

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang Lingkup Penelitian**

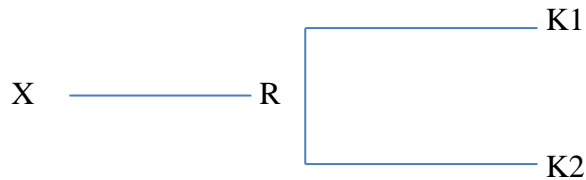
Ruang lingkup penelitian ini mencakup ruang ilmu : Anestesiologi, Farmakologi dan Patologi Klinik.

#### **4.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada. Sedangkan penangkaran tikus akan dilakukan di laboratorium biologi Universitas Negeri Semarang. Waktu penelitian dimulai setelah proposal memperoleh persetujuan.

#### **4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *Randomize Post Test Only Control Group Design* dengan tujuan mencari perbandingan pengaruh pemberian Tramadol dan Ketorolak intramuscular terhadap kadar kortisol plasma pasca insisi.<sup>45,46</sup>



**Gambar 10** Cara Sampling

Keterangan :

X-R : Masa aklimatisasi 1 minggu

R : Randomisasi

K1 : Kelompok 1 merupakan tikus wistar yang dilakukan insisi sepanjang 2 cm dan diberikan injeksi ketorolak intramuscular yang sebanding dengan dosis manusia yang sebanding dengan dosis manusia 30 mg tiap 6 jam.

K2 : Kelompok 2 merupakan tikus wistar yang dilakukan insisi sepanjang 2 cm dan diberi tramadol intramuscular yang sebanding dengan dosis manusia 50 mg tiap 6 jam.

Dosis obat yang diberikan

Dosis obat yang digunakan dikalikan dengan koefisien uji terapi pada hewan coba tikus wistar yaitu 0,018. Jadi dosis yang diberikan yaitu :

Ketorolak 30 mg  $\longrightarrow$   $30 \text{ mg} \times 0,018 = 0,54 \text{ mg}$  tiap 6 jam

Tramadol 50 mg  $\longrightarrow$   $50 \text{ mg} \times 0,018 = 0,9 \text{ mg}$  tiap 6 jam

#### **4.4 Subjek Penelitian**

Subjek penelitian meliputi :

##### **4.4.1 Populasi**

Populasi pada Penelitian ini meliputi semua tikus wistar jantan.

##### **4.4.2 Sampel Penelitian**

Sampel dalam penelitian adalah tikus Wistar Jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, yang meliputi :

###### a) Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada percobaan ini meliputi :

- Tikus wistar
- Keturunan murni
- Sehat
- Umur dua sampai tiga bulan
- Berat badan 200 – 250 mg
- Tidak terdapat abnormalitas anatomis

###### b) Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi pada percobaan ini meliputi :

- Sakit/infeksi selama masa adaptasi 7 hari
- Mati selama perlakuan berlangsung

#### **4.4.3 Cara Sampling**

Pengelompokan dilakukan secara acak (*Simple Random Sampling*)

#### **4.4.4 Besar Sampel**

Penentuan besar sampel menurut rumus WHO yaitu jumlah sampel minimal 5 ekor perkelompok.<sup>47</sup> Pada penelitian ini digunakan 10 sampel tikus wistar jantan, yang dibagi kedalam dua kelompok perlakuan.

#### **4.5 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini terdiri dari variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel perancu, sebagai berikut :

##### **4.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian analgetik tramadol dan ketorolak.

##### **4.5.2 Variabel Tergantung**

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar kortisol plasma tikus Wistar jantan yang mengalami insisi.

##### **4.5.3 Variabel Terkontrol**

Variabel terkontrol dari penelitian ini terdiri dari galur tikus hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba, pakan hewan coba, kandang individu hewan coba yang berhubungan dengan aktifitas fisik hewan coba, proses pemberian

perlakuan yang berhubungan dengan stress pada hewan coba dan berat badan hewan coba.

