* dan *Paired T-test.*

1. Penyajian Data

Data disajikan dalam bentuk diagram batang dan tabel.

* 1. **Etika Penelitian**

Dalam penelitian ini mengikuti prinsip 3R *(Replecement, Reduction, Refinement*) sesuai dengan etika penelitian hewan coba yaitu:

1. *Replecement*, yaitu dalam penelitian ini menggunakan tikus putih galur wistar (*Rattus novegicus*) sehat serta memiliki berat badan 150-250 gram, kemudian dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi yang sudah di tetapkan.
2. *Reduction*, besaran sampel yang digunakan akan ditentukan berdasarkan dari jumlah sampel tiap perlakuan dengan jumlah pada kelompok perlakuan.
3. *Refinement*

 Pada penelitian ini prinsip yang digunakan yaitu prinsip 5F (Freedom) :

1. Bebas dari haus dan kelaparan
2. Bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit
3. Bebas dari ketidaknyamanan
4. Bebas dari ketakutan dan kesusahan
5. Mengekspresikan tingkah laku alam
	1. **Kerangka Kerja**

Penyusunan Proposal

Pengajuan Seminar Proposal

Sidang Seminar Proposal

Pengajuan *Etichal Clearence*

**POPULASI**

Dalam penelitian ini populasi penelitian adalah hewan coba tikus *(Rattus Norvegicus)* dengan Luka Bakar Derajat II

**SAMPLING**

*Purposive Sampling*

**SAMPEL**

Sesuai kriteria inklusi 15 ekor tiap kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol

Aklimitasi selama 7 hari dipelihara di kandang, makan, minum sesuai standart

Rambut tikus bagian punggung dicukur sampai permukaan kulit. Lalu desinfeksi dengan Providon Iodin. Lalu luka bakar dibuat dengan cara tempelkan uang logam yang dibungkus kassa steril yang telah dicelupkan ke dalam air steril mendidih 1000C lalu ditempelkan ke kulit tikus selama 10 detik.

Kelompok Perlakuan I

Kelompok Perlakuan I

Kelompok Kontrol I

Kelompok Kontrol II

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan Gel Lidah Buaya 10%

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan Gel Lidah Buaya 20%

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan NS 0,9%

Perawatan luka bakar derajat II dengan menggunakan *Silver Sulfadiazine 1%*

Dilakukan Pemeriksaan DL untuk melihat kadar neutrofil, basofil, dan eosinofil pada hari ke-4, 8, dan 12

Metode pengumpulan data dan analisa menggunakan analisis Komparatif bivariat

1. Dilakukan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui distribusi data
2. Dilakukan uji komparatif *Independent t-test* dan *Paired T-test*