

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini mencakup ruang ilmu Anestesiologi, Farmakologi, dan Patologi Anatomi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang untuk perawatan serta perlakuan terhadap hewan coba dan Laboratorium Sentral RSUP Dr. Kariadi Semarang untuk pembuatan serta pembacaan preparat gambaran histopatologis hati hewan coba. Penelitian dilakukan pada Maret 2013 sampai Juni 2013.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bentuk penelitian *true experimental* dengan pendekatan *Post-Test Only Control Group Design* yang menggunakan tikus wistar jantan sebagai objek penelitian.

4.4 Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1 Populasi Target

Adalah tikus wistar jantan

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah tikus wistar jantan, umur 2-3 bulan, berat 200-250 gram, sehat, dan tidak ada kelainan anatomi, yang diperoleh dari Universitas Negeri Semarang.

4.4.3 Sampel

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

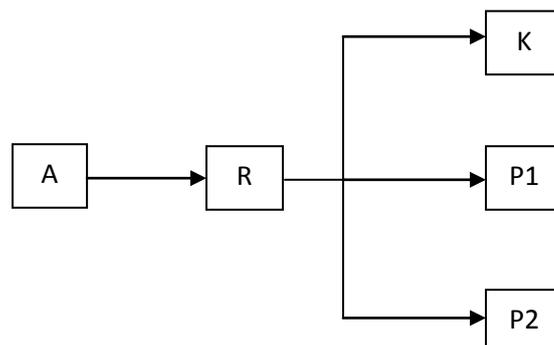
- a. Tikus wistar jantan
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Sehat (lincah)
- d. Berat 200-250 gram
- e. Tidak terdapat kelainan anatomi

4.4.3.2 Kriteria Eksklusi

Tikus wistar jantan mati selama adaptasi dan perlakuan.

4.4.4 Cara Sampling

Pengelompokan dilakukan secara acak (*Simple Random Sampling*).



Gambar 7. Cara Sampling

Keterangan:

A = Adaptasi

R = Randomisasi

K = Tikus diberi pakan standar serta disonde aquades

P1 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 2 hari

P2 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 4 hari

4.4.5 Besar Sampel

Penentuan besar sampel berdasarkan ketentuan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor tikus.³⁵ Penelitian ini terdiri dari 2 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol dengan masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor dimana 5 ekor merupakan sampel dan 2 ekor merupakan cadangan, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan sebanyak 21 ekor.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah parasetamol dosis analgesik.

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologis hati tikus wistar jantan.

4.5.3 Variabel Terkontrol

Galur tikus hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba, pakan hewan coba, kandang individu hewan coba yang berhubungan dengan aktivitas fisik hewan coba, proses pemberian perlakuan yang berhubungan dengan stres pada hewan coba, dan berat badan hewan coba.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Parasetamol dosis analgesik	Parasetamol dosis analgesik diperoleh dari hasil konversi manusia ke tikus yang akan diujikan pengaruhnya pada tikus wistar jantan yaitu sebesar 18 mg. Parasetamol akan diberikan dalam bentuk sediaan cair secara peroral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 2 dan 4 hari.	mg	Rasio
Gambaran Histopatologis Hati	Preparat histopatologis hati tikus wistar dibuat dengan pengecatan Hematoksin Eosin (HE), kemudian diamati gambaran histopatologisnya di 5 lapangan pandang secara acak dengan mikroskop cahaya pada pembesaran 400x. Gambaran histopatologis hati tikus wistar dinilai dengan menghitung tingkat kerusakan hepatosit berdasarkan skor derajat perubahan struktur histopatologis sel hati menurut skoring <i>Manja Roenigk</i> .		Interval

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

1. Tikus Wistar Jantan
2. Parasetamol
3. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
 - a. Larutan buffer formalin 10%
 - b. Parafin
 - c. Albumin
 - d. Hematoksilin eosin
 - e. Larutan xylol
 - f. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
 - g. Aquades
4. Makanan dan minuman tikus

