

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah *True Experiment* dengan desain *Post-Test Only Control Group Design* yang meneliti tentang kemungkinan sebab akibat antara kelompok yang diberi perlakuan (kelompok eksperimen) dengan kelompok kontrol (tidak diberi perlakuan) lalu membandingkan keduanya.

4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang dan waktu pelaksanaan penelitian akan dilakukan selama 2 bulan, dimulai pada bulan April hingga Mei.

4.3 Populasi dan Sampel

a. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus strain wistar*). Tikus jenis ini mempunyai daya tahan tubuh yang cukup kuat, mudah dipelihara, dan memiliki respon biologis yang hampir mirip dengan manusia.

b. Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan strain wistar (*Rattus norvegicus strain wistar*) sebanyak 20 ekor berumur 2-3 bulan dengan berat 150-250 gram.

c. Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini akan dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu : (1) Kelompok kontrol (+) ; (2) kelompok yang diberi terapi topikal kombinasi madu dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan komposisi 1:1 ml ; (3) kelompok yang diberi topikal kombinasi madu dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan komposisi 1:0,5 ml ; (4) kelompok yang diberi topikal kombinasi madu dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) dengan komposisi 0,5:1 ml. Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan rumus *Degree Of Freedom* (Arifin & Zahiruddin, 2017).

Yaitu :

$$Df = N - k = kn - k = k(n-1)$$

Keterangan rumus :

N = besar sampel total,

n = besar sampel per variabel, dan

k = banyaknya variabel perlakuan.

Sehingga banyaknya sampel yang diperlukan :

$$\text{Minimum } n = 10/k+1 = 10/4+1 = 3,5, \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

tikus per kelompok.

Hasil hitungan menunjukkan besar sampel yang dibutuhkan perkelompok. Untuk total keseluruhan tikus yang dibutuhkan adalah 16 ekor tikus dengan 4 ekor untuk setiap kelompok

perlakuan dan ditambahkan 1 tikus cadangan untuk setiap kelompok sehingga total tikus menjadi 20 ekor.

d. Teknik Pengambilan sampel

Teknik sampling penelitian ini menggunakan teknik *simple random sampling*, metode dengan mengambil sampel dari populasi secara acak berdasarkan probabilitas semua anggota populasi.

e. Karakteristik Sampel Penelitian

- Kriteria Inklusi

1. Umur 2-3 bulan
2. Jenis kelamin jantan
3. Berat badan 150-250 gr.
4. Sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif, bulu tebal dan bulu berwarna putih, serta mata tikus yang jernih

- Kriteria Eksklusi

1. Cacat pada kulit bagian punggung

- Kriteria drop out

1. Luka tidak terbentuk
2. Mati saat proses perawatan luka

4.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis kombinasi madu dan ekstrak teh hijau.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah luas area luka bakar derajat II pada tikus putih

3. Variabel kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah luka bakar derajat II pada tikus putih yang tidak diberikan terapi topikal kombinasi madu dan ekstrak teh hijau.

4.5 Definisi Operasional

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
Kombinasi Madu dan Ekstrak Teh Hijau (<i>Camellia sinensis</i>)	Madu didapatkan dengan cara membeli di <i>E-Commerce</i> dan Ekstrak teh hijau adalah ekstrak dari daun teh hijau yang menggunakan pelarut berupa etanol 70% dengan metode maserasi yang diperoleh dari UPT Laboratorium Herbal Materia Medica. Kedua bahan	<i>Glass beaker</i>	Interval	Campuran madu dan ekstrak teh hijau (<i>Camellia sinensis</i>) dengan komposisi : 1. 1 : 1 ml 2. 0,5 : 1 ml 3. 1 : 0,5 ml

