

BAB 3

PROSEDUR PENELITIAN

3.1. Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan studi kuantitatif dengan pendekatan eksperimental. Menurut Sugiyono (Sugiyono 2011) mendefinisikan penelitian eksperimental sebagai metode penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh perlakuan tertentu dalam situasi yang dikendalikan. Dalam konteks ini, eksperimen mengimplikasikan penggunaan perlakuan (*treatment*) untuk menilai dampaknya terhadap variabel lain di bawah kondisi terkontrol. Desain penelitian ini mengadopsi model *True Experimental*, sebagaimana dijelaskan oleh (Sugiyono 2011), yang menekankan pada eksperimen autentik. Karakteristik penting dari desain *True Experimental* adalah kemampuan peneliti untuk mengendalikan semua variabel eksternal yang dapat mempengaruhi hasil eksperimen. Aspek khas dari metode ini adalah penggunaan sampel yang dipilih secara acak dari populasi tertentu untuk kelompok eksperimen dan kontrol, dengan demikian menonjolkan ciri khas penelitian ini yaitu adanya kelompok kontrol dan pemilihan sampel secara random.

3.2. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini terdapat 2 variabel, yaitu:

1) Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis ekstrak daun binahong konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan kontrol.

2) Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penyembuhan luka sayat dengan indikator panjang luka yang berbeda-beda yaitu 0,5 cm, 1 cm, 1,5 cm, 2 cm dan 2,5 cm.

3.3. Populasi Penelitian

1) Populasi

Populasi sebagaimana didefinisikan oleh (Sugiyono 2011) merupakan area generalisasi yang mencakup subjek atau objek dengan karakteristik dan kualitas tertentu yang telah ditentukan oleh peneliti untuk dikaji dan kemudian diambil kesimpulannya. Dalam konteks penelitian ini, populasi terdiri dari mencit putih jantan dari spesies mencit rumah atau mencit albino, yang memiliki berat badan berkisar antara 20 hingga 25 gram dan usia antara 4 hingga 5 bulan, yang diperoleh dari Universitas Bakti Tunas Husada (Gambar 10).



Gambar 3.1

Populasi Penelitian

Sumber: Dokumentasi Pribadi

2) Sampel

Menurut (Sugiyono 2011) sampel merupakan segmen representatif dari keseluruhan populasi. Dalam konteks penelitian ini, sampel yang dipilih terdiri dari 5 kelompok perlakuan mencit putih jantan dari spesies mencit rumah atau mencit albino, dengan total individu sebanyak 20 ekor. Pemilihan sampel dilakukan melalui metode random sampling, dengan kriteria spesifik mencit yang memiliki berat badan antara 20 hingga 25 gram (Gambar 11).



Gambar 3.2
Sampel Penelitian
Sumber: Dokumentasi Pribadi

3.4. Desain Penelitian

Desain penelitian merujuk pada suatu rangkaian langkah yang menggambarkan pola hubungan antara variabel penelitian atau langkah-langkah yang diambil oleh peneliti untuk mengatasi masalah penelitian. Jenis penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimen murni (*true experimental research*) dengan menerapkan rancangan acak lengkap (RAL). Penentuan banyaknya pengulangan masing-masing konsentrasi berdasarkan perhitungan rumus:

Penentuan banyaknya pengulangan masing-masing konsentrasi berdasarkan perhitungan rumus:

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

Keterangan:

t = Perlakuan

r = Pengulangan

15 = Faktor nilai derajat kebebasan umum

Berdasarkan rumus diatas jika jumlah perlakuan (t) = 5 maka jumlah pengulangan dapat diketahui sebagai berikut:

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

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

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15 + 5$$

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4 = 4$$

Maka pada penelitian ini dilakukan 4 kali pengulangan pada tiap dosis. Penentuan dosis dilakukan secara RAL yang diperoleh menggunakan program *Microsoft Excel* bahwasanya didapatkan 5 perlakuan. Dengan rancangan selengkapya ditampilkan pada tabel 3.1 sebagai berikut:

Tabel 3.1
Rancangan Acak Lengkap

Perlakuan	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Ulangan 4
Kontrol	P1	P3	P4	P2
Dosis 1	P4	P2	P3	P1
Dosis 2	P2	P1	P4	P3
Dosis 3	P3	P2	P1	P4
Dosis 4	P3	P4	P2	P1

Keterangan:

P1 = Panjang luka sayat 0,2 cm

P2 = Panjang luka sayat 0,7 cm

P3 = Panjang luka sayat 1,2 cm

P4 = Panjang luka sayat 1,7 cm

Kontrol = Povidone iodine

Dosis 1 = (0,2 gram/20g BB Mencit)

Dosis 2 = (0,3 gram/20g BB Mencit)

Dosis 3 = (0,4 gram/20g BB Mencit)

Dosis 4 = (0,5 gram/20g BB Mencit)

3.5. Langkah-langkah Penelitian

Secara umum penelitian ini terdiri dari dua tahap yaitu:

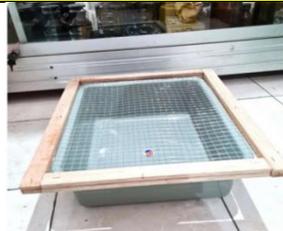
1) Tahap Perencanaan atau persiapan

Dibawah ini adalah langkah-langkah pada tahapan perencanaan atau persiapan yang meliputi:

- a) Mendapatkan Surat Keputusan Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Siliwangi mengenai penetapan pembimbing skripsi pada tanggal 5 Januari 2024

- b) Mengkonsultasikan judul dan permasalahan yang akan diteliti kepada pembimbing I dan II;
 - c) Judul ditandatangani dan diterima oleh pembimbing I dan II pada tanggal 9 November 2023;
 - d) Mengajukan judul ke Dewan Bimbingan Skripsi (DBS) pada tanggal 14 November 2023;
 - e) Menyusun proposal penelitian dengan dibimbing oleh pembimbing I dan II untuk diseminarkan;
 - f) Pelaksanaan Seminar Proposal pada tanggal 5 Januari 2024;
 - g) Meminta revisi proposal kepada para penguji pada tanggal 6 Januari 2024;
 - h) Revisi proposal penelitian pada tanggal 7 Januari 2024;
 - i) Mengurus perizinan untuk melaksanakan penelitian pada tanggal 8 Januari 2024;
 - j) Pelaksanaan penelitian pada tanggal 9 Januari 2024
- 2) **Tahap pelaksanaan**, meliputi:
- a) **Mempersiapkan alat dan bahan** yang akan digunakan dalam penelitian, alat dan bahan dapat dilihat pada tabel 3.2.

Tabel 3.2
Alat dan Bahan

No	Alat & Bahan	Spesifikasi dan Kegunaan	Jumlah	Gambar
1	Kandang mencit	Untuk tempat mencit melakukan aktivitas)	5 buah	

2	Tisu	Tessa (untuk mengeringkan alat-alat yang digunakan)	1 buah	
3	Timbangan digital	Kitchen Scale (untuk menimbang berat badan menci)	1 buah	
4	Lumpang dan alu	Untuk menghaluskan daun binahong yang sudah kering	1 buah	
5	Plastik	Piala (Untuk membungkus alat dan bahan yang akan di sterilkan)	1 pack	
6	Batang Scalpel genap	Renz (untuk memberi luka sayatan pada menci)	4 buah	

7	Pencukur bulu dan silet	Gillette goal (untuk mencukur bulu mencit sebelum diberi luka sayat)	2 set	
8	<i>Rotary evaporator</i>	IKA RV10 (untuk membuat ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis))	1 buah	
9	Sarung tangan	<i>Latex examination glove</i> (untuk melindungi tangan dari bahan kimia berbahaya dan resiko kecelakaan kerja)	1 box	
10	Oven	Memmert UN 55 53L (untuk mengeringkan daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis))	1 buah	

11	Spidol	Snowman (untuk memberi tanda pada mencit yang sudah dilukai)	2 buah	
12	Penggaris	Butterfly (untuk mengukur panjang diameter luka sayat pada mencit)	1 buah	
13	Botol zat tertutup (gelap) 2 L	Untuk menyimpan ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis)	2 buah	
14	Labu erlenmeyer 250 ml	Pyrex (untuk menyimpan serbuk daun binahong lalu ditambahkan etanol)	8 buah	
15	Kamera	Hp Oppo (untuk mendokumentasikan proses penyembuhan luka sayat pada mencit)	1 buah	

