**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

* 1. **Jenis/Desain/Rancangan Penelitian**

Dalam penelitian ini, peneliti akan menggunakan desain penelitian *experimental.* Metode pengamatan dalam penelitian ini menggunakan pengamatan *post-tes only control group design,* yaitu untuk mengukur pengaruh gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Pada rancangan ini terdapat 2 kelompok perlakuan dan 2 kelompok kontrol. Berikut skema *post-tes only control group design*

**O2**

**X1**

**R1**

**O2**

**X2**

**R2**

**O2**

**X3**

**R3**

**Ra**

**P**

**O2**

**X4**

**R4**

Keterangan :

1. P : Populasi
2. Ra : Random Alokasi
3. R1 : Kelompok kontrol (-) 1 menggunakan NaCl 0,9%.
4. R2 : Kelompok kontrol (+) 2 menggunakan Silver Sulfadiazine 1%.
5. R3 : Kelompok perlakuan 1 menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* 10%
6. R4 : Kelompok perlakuan 2 menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* 20%
7. X1 : Perlakuan pada kelompok kontrol 1 diberikan perawatan menggunakan Normal Saline 0,9%.
8. X2 : Perlakuan pada kelompok kontrol 2 diberikan perawatan menggunakan Silver Sulfadiazine 1%.
9. X3 : Perlakuan pada kelompok perlakuan 1 yang diberikan perawatan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* 10%
10. X4 : Perlakuan pada kelompok perlakuan 2 yang diberikan perawatan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* 20%
11. O2 : Hasil observasi pemeriksaan *post test* terhadap Re-epitelisasi jaringan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.
    1. **Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Sampling**
       1. **Populasi**

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

* + 1. **Sampel dan Besar Sampel**

Dalam melakukan penghitungan jumlah tikus yang akan digunakan sebagai hewan coba, dapat menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

(r-1) (t-1) ≥ 15

t = Jumlah intervensi baik perlakuan maupun kontrol

r = Banyak sampel tiap perlakuan

Jika didalam penelitian ini diketahui pengulangan t = 15, maka didapat nilai n sebagai berikut:

(r-1)(t-1) ≥ 15

(r-1)(12-1) ≥ 15

(r-1)11 ≥ 15

11r-11 ≥ 15

11r ≥ 26

r ≥ 2,4

r ≥ 3

Jadi jumlah sampel untuk setiap kelompok minimal 3 ekor pada setiap kelompok. Pengukuran akan dilakukan selama 3 hari pada masing-masing kelompok, sehingga masing-masing kelompok dibutuhkan jumlah sampel 12 ekor.

* + - 1. **Kriteria Inklusi**

Kriteria inklusi merupakan kriteria yang memenuhi syarat sebagai sampel. Dalam penelitian ini kriteria inklusi adalah :

1. Jenis tikus adalah tikus putih *Rattus norvegicus* galur wistar usia 2-3 bulan.
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.
   * + 1. **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.
   * 1. **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**

1. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perawatan luka bakar derajat II menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)*.
2. Variabel terikat pada penelitian ini adalah Re-epitelisasi jaringan pada tikus putih *(Rattus norvegicus)* galur wistar dengan luka bakar derajat II.
   1. **Definisi Operasional Variabel**

