

## BAB III

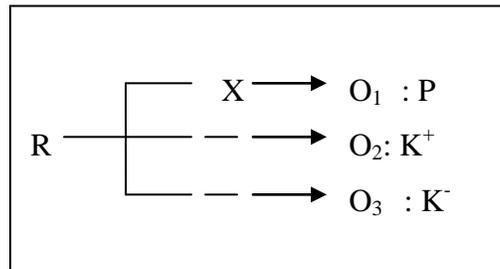
### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental. Dimana penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas pemberian ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap penyembuhan luka iris pada mencit jantan (*mus musculus*).

#### B. Desain Penelitian

Adapun desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratories *Post Tes Control Group Design* diperoleh dengan rancangan acak lemngkap (RAL) (Sugiyono, 2015).



**Gambar 3.1 : Modifikasi *Post Test Control Group Design* berdasarkan (Sugiyono, 2015)**

Keterangan :

- R : Randomisasi
- X : Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun bidara
- O<sub>1</sub> : Observasi luka setelah perlakuan dengan pemberian ekstrak daun bidara
- O<sub>2</sub> : Observasi luka setelah perlakuan kontrol positif
- O<sub>3</sub> : Observasi luka setelah perlakuan tanpa pemberian ekstrak daun bidara dan betadine

P : Kelompok Perlakuan dengan pemberian ekstrak daun bidara

K<sup>+</sup> : Kelompok Perlakuan kontrol positif menggunakan betadin

K<sup>-</sup> : Perlakuan tanpa pemberian ekstrak daun bidara dan betadine

Berdasarkan modifikasi *post test control group* diatas, dapat dilihat rancangan perlakuan seperti pada tabel 3.1.

**Tabel 3.1. Tabel Perlakuan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Penyembuhan Luka Iris pada Mencit (*Mus musculus*)**

Pengulangan	Perlakuan		
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	Ekstrak Daun Bidara
1	K <sup>+</sup> <sub>1</sub>	K <sup>-</sup> <sub>1</sub>	P <sub>1</sub>
2	K <sup>+</sup> <sub>2</sub>	K <sup>-</sup> <sub>2</sub>	P <sub>2</sub>
3	K <sup>+</sup> <sub>3</sub>	K <sup>-</sup> <sub>3</sub>	P <sub>3</sub>
4	K <sup>+</sup> <sub>4</sub>	K <sup>-</sup> <sub>4</sub>	P <sub>4</sub>
5	K <sup>+</sup> <sub>5</sub>	K <sup>-</sup> <sub>5</sub>	P <sub>5</sub>
6	K <sup>+</sup> <sub>6</sub>	K <sup>-</sup> <sub>6</sub>	P <sub>6</sub>
7	K <sup>+</sup> <sub>7</sub>	K <sup>-</sup> <sub>7</sub>	P <sub>7</sub>
8	K <sup>+</sup> <sub>8</sub>	K <sup>-</sup> <sub>8</sub>	P <sub>8</sub>
9	K <sup>+</sup> <sub>9</sub>	K <sup>-</sup> <sub>9</sub>	P <sub>9</sub>

Keterangan :

K<sup>+</sup><sub>1-9</sub> : Perlakuan kontrol positif (batadine/Povidone iodine) ulangan 1 sampai 9

K<sup>-</sup><sub>1-9</sub> : Perlakuan kontrol negative (tanpa pemberian ekstrak) ulangan 1 sampai 9

P<sub>1-9</sub> : Perlakuan pemberian ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) ulangan 1 sampai 9.

### C. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surabaya.

Penelitian ini dilaksanakan secara keseluruhan dari bulan Desember 2017 hingga bulan Mei 2018 dan pengambilan data dilakukan pada bulan April 2018.

#### D. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari Bintang Jaya (Suplier Tikus Putih) Surabaya.

Sampel pada penelitian ini adalah Mencit jantan (*Mus musculus*) yang sehat, memiliki aktifitas normal dan berjenis kelamin jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 20 - 25 gram. Jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus (Hanafiah, 2010) sebagai berikut:

$$\begin{aligned}(r-1)(K-1) &\geq 15 \\(r-1)(3-1) &\geq 15 \\(r-1)(2) &\geq 15 \\2r-2 &\geq 15 \\2r &\geq 15 + 2 \\2r &\geq 17 \\R &\geq 17 / 2 \\R &\geq 8,5\end{aligned}$$

Keterangan :

r = Pengulangan (sampel)

k = Perlakuan

Berdasarkan perhitungan sampel diatas, menunjukan jumlah pengulangan sebanyak 8,5 dan dibulatkan menjadi 9. Penelitian ini mengambil 9 kali pengulangan dengan 3 kelompok perlakuan sehingga memperoleh jumlah seluruh sampel  $9 \times 3 = 27$  ekor mencit. Setiap mencit diletakkan pada 1 kandang.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap, dimana pengacakan dilakukan untuk penempatan perlakuan pada setiap mencit yang diletakkan pada setiap kandang yang telah diberi nomor. Pengacakan dilakukan dengan cara mengambil secara acak kertas yang telah diberi nomor perlakuan. Hasil pengacakan seperti terlihat pada gambar 3.2.

$^1K^+_1$	$^2K^-_8$	$^3K^+_4$	$^4K^-_4$	$^5K^+_6$	$^6P_6$	$^7P_4$	$^8K^+_7$	$^9P_1$
$^{10}K^+_3$	$^{11}P_5$	$^{12}P_3$	$^{13}K^+_9$	$^{14}K^-_7$	$^{15}P_9$	$^{16}K^+_2$	$^{17}P_2$	$^{18}K^-_5$
$^{19}K^-_3$	$^{20}K^+_5$	$^{21}K^-_9$	$^{22}K^-_6$	$^{23}K^-_1$	$^{24}K^-_2$	$^{25}P_8$	$^{26}P_7$	$^{27}K^+_8$

**Gambar 3.2. Rancangan Acak Lengkap Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Penyembuhan Luka Iris pada Mencit (*Mus musculus*)**

## E. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

### 1. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- Variabel bebas (*Independent variable*) pada penelitian ini adalah ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*).
- Variabel terikat (*Dependent variable*) pada penelitian ini adalah penyembuhan luka iris setelah pemberian perlakuan.
- Variabel control pada penelitian ini adalah jenis kelamin, jenis pakan dan minum, berat badan, umur, ukuran kandang.

### 2. Devinisi Operasional

Devinisi operasional variable pada penelitian ini adalah :

- Ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) adalah sediaan kental hasil ekstraksi dari daun bidara kering dengan menggunakan etanol 96%. Teknik pengestrakan yang digunakan adalah teknik maserasi.
- Penyembuhan luka adalah panjang waktu proses pemulihan pada kulit karena adanya kerusakan atau *disintegritas* jaringan kulit dengan kriteria penyembuhan luka sebagai berikut :

1) Kemerahan luka (*Eritema*)

Kemerahan luka(*Eritema*) adalah adanya kemerahan pada tepi luka. Pengukuran pada lebar kemerahan luka ini diberi skor 1-3 dengan nilai :

- a) Skor 1: Ukuran kemerahan luka  $>1$  cm (lebih dari 1 cm)
- b) Skor 2: Ukuran kemerahan luka  $<1 - 0,5$  cm
- c) Skor 3: Tidak ada kemerahan(*eritema*) pada luka.

2) Pertautan dan menutupnya tepi luka

Pertautan dan menutupnya tepi luka adalah menutupnya tepi luka dan ukuran luka lebih kecil dari ukuran pengirisan pertama. Cara mengukur pertautan dan penutupan luka ini dengan cara mengukur dari sisi punggung bagian atas ke punggung bagian bawah dekat anus menggunakan penggaris dalam satuan (cm) dengan kriteria skor 1-3 yakni:

- a) Skor 1 : Kedua tepi luka tidak bertaut atau menutup
- b) Skor 2 : Sebagian tepi luka ada yang terbuka melebihi 0,5 cm
- c) Skor 3 : Seluruh tepi luka bertaut ( $<0,5$ ) dan tertutup oleh jaringan luka baru

Luka iris pertama kali dibuat sepanjang 1 cm dengan kedalaman hingga area subkutan dan hipodernis.

3) Tanda Infeksi pada luka

Tanda inveksi pada luka adalah jika adanya cairan seperti nanah pada luka dan luka semakin melebar dari ukuran semula. Pemberian skor pada inveksi luka berkisar 1-3 degan penilaian

- a) Skor 1 : Adanya cairan nanah pada luka dan ukuran luka membesar dari ukuran semula
- b) Skor 2 : Adanya cairan nanah namun ukuran luka tetap sama
- c) Skor 3 : Tidak adanya cairan nanah dan ukuran luka masih sama dengan ukuran semula atau lebih mengecil.

(Salam, 2017)

## **F. Prosedur Percobaan Penelitian**

### **1. Tahap Persiapan (sebelum perlakuan)**

#### **a. Pembuatan Kandang dan Perawatan Kandang**

Alat : Tank potong

Bahan : Box plastic, jaring-jaring kawat, serbuk kayu

Prosedur : Box plastik diisi dengan serbuk kayu pada alas bawahnya. Kemudian tutup bagian atas box dengan jaring-jaring kawat.