16	Thermosheker	Untuk mengaduk ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis)	1 buah	
17	Cotton bud	HUKI (untuk mengoleskan ekstrak daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis) ke dalam luka sayat menci	1 buah	
18	Kertas saring	Whatman (untuk menyaring hasil ekstrak etanol daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steennis))	50 pcs	
19	Kompur dan gas	Blue gaz (untuk memanaskan ketika sterilisasi alat dan bahan)	1 set	

20	Autoclave	Untuk mensterilkan alat dan bahan	1 buah	
21	Karet gelang	Untuk mengikat alat-alat yang di sterilisasi	1 ons	
22	Alkohol swab	OneMed (untuk antiseptik sebelum diberi luka sayat)	1 pack	
23	Alumunium foil	<i>Best fresh</i> (untuk menutup alat-alat yang akan di sterilkan agar tidak terkontaminasi)	1 roll	
24	Daun binahong	Untuk bahan simplisia	1 kg	

25	Etanol 96%	Bahan untuk maserasi)	1 liter	
26	Mencit jantan	Bahan hewan uji coba	20 ekor	
27	Water For Injection	Aquadex (bahan untuk maserasi)	1 Liter	
28	HI-PRO-VITE	A594K (Pakan mencit)	3 Kg	

29	Saringan	Untuk penyaringan daun binahong yang sudah dihaluskan	1 buah	
30	Cawan Petri DM 6 cm	Pyrex (Untuk wadah menimbang daun binahong yang sudah kering)	1 buah	
31	Baki Stainlees	Untuk wadah proses pengeringan daun binahong di dalam oven	1 buah	
32	Baki Keranjang	Untuk wadah mencuci alat-alat yang akan di sterilkan	1 buah	
33	Kawat Kasa	Untuk proses pembakaran ekstrak daun binahong yang masih mengandung etanol	1 buah	

34	Spatula	Untuk mengaduk ekstrak daun binahong yang akan dicampurkan dengan aquades steril	1 buah	
35	Gelas Kimia 5 ml	Pyrex (Untuk menampung aquades steril ketika pembagian konsentrasi ekstrak daun binahong)	1 buah	
36	Gelas Ukur 5 ml	Pyrex (Untuk mengukur aquades steril yang akan dibuat masing-masing konsentrasi)	1 buah	

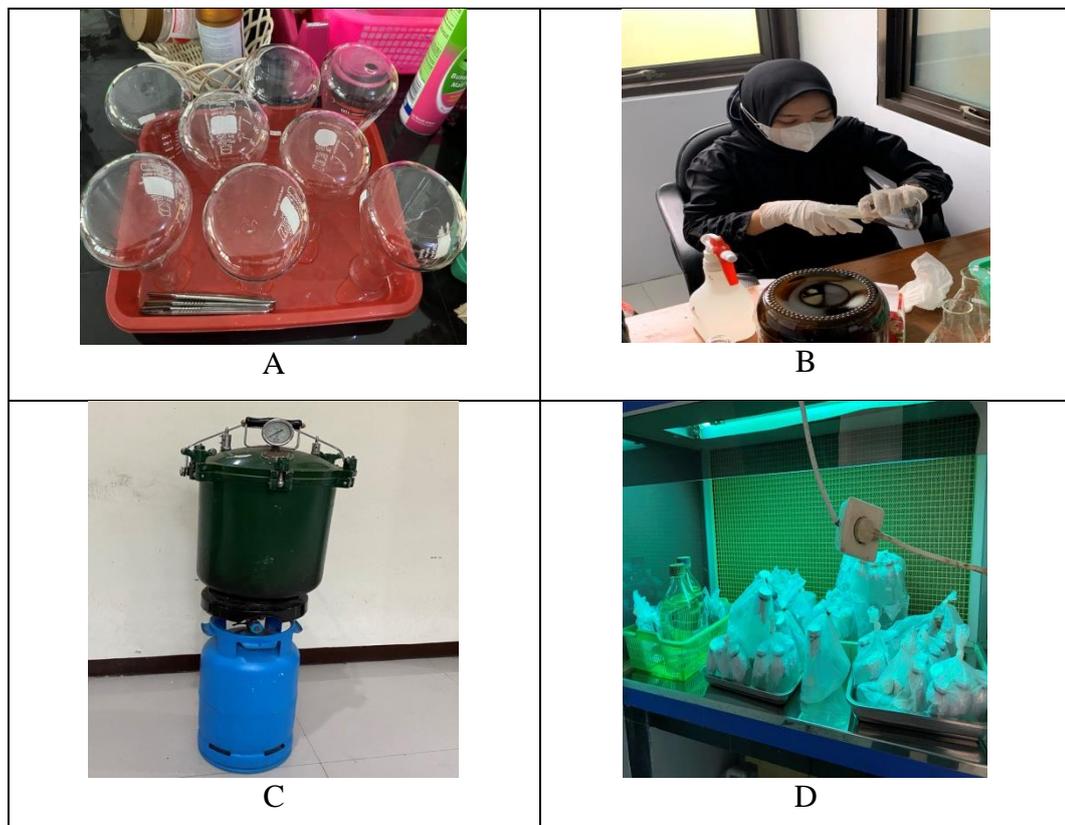
b) **Sterilisasi alat dan bahan**, meliputi:

