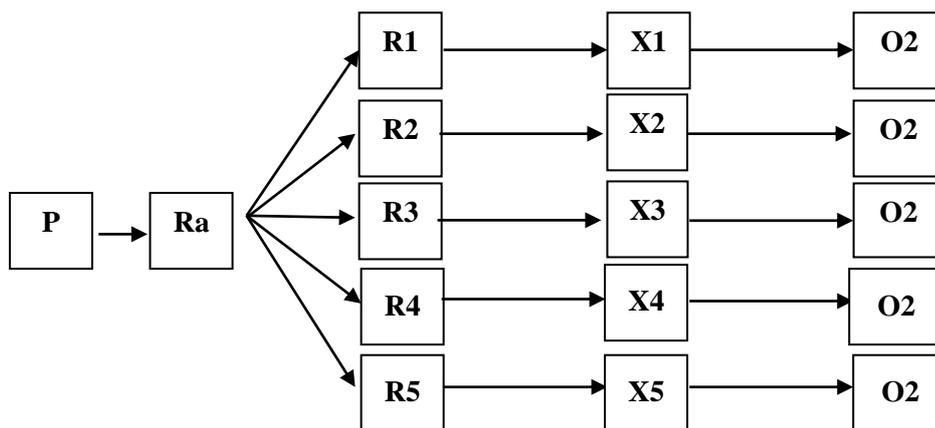


BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain penelitian

Penelitian ini, menggunakan desain penelitian *true experimental*, yaitu menyelidiki kemungkinan adanya hubungan sebab akibat (*possible cause and effect relationship*) dengan cara mengenakan kepada satu atau lebih kelompok eksperimen, satu atau lebih kondisi perlakuan, dan membandingkan hasilnya dengan satu atau lebih kontrol yang tidak dikenai kondisi perlakuan (Setiadi, 2013). Tujuannya yaitu untuk mengetahui perbandingan antara perawatan menggunakan NaCl 0,9%, Tule dengan perawatan secara topikal gel lidah buaya (*Aloe vera*). Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan 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.



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

Keterangan :

1. P : Populasi
2. Ra: Random Alokasi
3. R1: Kelompok kontrol (-) 1 menggunakan NaCl 0,9%.
4. R2: Kelompok kontrol (+) 2 menggunakan Tulle
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. R5: Kelompok perlakuan 2 menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) 40%
8. X1: Perlakuan pada kelompok kontrol 1 diberikan perawatan menggunakan NaCl 0,9%.
9. X2: Perlakuan pada kelompok kontrol 2 diberikan perawatan menggunakan Tulle
10. X3: Perlakuan pada kelompok perlakuan 1 yang diberikan perawatan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) 10%
11. X4: Perlakuan pada kelompok perlakuan 2 yang diberikan perawatan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) 20%
12. X5: Perlakuan pada kelompok perlakuan 2 yang diberikan perawatan menggunakan gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) 40%
13. O2 : Hasil observasi pemeriksaan *post test* terhadap jumlah koloni kuman pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.2 Teknik Sampling

3.2.1 Populasi

Populasi merupakan seluruh subjek atau objek dengan karakteristik tertentu yang akan diteliti. Bukan hanya objek atau subjek yang dipelajari saja tetapi seluruh karakteristik atau sifat yang dimiliki subjek atau objek tersebut (Hidayat, 2012).

Populasi dalam penelitian menggunakan hewan coba tikus (*Rattus novogicus*) galur wistar di Laboratorium Hewan coba Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang.

3.2.2 Sampel

Sampel penelitian merupakan sebagian dari jumlah seluruh obyek yang di teliti dan di anggap sudah dapat mewakili seluruh populasi yang ada (Setiadi 2013). Untuk menghindari berbagai faktor yang dapat membuat rancu dan

mempengaruhi proses penyembuhan luka, maka ditentukan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi untuk menghomogenkan sampel.