Perawatan Kandang : Perawatan kandang dilakukan dengan mengganti serbuk kayu setiap 2 hari sekali untuk menjaga kebersihan kandang.

#### **b. Pesiapan Hewan Uji (Masa adaptasi)**

Alat : Kandang, tempat makan, tempat air minum

Bahan : Mencit Jantan (*Mus musculus*) umur 2-3 bulan, pakan (sesuai dengan pakan yang diberikan di Bintang Jaya), air minum dan kandang (ukuran 36 cm x36 cm x 2 cm)

Prosedur : Mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20 - 25 gram dimasukkan kedalam masing-masing kandang secara acak kemudian diadaptasikan selama 7 hari dengan diberi pakan sebanyak 2 kali sehari dan minum secara semaunya/ *adlibitum* serta kondisi kandang yang sama.

#### **c. Pesiapan Daun Bidara**

Alat : Gunting dan kantong plastik

Bahan : Daun bidara (*Ziziphus mauritiana*)

Prosedur :

1. Pilihlah daun bidara yang segar dan tidak berwarna kuning ataupun kering
2. Potong daun tersebut dengan gunting dan kumpulkan dalam kantong plastik.

**d. Pembuatan Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus Mauritiana*)**

Alat : Gelas ukur (2500ml), elenmeyer, gunting, pengaduk/spatula, neraca analitik, corong *buncher*, pipet tetes, mortar dan penggerus, evaporatori(*rotary vacuum evaporator*), kertas label, toples kaca, sarung tangan, botol vial, saringan.

Bahan : Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) dan etanol 96%

Prosedur : Prosedur pembuatan ekstrak daun bidara

1. Daun bidara yang telah disiapkan ditimbang sebanyak 1 kg
2. Mencuci daun bidara hingga bersih
3. Daun bidara dikeringkan selama 14 hari menggunakan panas matahari atau dapat juga di oven hingga kering
4. Daun bidara kering diblender/ ditumbuk hingga menjadi serbuk
5. Menyaring serbuk dengan menggunakan saringan untuk memisahkan serbuk halus dan serbuk kasar. Dalam pembuatan ekstrak digunakan serbuk yang halus.
6. Serbuk halus daun bidara 100% ditimbang sebanyak 300 g untuk dimaserasi menggunakan etanol 96% hingga 3 kali. Perbandingan antara serbuk daun bidara dengan etanol adalah Pada perendaman pertama menggunakan 300g bubuk daun bidara dan 2 liter ethanoldirendam selama 24 jam, pada perendaman kedua dan ketiga masing-masing menggunakan ethanol sebanyak 1,25 L dan direndam selama 24 jam.
7. Hasil maserasi disaring menggunakan corong *buncher* yang kemudian menghasilkan filtrate
8. Filtrat daun bidara yang dihasilkan tersebut diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50<sup>0</sup>C hingga menjadi pasta.
9. Ekstrak daun bidara yang yang dihasilkan dapat langsung digunakan atau disimpan dalam lemari pendingin dengan suhu 4<sup>0</sup>C (Fannani dan Nugroho, 2014 dan Kartika R, 2017)

10. Pada penelitian ini didapatkan ekstrak daun bidara sebanyak 38 g, ekstrak daun bidara yang dioleskan pada mencit sebanyak 0,15g untuk setiap perlakuan.

## **2. Tahap Pemberian Perlakuan**

### **a. Pembuatan luka iris**

Alat : Wadah Plastik, Perlak/alas, Pisau Bedah (*Scalpel*) Steril, Gunting/silet cukur, spidol 3 warna, sarung tangan, penggaris,*tissue*, *Cottonbud*, kapas kamera

Bahan : Mencit, eter, batadine, ekstrak daun bidara, Alkohol 70%

Prosedur :

1. Sebelum pembuatan irisan untuk luka iris pada mencit, tentukan daerah punggung mencit yang akan dilukai atau diiris dan tandai dengan spidol.
2. Bius mencit dengan anastesi umum inhalasi menggunakan eter hingga pingsan. Pembiusan ini dilakukan dengan cara menuangkan sedikit eter pada kapas kemudian atau *tissue*,kemudian letakkan kapas tersebut kedalam wadah plastik dan masukkan mencit dalam wadah tersebut kemudian tutup hingga tikus terbius dan pingsan.
3. Setelah terbius, cukur rambut pada daerah yang telah ditandai sebesar 4 cm x 4cm sampai kulit mencit terlihat.
4. Setelah dicukur letakkan mencit pada alas/perlak yang telah disediakan.
5. Lakukan deinfeksi dengan alkohol 70% pada area yang telah di cukur
6. Gunakan sarung tangan steril
7. Mengiris atau melukai daerah yang telah ditentukan dengan menggunakan pisau bedah (*Scalpel*) steril dan buat irisan sepanjang 1 cm dengan kedalaman luka seperti yang telah ditentukan. Adapun cara pengirisan ini dilakukan dengan cara meregangkan kulit mencit menggunakan ibu jari dan jari telunjuk kiri kemudian mulai mengiris menggunakan tangan kanan.