- (a) Peralatan dan bahan yang akan di sterilkan diantaranya botol zat tertutup (gelap) 2 L sebanyak 1 buah, batang Scalpel genap sebanyak 4 buah, labu erlenmeyer 250 ml sebanyak 4 buah, kertas saring sebanyak 50 pcs, batang pengaduk 1 buah, gelas kimia 5ml 1 buah, gelas ukur 5 ml 1 buah, dan aquades 1 liter;
- (b) Peralatan yang akan di sterilkan usahakan dibilas dengan sabun dan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat, kemudian lap menggunakan tissue dan semprot menggunakan alkohol 96%. Labu erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur dan zat winkel ditutup menggunakan

aluminium foil agar tidak terkontaminasi dari udara luar lalu masukan kedalam plastik.

- (c) Autoklaf digunakan untuk mensterilkan dengan memasukkan alat dan bahan tersebut lalu ditutup dengan rapat dan nyalakan dengan suhu 121°C dan selama 30 menit.

Proses sterilisasi alat dan bahan dapat dilihat pada gambar 3.3

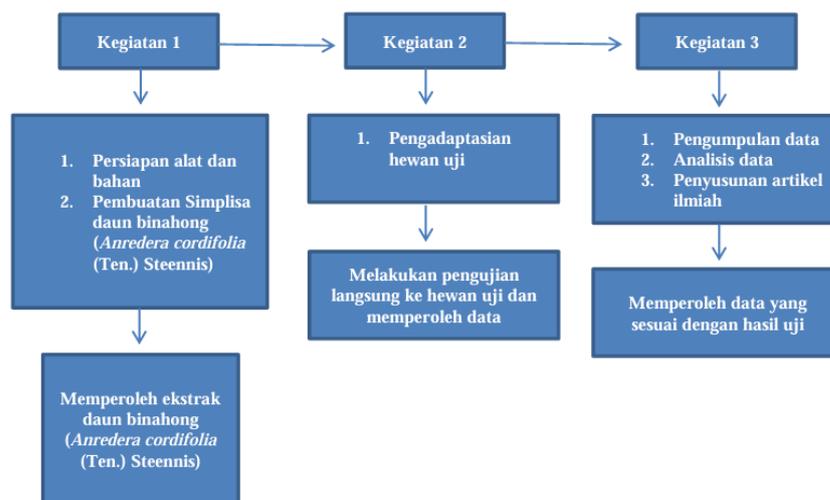


Gambar 3.3

Alat-alat yang sudah dibersihkan (A), Proses lap menggunakan tissue dan semprot menggunakan alkohol 96% (B), Autoklaf yang digunakan untuk mensterilkan dengan memasukkan alat dan bahan yang diperlukan (C), Alat dan bahan yang sudah di sterilkan disimpan dalam laminar air flow (D).

Sumber: Dokumentasi Pribadi

c) **Pelaksanaan Penelitian**, meliputi:



Gambar 3.4

Tahapan Penelitian

Sumber: Dokumentasi Pribadi

d) **Pembuatan Simplisia Daun Binahong**

Tahapan pembuatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steennis) adalah sebagai berikut:

- (a) Membersihkan daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steennis) dari kotoran sampai bersih;
- (b) Menimbang berat simplisia daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steennis);
- (c) Mengeringkan dengan cara dioven pada suhu 40°C sampai memenuhi kekeringan yang cukup untuk diserbuk;
- (d) Menghaluskan simplisia menggunakan lumpang dan alu sampai halus;
- (e) Menyaring daun binahong yang sudah dihaluskan;
- (f) Memindahkan bahan yang telah dihaluskan ke dalam labu erlenmeyer ukuran 250 ml lalu ditambahkan pelarut etanol 96% ke dalam wadah yang berisi simplisia yang telah dihaluskan sampai simplisia terendam etanol;
- (g) Simpan selama 12 jam didalam thermosheker;
- (h) Memfiltrasi larutan menggunakan kertas saring;