	<p>dicampurkan hingga homogen menggunakan <i>vortex</i> dengan komposisi :</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 ml madu dan 1 ml ekstrak teh hijau. • 0.5 ml madu dan 1 ml ekstrak teh hijau • 1 ml madu dan 0.5 ekstrak teh hijau 			
Luas luka bakar derajat II	<p>Luas luka bakar derajat II terbentuk setelah dilakukan pemanasan pada kulit dengan logam kuningan tabung padat dengan diameter 1,5 cm yang dipanaskan hingga 100 °C kemudian di tempelkan pada kulit punggung tikus selama 10 detik.</p>	<i>Software ImageJ</i>	Ordinal	Terbentuknya luka bakar derajat II dengan bentuk lingkaran dengan luas 1,76 cm ²
Penyembuhan Luas luka bakar derajat II	<p>Luas luka bakar akan dievaluasi pada hari ke 14 yang akan dilakukan dengan melakukan pengambilan gambar disertai dengan penggaris sebagai skala ukur, kemudian akan dilakukan penghitungan luas luka bakar</p>	<i>Software ImageJ</i>	Ordinal	Perubahan luas luka bakar derajat II yang semakin lama akan mengecil

	menggunakan aplikasi <i>Software ImageJ</i>			
--	---	--	--	--

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat pemeliharaan dan perlakuan tikus, meliputi :

- Kandang tikus
- Tempat makan
- Tempat minum
- Masker
- *Handscoon*
- Logam kuningan tabung padat
- Tabung gas kaleng
- Kompor
- Sduit 3 cc
- Sduit 1 cc

b. Alat pengukuran luas area luka bakar, meliputi :

- Penggaris
- *Software ImageJ*

c. Alat membuat ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*), meliputi :

- Blender
- Pengaduk
- Gelas ukur
- Kertas saring
- *Water bath*

- *Vacuum rotary evaporator*
- Kontainer ekstrak
- Tabung reaksi
- d. Bahan anestesi tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*), meliputi :
 - Ketamin-Xylazine
 - Kloroform
- e. Bahan pemeliharaan tikus putih (*Rattus norvegicus strain wistar*), meliputi :
 - Pakan standar
 - Aquades
- f. Bahan untuk membuat ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*), meliputi :
 - Daun teh hijau (*Camellia sinensis*)
 - Etanol 70%
 - Aquades
- g. Bahan dressing untuk terapi topikal luka bakar, meliputi :
 - *Normal saline*
 - *Bandage*
 - Plastik wrap
 - Ekstrak teh hijau
 - Madu

4.7 Prosedur penelitian

a. Proses adaptasi

Subjek penelitian akan diletakkan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang sebagai proses adaptasi selama 7 hari, dimaksudkan agar tikus dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan yang baru.

b. Pembuatan Kombinasi Madu dan Teh hijau

Ekstrak teh hijau diperoleh dengan metode maserasi. Daun teh hijau diubah menjadi bubuk dengan cara digiling. Sekitar 40 g bubuk dicampur dengan 400 ml etanol (70%) pada suhu kamar selama 48 jam. Kemudian, campuran disaring dari mesin pembuat kertas untuk mengekstrak cairan. Setelah ekstrak cair dibuat, dimasukkan ke dalam 10 cawan dalam penangas air selama 48 jam dengan suhu 70°C sampai benar-benar kering. Kemudian, 2 g ekstrak alkohol teh hijau dicampur dengan 100 ml saline; dan akhirnya 2% dari ekstrak alkohol teh hijau diperoleh (Fatemi et al., 2014). Ekstrak alkohol teh hijau akan dimasukkan kedalam tabung reaksi bersama dengan madu dengan perbandingan :1 ml madu dan 1 ml ekstrak teh hijau, 0.5 ml madu dan 1 ml ekstrak teh hijau, 1 ml madu dan 0.5 ml ekstrak teh hijau.