Menghitung jumlah tikus yang akan digunakan sebagai hewan coba, dapat digunakan rumus Federer sebagai berikut :

$$(r - 1) (t - 1) \geq 15$$

t = Jumlah kelompok perlakuan (intervensi)

r = Banyak sampel tiap perlakuan

Sehingga di dapat nilai r sebagai berikut :

$$(r - 1) (t - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) (5 - 1) \geq 15$$

$$(r - 1) (4) \geq 15$$

$$4r - 4 \geq 15$$

$$4r \geq 15 + 4$$

$$4r \geq 19$$

$$r \geq 5$$

jadi jumlah setiap kelompok control maupun perlakuan masing-masing 5 ekor tikus, karena terdapat 5 kelompok intervensi maka dibutuhkan 25 ekor tikus untuk 1 kali pemeriksaan, karena peneliti melakukan pemeriksaan 3 kali maka keseluruhan tikus yang dibutuhkan adalah 75 ekor tikus.

3.2.3 Kriteria inklusi

Kriteria inklusi adalah karakteristik umum subyek penelitian dari suatu populais target dan terjangkau yang akan diteliti. Pertimbangan ilmiah harus menjadi pedoman dalam menentukan kriteria inklusi (Setiadi, 2013). Dalam penelitian ini kriteria inklusi adalah :

1. Jenis tikus adalah tikus putih *Rattus novergicus* galur wistar.

2. Berjenis kelamin jantan, karena apabila tikus betina di khawatirkan tikus dalam keadaan hamil saat dilakukan aklimitasi.
3. Berat badan berkisar 200-250 gram.
4. Kondisi sehat pada tikus di tandai dengan pergerakan aktif, mata jernih bersinar, bulunya licin, mengkilat dan bersih, berbulu tebal, serta bulu tidak terjadi kerontokan yang berarti, badan tegap dan tidak kurus, tidak mengeluarkan lendir, nanah atau darah dari mata maupun telinga, tidak terlalu banyak air liur, tidak mencret serta pernafasan tenang
5. Tidak mendapat pengobatan sebelumnya.
6. Tidak ada kecacatan pada bagian punggung tikus.
7. Aklimatisasi selama 7 hari.

3.2.4 Kriteria eksklusi

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

1. Tikus mengalami infeksi pada luka 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.

3.2.5 Teknik sampling

Metode pengambilan sampel yang digunakan peneliti adalah *Purposif sampling*, sampel diambil dari 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan yang sesuai dari kriteria inklusi dan eksklusi yang ditentukan oleh peneliti.

3.3 Variabel Penelitian

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

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian gel topical *Aloe vera*

3.3.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah koloni kuman pada luka sayat tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar.

3.4 Definisi Operasional

Menurut Setiadi (2013) definisi operasional adalah penjelasan semua variable yang akan di gunakan dalam penalitian secara oprasional sehingga pembaca lebih mudah dalam mengartikan makna penelitian. Definisi operasional dalam penelitian ini terlampir pada tabel 3.1

Table 3.1 Definisi Operasional Jumlah Koloni Kuman Pada Luka Sayat Setelah Diberikan Gel Lidah Buaya Pada Tikus Galur Wistar

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat ukur	Skala	Skoring
Pemberian topical gel <i>Aloe vera</i>	Suatu tindakan melakukan perawatan luka sayat dengan menggunakan ekstrak lidah buaya yang sudah diolah sedemikian rupa sehingga menjadi gel, yang telah di hilangkan bahan bahan yang tidak di perlukan dari lidah buaya untuk penyembuhan luka sayat	Melakukan perawatan luka meliputi : 1. Mempersiapkan alat dan bahan 2. Melakukan cuci tangan 6 langkah dan memasang APD 3. Melakukan pembersihan luka/ pencucian luka dengan NaCl 0,9% 4. Mengobservasi keadaan luka 5. Merawat luka dengan diberikan ekstrak gel lidah buaya 10 % 20 % dan 40% secara topikal pada luka dengan ketebalan pemberian gel sama yaitu \pm 2- 4 mm dari permukaan kulit. 6. melakukan pemeriksaan laboratorium TPC pada hari ke 3, 7 dan ke 12	SOP perawatan luka sayat	-	-
Jumlah Koloni kuman	Hasil pemeriksaan pada luka sayat tikus galur wistar dari laboratorium yang menyatakan jumlah koloni bakteri secara kuantitatif dalam jumlah CFU/cm ² dengan teknik swab pada luka sayat	Jumlah koloni kuman dalam luas luka (Panjang luka x lebar luka) yang di hitung menggunakan teknik TPC (total plate count) dengan satuan..... CFU (<i>coloni forming unit</i>) / cm ²	Lembar observasi hasil pemeriksaan an Pedoman pengambilan swab luka sayat	Rasio	Skoring menggunakan data awal yang sesuai dengan hasil pemeriksaan TPC (mentah)