4.7.2 Alat

1. Kandang tikus beserta botol minum
2. Sonde lambung
3. Satu set alat bedah minor (untuk mengambil organ tikus)
4. Alat untuk proses mikroteknik pembuatan preparat histologi:
deckglass, objeckglass, mikrotom, oven, cetakan parafin
5. Mikroskop cahaya untuk melihat preparat histologi

4.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil pengamatan gambaran tingkat kerusakan sel hati tikus wistar jantan dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

4.7.4 Cara Kerja

Dari seluruh sampel yang berjumlah 21 ekor tikus wistar jantan, dibuat 3 kelompok masing-masing terdiri dari 7 ekor tikus wistar jantan yang dibagi secara *simple random sampling*. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol yang diberi pakan standar serta disonde dengan aquades. Sedangkan kelompok lainnya merupakan kelompok perlakuan yang mendapat parasetamol dengan dosis analgesik dengan menggunakan sonde lambung.

Ketiga kelompok tersebut adalah:

K = Tikus diberi pakan standar serta disonde aquades

P1 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 2 hari

P2 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 4 hari

Tabel 3. Konversi dosis manusia dan antar jenis hewan³⁵

	Mencit	Tikus	Marmot	Manusia
Mencit (200g)	1,0	7,0	12,25	387,9
Tikus (200g)	1,14	1,0	1,74	56,0
Marmot (400g)	0,08	0,57	1,0	31,15
Manusia (70kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0

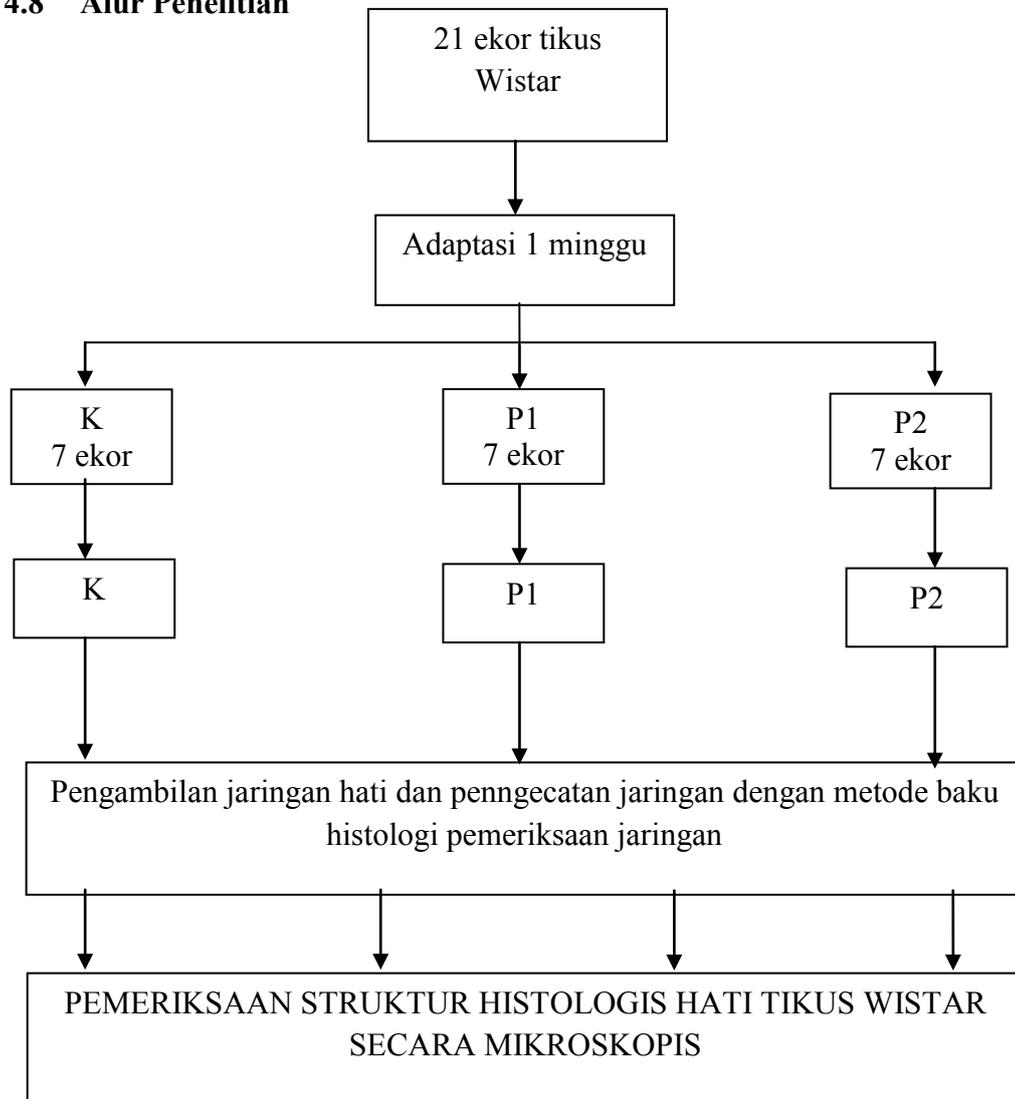
Berdasarkan tabel tersebut, angka konversi dosis dari manusia ke tikus adalah 0,018. Perhitungan dosis untuk kedua perlakuan adalah $1000 \text{ mg} \times 0,018 = 18 \text{ mg}$.

Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasi dengan dikandangkan berkelompok dan diberi pakan standar selama 1 minggu secara *ad libitum*. Setelah itu, tiap kelompok mendapat perlakuan sesuai yang sudah disebutkan sebelumnya. Setelah diberi perlakuan, tikus wistar didekapitasi pada hari ke-3 untuk kelompok P-1 dan hari ke-5 untuk kelompok K dan P-2, selanjutnya hati diambil dan difiksasi dengan *buffer formalin*. Setelah itu, organ hati dibuat preparat menggunakan metode baku histologi pemeriksaan jaringan, kemudian dilakukan pemeriksaan mikroskopis terhadap sel hati. Sasaran yang dibaca adalah tingkat kerusakan sel hati pada 5 lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Untuk mengukur derajat kerusakan hati digunakan skor sel hati *Manja Roenigk*.

Tabel 4. Skor gambaran histologis hati modifikasi *Manja Roenigk*³⁶

Integritas gambaran hati	
1	Normal tidak ada perubahan patologis
2	Degenerasi parenkimatosa
3	Degenerasi hidropik
4	Nekrosis

4.8 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

Keterangan:

K = Tikus diberi pakan standar serta disonde aquades

P1 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 2 hari

P2 = Tikus diberi pakan standar serta mendapat parasetamol dosis 18 mg per oral dengan menggunakan sonde lambung 4 kali sehari selama 4 hari

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari 3 kelompok sampel diolah dengan program komputer SPSS. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro-Wilk*. Jika didapatkan data normal, maka dilakukan uji beda menggunakan uji statistik parametrik *One Way Anova*, dan jika didapatkan perbedaan yang bermakna, maka dilanjutkan dengan uji statistik *Post Hoc*.

4.10 Etika Penelitian

Tikus wistar adalah hewan berkelompok, sehingga dibutuhkan waktu adaptasi selama tujuh hari yang dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Tikus diadaptasi dalam kandang berukuran 60cm x 20cm x 30cm dengan penutup yang terbuat dari kawat kasa yang diberi botol minuman. Kandang ditaruh dalam ruangan dengan temperatur suhu kamar. Perlakuan dilakukan dibawah pengawasan laboran Biologi Universitas Negeri Semarang, yang terdiri dari pemberian makanan dan minuman standar, parasetamol per oral, dan penyimpanan organ didalam larutan formalin 10%. Dekapitasi tikus wistar dilakukan sebelum pengambilan organ dengan cara dislokasi leher. Setelah dekapitasi, tikus dikubur di halaman Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan.