**BAB III**

**METODE PENELITIAN**

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

Dalam penelitian ini, peneliti 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 perlakuan1 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 NaCl 0,9%.
8. X2 : Perlakuan pada kelompok kontrol 2 diberikan perawatan menggunakan Silver Sulfadiazine 1%.
9. X3 : Perlakuan pada kelompok perlakuan 1yang 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 kadar limfosit dan monosit 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 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 = 12, 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, 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 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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perawatan luka menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)*.

1. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar limfositdan monosit pada tikus putih *(Rattus norvegicus)* galur wistar dengan luka bakar derajat II.

* 1. **Definisi Operasional Variabel**

**Tabel 3.1**Definisi Operasional Pengaruh Gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* terhadap Kadar Limfosit dan Monosit pada Tikus Wistar dengan Luka Bakar Derajat II

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Variabel** | **Definisi Operasional** | **Parameter** | **Alat Ukur** | **Skala** | **Skoring** |
| Perawatan luka bakar derajat II menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* | Suatu tindakan melakukan perawatan luka bakar derajat II dengan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera)* konsentrasi 10% dan 20% yang diekstrak dengan menggunakan etanol selama 4 hari, 8 hari, dan 12 hari.  | Perawatan luka bakar derajat II sesuai dengan SOP | Cheklist perawatan luka bakar derajat II | \_ | \_ |
| Kadar Limfosit | Penilaian kadar limfosit yaitu differensiasi dari leukosit (sel darah putih) melalui pemeriksaan darah lengkap pada hari ke 4, 8, dan 12. | Jumlah/kadar limfosit pada differential count dalam hasil pemeriksaan dalam lengkap (dalam %) | Fotometer | Rasio | - |
| Kadar Monosit | Penilaian kadar monosit yaitu differensiasi dari leukosit (sel darah putih) melalui pemeriksaan darah lengkap pada hari ke 4, 8, dan 12. | Jumlah/kadar monosit pada differential count dalam hasil pemeriksaan dalam lengkap (dalam %) | Fotometer | Rasio |  |

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

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Blender
2. Toples kaca
3. Timbangan analitik
4. Cawan
5. Gelas arlogi
6. Sendok pengaduk
7. Tabung pengukur (ml)
8. Mangkok mortir
9. Cepuk (wadah gel)
 | Bahan :1. Lidah Buaya
2. Pelarut Etanol 70%
3. Lidah buaya daun ke dua dari bawah
4. TEA 2%
5. Nipalgin 0,2%
6. Gliserin 25%
7. CMC Na 4%
8. Aquades
 |

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

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Heater
2. Pisau cukur
3. Gunting Tumpul-tumpul
4. Pinset
5. Termometer
6. Jas lab
7. Arloji
8. Toples besar
9. Nampan stainless steel
10. Pipet Plastik
 | Bahan :1. Kassa steril
2. Alcohol 70%
3. Sarung tangan
4. Obat anestesi (chloroform)
5. Uang Logam
6. Kapas
 |

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |

1. **Pengukuran kadar limfosit dan monosit**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Spuid 3 cc
2. Alat ukur darah lengkap di laboratorium
3. Vacutainer Ungu
4. Alat hematologi analizer H-18 Light SFRI
 | Bahan :1. Alkohol swap
 |

1. **Perawatan Luka**

|  |  |
| --- | --- |
| Alat :1. Bak instrumen
2. Bengkok
3. Pinset Anatomis 2 buah
4. Kom
 | Bahan :1. Kassa steril
2. Kassa bersih
3. Gel lidah buaya 10%
4. Gel lidah buaya 20%
5. Silver Sulfadiazine 1 %
6. NaCl 0,9%
7. Cotton Bud
 |

1. **PemeliharaanTikus 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 limfosit dan monosit 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 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 mendidih 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 limfosit dan monosit**

Pemeriksaan kadar limfosit dan monosit 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 dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS 23. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas 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

**3.10. Kerangka Kerja**

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*

Dilakukan Pemeriksaan Darah Lengkap untuk melihat kadar limfosit dan monosit pada hari ke-4, 8, dan 12

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

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan NaCl 0,9%

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan Gel Lidah Buaya 20%

Perawatan luka bakar derajat II menggunakan Gel Lidah Buaya 10%

Kelompok Perlakuan 1

Kelompok Perlakuan 2

Kelompok Kontrol 2

Kelompok Kontrol 1

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

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

**SAMPEL**

Sesuai kriteria inklusi 15 ekor tiap kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol

**SAMPLING**

*Simple Ramdom Sampling*

**POPULASI**

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