3.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan coba untuk perlakuan pada hewan coba, Lab Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Malang untuk pemeriksaan jumlah koloni kuman dan Lab Materia Medika Batu untuk pembuatan gel *Aloe vera* dan pakan hewan coba. Penelitian ini akan dilaksanakan pada tanggal 15 Desember 2018 - 05 Januari 2019

3.6 Alat, Bahan dan Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat dan bahan penelitian

a) Pembuatan Gel Lidah Buaya

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%

b) Pembuatan Luka Sayat.

Alat :

1. Pisau cukur / gunting
2. Pinset
3. Handvat mess
4. Bengkok

Bahan :

1. Kassa steril
2. Alkohol 70%
3. Sarung tangan
4. Obat anestesi (chloroform)
5. Kapas

c) Alat Swab Kulit

Alat :

1. Lidi watten steril
2. Tabung preparat steril
3. Cool box
4. Lilin/ alat lampu bakar

Bahan :

1. Alkohol
2. Korek api

d) Perawatan Luka

Alat :

1. Bak instrumen
2. Bengkok
3. Pinset Anatomis 2 buah

Bahan :

1. Kassa steril
2. Kassa bersih
3. Gel lidah buaya 10%

- | | |
|------------|------------------------|
| 4. Kom | 4. Gel lidah buaya 20% |
| 5. Gunting | 5. Tule |
| | 6. NaCl 0,9% |
| | 7. <i>Cotton bud</i> |

- e) Pemeliharaan Tikus Galur Wistar
1. Kandang/bak tikus dan sekam
 2. Penutup kandang dari anyaman kawat
 3. Botol air
 4. Makanan tikus
- f) Teknik Pencegahan Infeksi
1. Tempat cuci tangan/wastafel
 2. Sabun cuci tangan
 3. *Hand Sanitizer*
 4. Kain handuk kecil
 5. Sarung tangan bersih/steril
 6. Jas lab

3.6.2 Instrumen Penelitian

Instrumen dalam penelitian ini adalah menggunakan SOP perawatan Luka agar perawatan luka sesuai dengan standard dan pedoman pengambilan swab luka yaitu lidi watten untuk swab kulit yang terdapat luka sayat. Setelah swab di lakukan lidi watten di masukan di tabung preparat steril setelah itu di kirim untuk di lakukan pemeriksaan mikrobiologi TPC (*Total plate count*)

3.7 Prosedur Pengumpulan Data

3.7.1 Perijinan penelitian

Beberapa hal yang harus dilakukan peneliti untuk mengurus izin penelitian adalah sebagai berikut :

- a) Peneliti mengurus surat untuk perijinan penelitian menggunakan hewan coba yang ditujukan kepada Komisi Etik Poltekkes Kemenkes Malang.

- b) Peneliti mengurus surat perijinan menggunakan Laboratorium untuk penelitian yang ditujukan kepada kepala Laboratorium Poltekkes Kemenkes Malang.
- c) Peneliti mengurus surat untuk perijinan melakukan pemeriksaan jumlah koloni kuman yang ditujukan kepada Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang

3.7.2 Cara merawat tikus

Tikus dipelihara dipelihara di kandang dengan ukuran 35 cm x 25 cm x 10 cm berupa box plastik diberi sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat berjaring, masing-masing kandang diisi 1 ekor tikus. Dilakukan penggantian alas sekam setiap 2 hari sekali pada pagi hari. Sedangkan temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran suhu antara 27-28°C. Tikus diberi pakan standart 20 gr/hari pada semua kelompok selama masa. Pembuatan makanan tikus dilakukan oleh peneliti di bantu oleh pakar. Minum diletakkan didalam botol khusus dengan kebutuhan per-hari 150 ml per ekor.