**Tabel 3.1** Definisi Operasional Pengaruh Perawatan Luka Bakar Derajat II Menggunakan Topikal Gel Lidah Buaya ( *Aloe Vera)* Terhadap Re-epitelisasi Jaringan Pada Tikus Galur Wistar *(Ratus Norvegicus)*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Variabel** | **Definisi Operasional** | **Parameter** | **Alat Ukur** | **Skala** |
| 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 | **Perawatan Luka**   1. Mempersiapkan alat dan bahan 2. Melakukan cuci tangan 6 langkah dan memakai APD 3. Melakukan pencucian luka dengan *aquadest* 4. Mengobservasi keadaan luka 5. Memberikan gel lidah buaya (*Aloe vera)* secara topikal pada luka 6. Merapikan tikus dan bereskan peralatan | SOP perawatan luka bakar | \_ |
| Re-epitelisasi jaringan | Proses pertumbuhan kembali sel-sel epitel melalui pewarnaan Hematoxilin Eosin. | Pertumbuhan jaringan epitel dilihat menggunakan mikroskop Olympus dengan aplikasi Olyvia dengan pembesaran 400x dimana epitel diukur dari lapisan stratum korneum sampai dengan stratum basale. Pengukuran dilakukan pada tiga area yang berbeda, yaitu di sisi kiri dasar luka, pertengahan dasar luka dan sisi kanan dari dasar luka, kemudian ditarik garis penghitungan sejumlah enam garis, lalu diambil nilai rata-rata dari semua garis penghitungan. | Lembar Observasi | - |

* 1. **Alat, Bahan, dan Instrumen Penelitian**

1. **Pembuatan Gel Lidah Buaya (Kusumawati, 2012) dilakukan oleh Pakar bersama peneliti di Laboratorium Materia Medika Batu (Terlampir)**

|  |  |
| --- | --- |
| 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 dilakukan oleh Pakar bersama peneliti di Laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang (Terlampir)**

|  |  |
| --- | --- |
| 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 salinee 6. Sarung tangan 7. Obat anestesi (chloroform) 8. Povidone Iodine 9. Aquadest 10. Uang Logam |

1. **Perawatan Luka (Terlampir)**

|  |  |
| --- | --- |
| 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 di Laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang (Terlampir)**
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. **Teknik pemeriksaan Re-epitelisasi jaringan menggunakan HE (Terlampir)**
13. Tempat/wadah kulit luka bakar
14. Handscoon steril
15. Formalin 10%
16. Gunting steril
17. **Instrument Penelitian**

Instrument yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah lembar observasi untuk mengobservasi re-epitelisasi jaringan menggunakan pewarnaan Hematoxilin Eosin 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 akan dilaksanakan di Laboratorium hewan coba Politeknik Kesehatan Kementrian Kesehatan Malang yang akan dilaksanakan tanggal 1 – 21 Mei 2018. Dengan pembuatan gel Lidah buaya (*Aloe vera)* di laboratorium Materia Medika Batu. Kemudian untuk pemeriksaan pewarnaan Hematoxilin Eosin dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya.

* 1. **Metode Pengumpulan Data**

1. **Perijinan Penelitian**

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

1. Peneliti mengurus surat persetujuan untuk perijinan persetujuan penelitian menggunakan hewan coba yang ditujukan kepada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Malang.
2. Peneliti mengurus surat persetujuan perijinan menggunakan Laboratorium untuk persetujuan penelitian yang ditujukan kepada kepala Laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang.
3. Peneliti mengurus surat persetujuan untuk perijinan melakukan pewarnaan Hematoxilin Eosin di Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Brawijaya Malang.
4. **Pembuatan gel lidah buaya *(Aloe vera)* sekaligus analisa fitokimia.**

Peneliti menyiapkan lidah buaya yang akan dijadikan gel lalu pembuatan gel lidah buaya (*Aloe vera)* yang dilakukan di Laboratorium Materia Medika Batu oleh pakar bersama peneliti pada Minggu IV Bulan April sampai Minggu I Bulan Mei 2018.

1. **Menentukan Sampel Penelitian**

Sampel penelitian ditentukan sesuai dengan kriteria inklusi masing-masing 3 tikus pada tiap kelompok penelitian.

1. **Aklimitasi Tikus selama 7 hari**

Pemeliharaan tikus sebelum diberikan luka bakar dilakukan di laboratorium hewan coba Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang oleh Pakar bersama Peneliti dilakukan pada Minggu I Bulan Mei 2018

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

Rambut tikus bagian punggung dicukur sampai permukaan kulit, kemudian didesinfeksi dengan Normal salin, kemudian luka bakar dibuat dengan cara di tempelkan uang logam yang dibungkus kassa steril yang telah dimasukan ke dalam air steril mendidih 1000C lalu ditempelkan ke kulit tikus selama 10 detik. Pembuatan luka bakar dilakukan oleh Pakar bersama Peneliti pada Minggu ke II Bulan Mei 2018.