### **b. Perlakuan pada luka**

1. Setelah pengirisan, bersihkan darah yang mengalir menggunakan tisu atau kapas yang telah dibasahi dengan alkohol 70% atau usapkan langsung tisu/kapas steril untuk mengeringkan darahnya.
2. Setelah dibersihkan, olesi luka dengan ekstrak daun bidara dan betadine menggunakan *Cottonbud* dan ada kelompok yang tidak diberi betadine ataupun ekstrak daun bidara sesuai dengan rancangan penelitian ini.

**c. Pengamatan Luka iris**

Pengamatan luka iris dilakukan 2 hari setelah pengirisan dan pemberian perlakuan dilakukan setiap 2 kali sehari pada pukul 08.00 dan 16.00 WIB selama 2 minggu dan mendokumentasikan kondisi luka. Perlakuan dilakukan sesuai rancangan penelitian.

**G. Tehnik Pengumpulan Data**

Tekhnik pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan tehnik observasi laboratoris berupa lama waktu penyembuhan luka dengan pengumpulan data sebagai berikut :

1. Pemberian skor berdasarkan adanya kemerahan (*Eritema*) pada luka  
Pengukuran pada lebar kemerahan luka ini diberi skor 1-3 dengan nilai :
  - a. Skor 1 : Ukuran kemerahan luka >1 cm (lebih dari 1 cm)
  - b. Skor 2 : Ukuran kemerahan luka <1 – 0,5 cm
  - c. Skor 3: Tidak ada kemerahan(*eritema*) pada luka.
2. Pemberian skor berdasarkan adanya panjang pertautan kedua tepi luka  
Kriteria Pertautan kedua tepi luka skor 1-3 yakni:
  - a. Skor 1 : Kedua tepi luka tidak bertaut atau menutup
  - b. Skor 2 : Sebagian tepi luka ada yang terbuka melebihi 0,5 cm
  - c. Skor 3 : Seluruh tepi luka bertaut (<0,5) dan tertutup oleh jaringan luka baru
3. Pemberian skor berdasarkan ada tidaknya tanda-tanda inveksi pada luka.  
Pemberian skor pada tanda inveksi pada luka berkisar 1-3 dengan penilaian :

- a. Skor 1 : Adanya cairan nanah pada luka dan ukuran luka membesar dari ukuran semula
- b. Skor 2 : Adanya cairan nanah namun ukuran luka tetap sama
- c. Skor 3 : Tidak adanya cairan nanah dan ukuran luka masih sama dengan ukuran semula atau lebih mengecil.

Data hasil pengamatan penyembuhan luka iris dicatat pada tabel 3.3.

Tabel 3.2. Hasil Observasi Luka Iris

No	Perlakuan	R	Hasil Pengamatan			Jumlah	Rata-rata
			Aspek Pengamatan				
			Kemerahan	Pertautan	Tanda –tanda Inveksi		
1	P						
2	K+						
3	K-						

**Keterangan :**

P : Perlakuan pemberian ekstrak daun bidara(*Ziziphus mauritiana*)

K<sup>+</sup> : Kontrol Positif dengan Betadine

K<sup>-</sup> : Kontrol negative(tanpa pemberian ekstrak daun bidara dan betadine)

## H. Teknik Analisis Data

Untuk menguji efektivitas ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap luka iris pada mencit jantan (*Mus musculus*) digunakan uji normalitas untuk menganalisis data. Selanjutnya jika data berdistribusi normal maka akan dilanjutkan dengan uji analisis varian (ANOVA) satu jalur dengan ( $\alpha = 0,05$ ), apabila uji anova menunjukkan adanya perbedaan maka akan dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui perbedaan secara signifikan dari ketiga perlakuan dan jika data berdistribusi tidak normal maka akan dilanjutkan dengan uji kruskal wallis, jika dalam uji Kruskal wallis  $H_a$  diterima dan  $H_0$  ditolak maka akan dilanjutkan dengan uji Mann whitney (Sugiyono, 2015) .

Pengolahan data statistik dalam penelitian ini adalah SPSS versi 23.