- (i) Memindahkan hasil saringan ke dalam evaporator dan memasang labu pada evaporator;
- (j) Melakukan destilasi pada suhu titik didih pelarut sampai tertinggal cairan pekat pada evaporator;
- (k) Lalu dipekatkan lagi dengan cara proses pembakaran agar etanol menguap dan menghasilkan ekstrak murni daun binahong;
- (l) Membagi ekstrak daun binahong ke dalam beberapa konsentrasi. Proses pembuatan ekstrak dapat dilihat pada gambar 3.5





Gambar 3.5

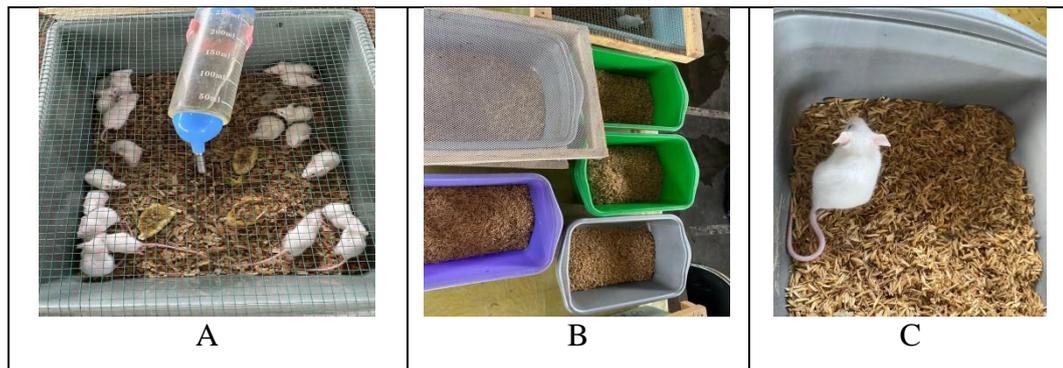
Proses pembesihan daun binahong (A), Penimbangan berat daun binahong (B), Proses pengeringan menggunakan oven (C), Menghaluskan daun binahong yang sudah kering (D), Penyaringan daun binahong yang sudah halus (E), Proses pencampuran daun binahong dengan etanol 96% (F), Proses pengadukan dengan thermosheker (G), Filtrasi (H), Proses evaporasi (I), Hasil evaporasi (J), Pemekatan (K), Hasil akhir setelah membagi ke dalam beberapa konsentrasi (L).

Sumber: Dokumentasi Pribadi

3) Pengadaptasian Hewan Uji

Tahapan pengadaptasian hewan uji adalah sebagai berikut:

- a) Sampel mencit di ambil secara random dan di timbang sebanyak 20 ekor;
- b) Lalu dipisahkan menjadi 5 perlakuan setiap perlakuan terdapat 4 ekor mencit;
- c) Mencit diberi pakan dengan jumlah yang sama dalam setiap kandang kecilnya, makanan yang diberikan berupa pelet *hi-pro-vite* yang mengandung karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral dan air. Jumlah pakan normal untuk hewan mencit adalah 1/10 BB atau sekitar 3-4 g/hewan/hari.
- d) Mencit diadaptasikan (aklimatisasi) sekitar 7 hari, selama proses adaptasi dilakukan pengamatan kondisi umum serta penimbangan berat badan setiap hari. Tujuan aklimatisasi yaitu agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Proses aklimatisasi dilakukan di Laboratorium Kandang Mencit Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya. Proses pengadaptasian mencit dapat dilihat pada gambar 3.6



Gambar 3.6

Populasi mencit (A), Proses pemisahan mencit menjadi 5 perlakuan masing-masing perlakuan berisi 4 ekor (B dan C)