3.7.3 Cara membuat ekstrak lidah buaya

Peneliti menyiapkan lidah buaya yang akan di jadikan gel dan pembuatan gel lidah buaya akan dilakukan di laboratorium Materia Medika Batu (terlampir pada lampiran 7)

3.7.4 Pembuatan luka sayat

Tikus di anestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin kemudian rambut tikus bagian punggung dicukur sampai permukaan kulit. Desinfeksi punggung tikus yang telah dicukur menggunakan alhohol 70%. Kemudian Melakukan sayatan di punggung tikus dengan menggunakan handvat mess pada bagian

punggung tikus. Panjang luka dibuat $\leq 2,5$ cm, lebar 0,5 cm dan kedalaman sampai area subkutis. Perawatan luka dilakukan 2 hari sekali pada waktu yang sama.

3.7.5 Perawatan luka sayat:

a) Menggunakan ekstrak lidah buaya 2 hari 1 x

1. Cuci tangan.
2. Pakai sarung tangan steril.
3. Siapkan kasa.
4. Atur posisi tikus untuk mempermudah tindakan.
5. Buka balutan dan bersihkan luka dengan NaCl 0,9%
6. Keringkan luka yang telah dibersihkan dengan kassa steril.
7. Olesi bagian luka dengan *cutten bat* yang telah diberi gel ekstrak lidah buaya secara merata hingga menutup seluruh permukaan luka.
8. Tempelkan transparan film pada area luka.
9. Tempelkan kassa steril untuk mempertahankan balutan primer.
10. Balut luka dengan kassa gulung. Bentuk balutan seperti gurita bayi.

b) Menggunakan Tulle 2 hari 1 x

1. Cuci tangan.
2. Pakai sarung tangan steril.
3. Siapkan kasa.
4. Atur posisi tikus untuk mempermudah tindakan.
5. Buka balutan dan bersihkan luka dengan NaCl 0,9%
6. Keringkan luka yang telah dibersihkan dengan kassa steril.

7. Tempelkan tulle sesuai ukuran pada luka
8. Tempelkan transparan film pada area luka.
9. Tempelkan kassa steril untuk mempertahankan balutan primer.
10. Balut luka dengan kassa gulung. Bentuk balutan seperti gurita bayi.

c) Menggunakan NaCl 0,9% 2 hari 1 x

1. Cuci tangan.
2. Pakai sarung tangan steril.
3. Siapkan kasa.
4. Atur posisi tikus untuk mempermudah tindakan.
5. Buka balutan dan bersihkan luka dengan NaCl 0,9%.
6. Keringkan luka yang telah dibersihkan dengan kassa steril.
7. Tempelkan transparan film pada area luka.
8. Tempelkan kassa steril untuk mempertahankan balutan primer.
9. Balut luka dengan kassa gulung. Bentuk balutan seperti gurita bayi.

3.7.6 Pemeriksaan jumlah koloni kuman

Pemeriksaan jumlah koloni kuman dilakukan pada hari ke 3, 7 dan 12 dilakukan dengan cara swab kulit pada luka. Untuk langkah pertama buka tutup botol preparat steril, panaskan mulut tutup botol dengan menggunakan api atau lilin, masukkan lidi waten steril kedalam tabung preparat steril, angkat lidid waten steril lalu swab pada bagian kulit tikus yang terkena luka searah dan dalam 1 kali swab masukan lidi waten kedalam tabung preparat steril, kemudian masukan lidi waten kedalam tabung preparat steril lalu lakukan pemotongan pada lidi waten dengan menggunakan gunting yang di panaskan, apabila lidi waten telah terpotong maka panaskan kembali mulut botol preparat steril dengan api setelah

itu tutup mulut botol preparat steril, setelah itu beri label pada botol. Setelah itu dilakukan pemeriksaan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Malang

3.8 Pengolahan Data

1. Editing

Editing adalah dilakukan untuk memeriksa kembali kebenaran data yang diperoleh atau dikumpulkan. (Hidayat, 2008).

2. Coding

Memberikan klarifikasi berupa jawaban dari para responden kedalam bentuk angka / bilangan. (Setiadi, 2013).

Kode kelompok tikus

PA: Kelompok perlakuan *Aloe vera* 10 %

PB: Kelompok perlakuan *Aloe vera* 20 %

PC: Kelompok perlakuan *Aloe vera* 40%

KA: Kelompok kontrol 1 NaCl 0,9%

KB: Kelompok kontrol 2 Tule

3. Tabulating

Tabulating yaitu pengelompokan hasil pemeriksaan jumlah koloni kuman pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan kemudian diwujudkan dalam bentuk tabel, diagram dan narasi.