c. Pembuatan Luka Bakar Derajat 2 pada Tikus Putih

Untuk membuat luka bakar pada hewan, tikus dibius dengan injeksi intramuskular ketamin (60 mg/kg) dan xylazine (10

mg/kg). Setelah mencukur bulu punggung hewan, luka bakar derajat dua yang dalam dibuat dengan logam kuningan berbentuk tabung padat dengan panjang diameter 1,5 cm yang dipanaskan hingga 100 ° C kemudian ditempelkan pada kulit bagian punggung tikus selama 10 detik (Almaz et al., 2020; Fatemi et al., 2014).

d. Dressing pada luka bakar

Dressing dilakukan pada hari ke-1, kemudian penggantian dressing dilakukan setiap 2 hari hingga hari ke-13.

e. Pengukuran penyembuhan luas luka bakar

Pemeriksaan makroskopik dilakukan dengan mengambil foto area yang terbakar menggunakan kamera *handphone iphone 11 pro* pada hari ke-14. Jarak pengambilan foto adalah 10 cm dari luka dan digunakan penggaris sebagai penanda atau skala foto. Perubahan luas permukaan luka bakar diukur dengan perangkat lunak ImageJ (Fatemi et al., 2014).

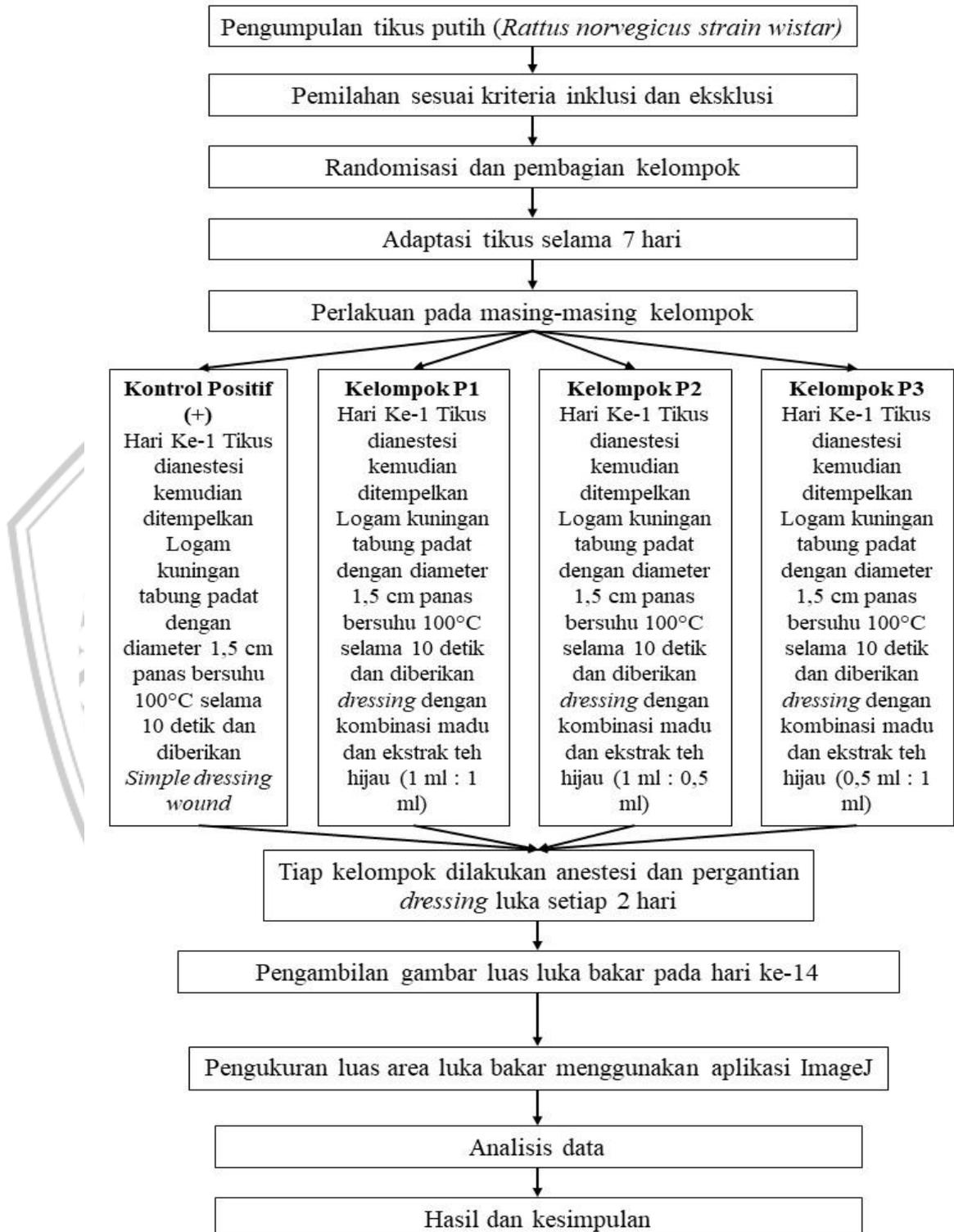
f. Perlakuan pada tikus setelah penelitian selesai