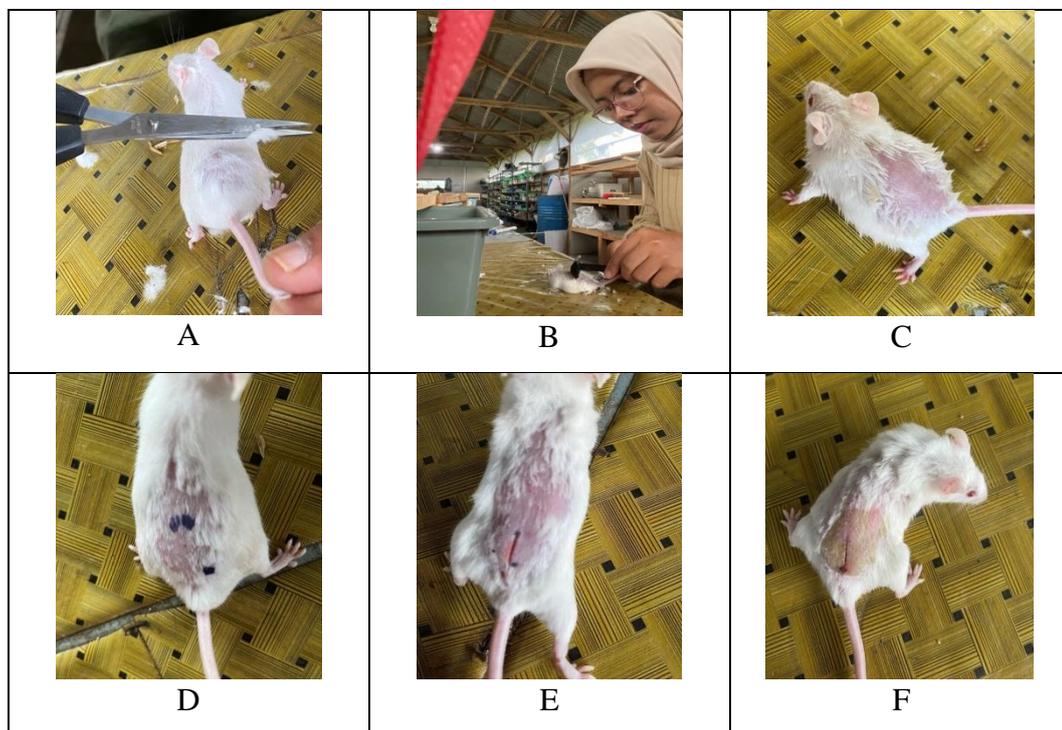
Sumber: Dokumentasi Pribadi

4) Perlakuan pada Mencit

Tahapan perlakuan pada mencit adalah sebagai berikut:

- a) Melakukan pencukuran pada area punggung mencit.
- b) Pemberian tindakan anestesi dengan alkohol swab dan letakan mencit yang telah dianestesi secara tengkurap di atas meja.
- c) Sebelum melakukan sayatan, ukur terlebih dahulu panjang sayatan dengan cara menandai punggung mencit menggunakan spidol.
- d) Buatlah luka sayat dengan panjang sayatan yang berbeda-beda dengan menggunakan scalpel steril.
- e) Pada setiap perlakuan diberi perlakuan sebagai berikut:
 - (a) Perlakuan 1 : Dengan kontrol (*povidone iodine*) masing-masing mencit dengan panjang luka sayat 0,2 cm, 0,7 cm 1,2 cm dan 1,7 cm.
 - (b) Perlakuan 2 : Dengan dosis 1 (0,2 mg/20 g BB mencit) ekstrak daun binahong masing-masing mencit dengan panjang luka sayat 0,2 cm, 0,7 cm 1,2 cm dan 1,7 cm.
 - (c) Perlakuan 3 : Dengan dosis 2 (0,3 mg/20 g BB mencit) ekstrak daun binahong masing-masing mencit dengan panjang luka sayat 0,2 cm, 0,7 cm 1,2 cm dan 1,7 cm.