1. **Perawatan luka bakar derajat II dan pemeriksaan Re-epitelisasi Jaringan menggunakan Pewarnaan HE dilakukan pada Minggu ke II Bulan Mei 2018.**
   1. Pada 20 tikus masing-masing 5 tikus dari setiap kelompok dilakukan perawatan pada hari ke-1 sampai ke-4. Setelah itu tikus akan diambil daranhnya oleh peneliti lain, sehingga tikus akan mati. Kemudian setelah itu dilakukan pengambilan jaringan kulit luka bakar dengan cara di potong bulat sesuai dengan bekas uang logam, kemudia dilakukan pemeriksaan re-epitelisasi dengan menggunakan pewarnaan HE pada hari ke-4.
   2. Pada 20 tikus selanjutnya masing-masing 5 tikus dari setiap kelompok dilakukan perawatan pada hari ke-1 sampai ke-8. Setelah itu tikus akan diambil daranhnya oleh peneliti lain, sehingga tikus akan mati. Kemudian setelah itu dilakukan pengambilan jaringan kulit luka bakar dengan cara di potong bulat sesuai dengan bekas uang logam, kemudia dilakukan pemeriksaan re-epitelisasi dengan menggunakan pewarnaan HE pada hari ke-8.
   3. Pada 20 tikus selanjutnya masing-masing 5 tikus dari setiap kelompok dilakukan perawatan pada hari ke-1 sampai ke-12. Setelah itu tikus akan diambil daranhnya oleh peneliti lain, sehingga tikus akan mati. Kemudian setelah itu dilakukan pengambilan jaringan kulit luka bakar dengan cara di potong bulat sesuai dengan bekas uang logam, kemudia dilakukan pemeriksaan re-epitelisasi dengan menggunakan pewarnaan HE pada hari ke-12.

Pemeriksaan Re-epitelisasi jaringan tersebut dilakukan pada hari ke-4, ke-8 dan ke-12 dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin yaitu sampel kulit luka bakar dari hewan coba yang diambil 3-5 cm dan dilakukan pemeriksaan di laboratorium FKUB Malang.

1. **Dekapitasi atau pemusnahan tikus**

Setelah tikus yang diambil sampel darahnya oleh peneliti lain, tikus akan mati, kemudian tikus dikubur di sebelah kamar mandi dekat tempat perawatan hewan coba tikus di Politeknik Kesehatan Kemenkes 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

AV 1 : Kelompok perlakuan gel lidah buaya (*Aloe vera)* 10%

AV 2 : Kelompok perlakuan gel lidah buaya (*Aloe vera)* 20%

NaCl : Kelompok kontrol 1 *Normal Salin* 0,9 %

SSD : 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

Dalam penelitian ini analisis univariat digunakan untuk menjelaskan atau mendiskripsikan angka atau presentase re-epitelisasi jaringan secara mikroskopis melalui pewarnaan Hematoxilin Eosin dengan menggunakan *distribusi frekuensi.* Analisa dan pengolahan data akan dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS. Data yang diperoleh akan diuji menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov*  untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak yaitu jika P>0,05 berarti normal dan P<0,05 berarti tidak normal. Setelah itu data akan diuji dengan uji univariat dan komparasi multivariat sampel bebas parametric (apabila data berdistribusi normal) dan non parametric (apabila data berdistribusi tidak normal). Apabila P>0,05 H1 ditolak dan HO diterima, sebaliknya jika P<0,05 H1 diterima dan H0 ditolak.

1. Penyajian Data

Data akan disajikan dalam bentuk diagram garis dan histogram.

* 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