Tikus yang telah selesai dilakukan penelitian akan diberikan tindakan eutanasia yang berguna untuk sakit yang dirasakan oleh tikus selama proses penyembuhan karena luka bakar derajat II secara teori akan sembuh dalam waktu 21 hari. Metode eutanasia yang dilakukan adalah *Cervical Dislocation* yaitu dengan cara menempatkan cari pada bagian dasar tengkorak tikus sambil

menarik ekor tikus dengan kuat untuk mencapai pemisahan antara vertebrae sevikal bagian atas yang akan menyebabkan tikus menjadi tidak sadar secara cepat (Clarkson et al., 2022).



4.8 Alur Penelitian



4.9 Analisis Data

- Uji One Way Anova

Data yang diperoleh dalam penelitian akan dilakukan analisis uji normalitas dan uji homogenitas sebagai syarat untuk melakukan uji One Way ANOVA. Jika hasil data benar terbukti normal dan homogen maka uji One Way ANOVA dapat dilakukan.

- a. Uji Normalitas bertujuan untuk mengetahui apakah sebaran data normal dengan ketentuan nilai signifikan ($p > 0.05$). jika ternyata tidak signifikan, maka akan dilakukan transformasi data. Kemudian dilakukan kembali uji normalitas dengan menggunakan data yang telah ditransformasikan.
- b. Uji Homogenitas bertujuan untuk melihat kehomogenan atau varian data carian dari data yang diperoleh. Data dikatakan homogen apabila memiliki nilai signifikan ($p > 0.05$). Jika ternyata tidak signifikan, maka akan dilakukan transformasi data dan uji homogenitas diulang menggunakan data yang telah ditransformasikan.

- Uji Post-Hoc

Uji data dengan metode Post-Hoc dilakukan untuk melihat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Jika data yang diperoleh homogen maka dapat menggunakan uji Post-Hoc Bonferroni. Jika data yang diperoleh tidak homogen maka akan menggunakan uji Post-Hoc Tamhane.

- Uji Regresi Linear

Uji regresi linear digunakan untuk mengetahui besar pengaruh dan hubungan kombinasi madu dan ekstrak teh hijau (*Camellia sinensis*) terhadap luas area luka bakar derajat II.

Proses pengolahan data yang didapat dilakukan dengan bantuan perangkat lunak komputer berupa program SPSS versi 26.0 untuk *Windows*.

4.10 Jadwal Penelitian

Tabel 4.2 Jadwal Penelitian

No	Jenis Kegiatan	Bulan		Penanggungjawab
		1	2	
1	Tahap Persiapan			Syaiful Rohman
2	Riset dan Pengambilan Data			Syaiful Rohman
3	Analisa Data dan Kesimpulan			Syaiful Rohman
4	Penyusunan Laporan Penelitian			Syaiful Rohman
5	Penyusunan dan Publikasi Naskah Penelitian			Syaiful Rohman