- (d) Perlakuan 4: Dengan dosis 3 (0,4 mg/20 g BB mencit) ekstrak daun binahong masing-masing mencit dengan panjang luka sayat 0,2 cm, 0,7 cm 1,2 cm dan 1,7 cm.
- (e) Perlakuan 5 : Dengan dosis 4 (0,5mg/20 g BB mencit) ekstrak daun binahong masing-masing mencit dengan panjang luka sayat 0,2 cm, 0,7 cm 1,2 cm dan 1,7 cm.
- f) Pemberian olesan ekstrak binahong dan povidone iodine dilakukan setiap hari pada jam yang sama.
- g) Melakukan pengamatan secara makroskopis mengenai kondisi luka dan panjang luka sayat. Pengukuran panjang luka sayat menggunakan penggaris.
- h) Setelah diperoleh data, ditabulasi dan dianalisis. Proses uji coba perlakuan pada mencit dapat dilihat pada gambar 3.7



Gambar 3.7

Pencukuran di area punggung (A dan B), Pemberian tindakan anestesi (C), Tandai dengan spidol yang akan dilakukan sayatan (D), Sayat sesuai dengan yang telah diberi tanda (E), Pemberian olesan sesuai masing-masing kelompok perlakuan (F)
 Sumber : Dokumentasi Pribadi

3.6. Teknik Pengumpulan Data

Pada penelitian ini, teknik pengumpulan data yang digunakan adalah observasi, yaitu suatu teknik pengumpulan data dengan mengamati secara langsung objek yang diteliti, yakni kecepatan penyembuhan luka dengan indikator panjang luka yang berbeda-beda pada mencit jantan. Konsentrasi ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steennis) yang digunakan yaitu 2 gram/20g bb, 3 gram/20g bb, 4 gram/20g bb, dan 5 gram/20g bb.

3.7. Instrumen Penelitian

Instrumen penelitian atau instrumen pengumpulan data adalah alat bantu yang dipilih dan digunakan oleh peneliti dalam kegiatannya mengumpulkan data agar kegiatan tersebut menjadi sistematis dan dipermudah olehnya. Berikut ini merupakan instrumen yang digunakan dalam penelitian.

Tabel 3.3
Instrumen Penelitian

Kelompok Perlakuan	Panjang luka (cm)	Berat mencit/ gram	Hari ke-					
			0	2	4	6	8	10
Kontrol (Povidone Iodine)	0,2							
	0,7							
	1,2							
	1,7							
Dosis 1 (0,2 gram/20g BB Mencit)	0,2							
	0,7							
	1,2							
	1,7							
Dosis 2 (0,3 gram/20g BB Mencit)	0,2							
	0,7							
	1,2							
	1,7							
Dosis 3	0,2							

(0,4 gram/20g BB Mencit)	0,7							
	1,2							
	1,7							
Dosis 4 (0,5 gram/20g BB Mencit)	0,2							
	0,7							
	1,2							
	1,7							

3.8. Teknik Pengelolaan dan Analisis Data

Setelah data dari penelitian diperoleh, maka data tersebut dianalisis dengan bantuan aplikasi SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) versi 23 dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1) Uji Prasyarat Analisis

a. Uji normalitas data

Uji normalitas digunakan untuk menentukan apakah data berdistribusi normal atau tidak. Dalam penelitian ini, untuk menguji normalitas data, digunakan Uji Shapiro-Wilk. Jika kedua kelompok data berasal dari populasi yang berdistribusi normal, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji homogenitas.

b. Uji homogenitas varians

Pengujian homogenitas varians dilaksanakan untuk menyelidiki apakah populasi memiliki varians yang serupa atau berbeda. Dalam penelitian ini, pengujian homogenitas varians menggunakan uji Levene. Jika kedua kelompok data menunjukkan homogenitas varians, maka analisis akan dilanjutkan dengan Uji ANOVA satu jalur. Namun, jika kedua kelompok data memiliki varians yang tidak serupa, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji non-parametrik. Analisis data dalam penelitian ini dilakukan secara deskriptif dan kuantitatif, yaitu dengan menguraikan hasil penelitian berdasarkan data yang diperoleh secara menyeluruh

c. Uji hipotesis

Uji hipotesis dilakukan setelah data hasil uji prasyarat analisis diperoleh. Analisis statistik dilakukan dengan ANOVA satu arah untuk menentukan apakah

terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan signifikan, analisis lanjutan menggunakan uji Tukey HSD dilakukan untuk membandingkan masing-masing kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol.

3.9. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan januari sampai dengan bulan maret 2024 di Laboratorium Botani Universitas Siliwangi, Laboratorium Farmakologi Universitas Garut dan Laboratorium Kandang mencit Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.



Gambar 3.8

Laboratorium Botani Universitas Siliwangi (A), Laboratorium Farmakologi Universitas Garut (B) Laboratorium Kandang mencit Univesitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya (C)

Sumber: Dokumentasi Pribadi