4. Entri data

Entri data 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 kontingensi (Hidayat, 2008).

5. Analisa data

Pengambilan data dalam penelitian ini menggunakan *time series* (meneliti secara berkala) dimana pengumpulan data di lakukan pada hari ke 3, 7 dan 12. Data yang terkumpul akan dianalisis dan di interpretasikan lebih lanjut untuk menguji hipotesis dengan menggunakan bantuan program computer, yakni SPSS secara univariat maupun bivariate. Data diolah dengan cara pertama data di kumpulkan lalu di lakukan uji kenormalan yaitu data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Apabila data berdistribusi normal maka data diuji dengan menggunakan *Paired T test* untuk mengetahui adanya pengaruh dari hari ke 3, 7 dan 12 setelah itu lanjut menggunakan uji beda dengan *Independent T- test* untuk membedakan dua variabel yang paling efektif dalam proses penyembuhan luka. Apabila data tidak berdistribusi normal maka data diuji menggunakan *Wilcoxon* untuk mengetahui adanya pengaruh dari hari ke 3, 7 dan 12 setelah itu lanjut menggunakan uji beda dengan *Mann-whitney* untuk membedakan dua variabel yang paling efektif dalam proses penyembuhan luka.

6. Penyajian data

Data statistik perlu disajikan dalam bentuk yang mudah dibaca dan dimengerti. Tujuannya adalah memberikan informasi dan memudahkan interpretasi hasil analisis (Setiadi, 2013). Hasil dari penelitian ini akan disajikan dalam bentuk tabel dan grafik serta dijelaskan dalam bentuk narasi.

3.9 Etika penelitian

Penelitian yang dilakukan menekankan pada masalah etika (Hidayat,2008). Proses penelitian ini mengikuti prinsip tiga R (*Replecement, Reduction, Refinement*) sesuai dengan etika penelitian hewan coba. Yaitu :

1. *Replecement*, yaitu penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih galur wistar (*Rattus novegicus*) yang sehat dan memiliki berat badan sekitar 200-250 gram yang kemudian dipilih sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yang telah di tetapkan.
2. *Reduction*, besar sampel di tentukan dari jumlah sampel tiap perlakuan pada jumlah kelompok perlakuan.
3. *Refinement*

Penelitian ini menggunakan prinsip 5F yaitu:

a. *Freedom from hunger from thirst* (bebas dari rasa lapar dan haus) Tikus diberi makan dengan komposisi :

- Tepung jagung 12,75 gram
- Tepung ikan 850 gram
- Tepung tulang 170 gram
- Tepung kedelai 1,7 kg
- Tepung kacang tanah 850 gram
- Mineral mix 34 gram
- Vit B kompleks 17 butir
- Minyak goreng 170 gram
- Garam 34 gram

Pakan standart diberikan 20 gr/hari pada semua kelompok selama masa penelitian (masa aklimisasi maupun masa perlakuan). Pembuatan

makanan tikus dilakukan oleh peneliti di bantu oleh pakar. Minum diletakkan didalam botol khusus dengan kebutuhan per-hari 150 ml per ekor.

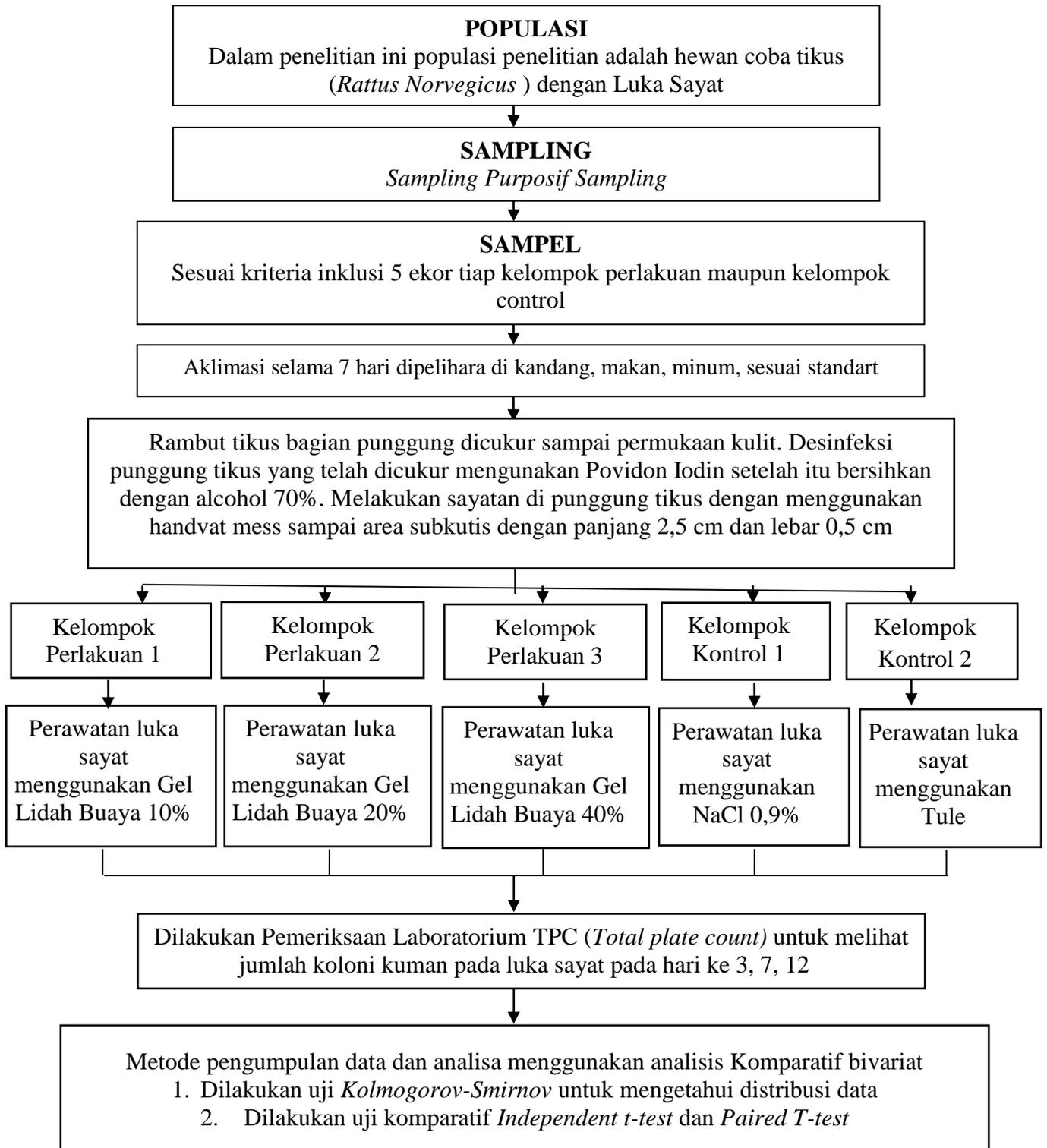
b. *Freedom from discomfort* (bebas dari rasa tidak nyaman) tikus dengan luka sayat dipelihara di kandang dengan ukuran 35 cm x 25 cm x 10 cm berupa box plastik diberi sekam sebagai alas dan ditutup dengan kawat berjaring, masing-masing kandang diisi 1 ekor tikus. Dilakukan penggantian alas sekam setiap 2 hari sekali pada pagi hari. Sedangkan temperatur dan kelembapan ruangan dibiarkan berada pada kisaran suhu antara 27-28°C.

c. *Freedom of pain, injury or disease* (bebas dari rasa nyeri, trauma, dan penyakit) dilakukan pembiusan paparan yang didampingi oleh tenaga profesional yaitu pembimbing.

d. *Freedom to fear and distress* (bebas dari ketakutan dan stres jangka panjang) tikus diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberikan perlakuan.

e. *Freedom to express natural* (bebas untuk mengekspresikan tingkah laku alami, diberikan ruang dan fasilitas yang sesuai).

3.10 Kerangka Kerja



Gambar 3.2 Kerangka Kerja Pengaruh Gel Lidah Buaya terhadap Jumlah Koloni Kuman Pada Luka Sayat Tikus Putih Galur Wistar