#### 4.6 Definisi Operasional

**Table 2.** Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Ketorolak	Ketorolak dosis analgesik diperoleh dari hasil konversi manusia ke tikus yang akan diujikan pengaruhnya pada tikus Wistar jantan yaitu sebesar 0,56 mg tiap 6 jam. Ketorolak akan diberikan dalam bentuk sediaan cair secara injeksi intramuscular selama 24 jam.	mg	Nominal
Tramadol	Tramadol dosis analgesik diperoleh dari hasil konversi manusia ke tikus yang akan diujikan pengaruhnya pada tikus Wistar jantan sebesar 0,9 mg tiap 6 jam. Tramadol akan diberikan dalam bentuk sediaan cair secara injeksi intramuscular selama 24 jam.	mg	Nominal
Kadar Kortisol Plasma	Masing – masing kelompok dilakukan pengambilan sampel darah sebanyak 3cc. Darah tersebut kemudian diolah mengikuti metode baku pemeriksaan di laboratorium Patologi Klinik untuk diukur kadar kortisol plasma.	Unit/ml	Numerik

#### 4.7 Cara Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data pada penelitian ini meliputi :

##### 4.7.1 Bahan

Bahan percobaan penelitian menggunakan tikus Wistar jantan dengan umur 2,5 sampai 3 bulan dan berat 200 – 250 mg. Tikus diperoleh dari Fakultas MIPA

Universitas Negeri Semarang. Selama percobaan, hewan coba ditempatkan pada kandang dan diberi pakan standar dan minum secukupnya.

#### **4.7.2 Alat dan Bahan untuk Insisi**

- Minor set steril
- Larutan betadine
- Ketalar
- Mikrotom
- Inkubator 56<sup>0</sup> C

#### **4.7.3 Alat untuk Pemeriksaan Kortisol**

- Kit immulite kortisol
- ELISA reader
- Inkubator
- Tabung reaksi steril
- Mikropipet
- Spektrofotometer

#### **4.7.4 Jenis Data**

Penulis menggunakan jenis data primer sebagai bahan acuan dalam melakukan penelitian yang merupakan hasil pemeriksaan laboratorium kadar kortisol plasma darah tikus wistar jantan dari kelompok perlakuan I dan kelompok perlakuan II.

#### **4.7.5 Cara Kerja**

##### **a. Cara perlakuan**

Sejumlah 10 ekor tikus dilakukan adaptasi di laboratorium dengan dikandangan secara individual dan diberikan pakan standar secukupnya selama 7 hari. Tikus dibagi menjadi dua kelompok yang dilakukan secara acak masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus untuk kelompok kontrol (K1) dan 5 ekor tikus kelompok perlakuan (K2).

Setelah adaptasi selama 7 hari, tikus dari kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol dilakukan pembiusan dengan menggunakan ketalar. Sesudah terbius, bulu disekitar punggung dicukur bersih dan disinfeksi menggunakan betadine. Selanjutnya iris punggung tikus sepanjang 2 cm hingga mencapai subcutan. Luka irisan dibersihkan dan dioleskan betadine, kemudian luka ditutup dengan lima jahitan tunggal menggunakan benang slide. Pemberian ketorolak dilakukan pada kelompok K1 setelah insisi secara intramuscular dilanjutkan tiap 6 jam dan pemberian tramadol pada kelompok K2 secara intramuscular yang dilanjutkan setiap 6 jam. Selanjutnya luka dibersihkan, diolesi betadine dan dirawat. Pada hari ke 1 pasca perlakuan, dilakukan pembiusan lalu dilakukan pengambilan sampel darah intrakardial dengan cara memasukkan spuit 3cc langsung ke jantung. Darah dimasukkan ke tabung reaksi sebanyak 2 ml sebagai sediaan darah beku. Kemudian

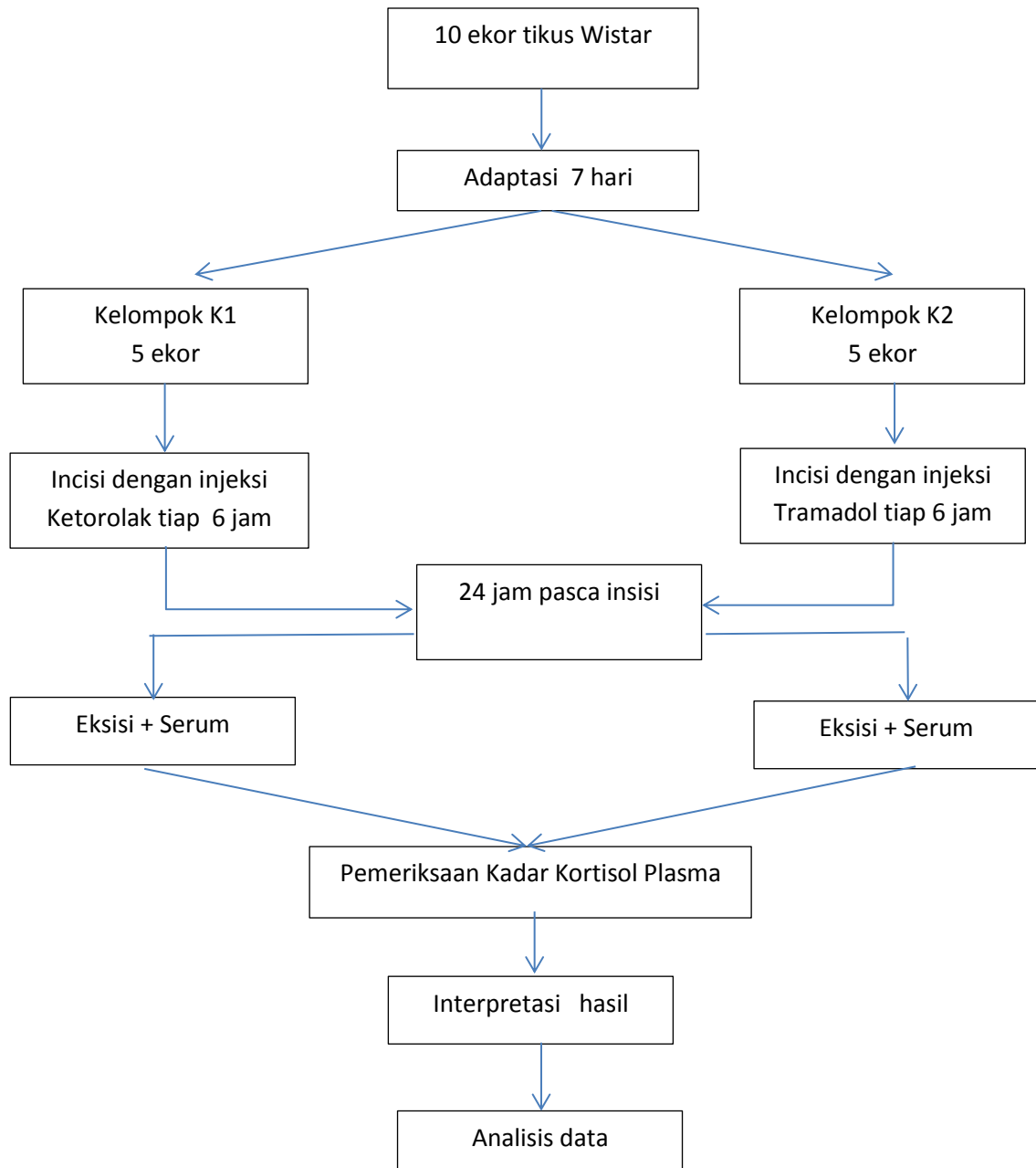
dimasukkan ke tabung reaksi khusus pemusingan dan dilakukan pemusingan centrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Plasma yang terletak di lapisan atas dikirim ke laboratorium untuk pemeriksaan kortisol.

#### **b. Prosedur pemeriksaan kortisol**

1. Darah ditempatkan dalam tabung reaksi steril dan dilakukan pemeriksaan kortisol dengan teknik *immulite cortisol (Solid phase two site chemiluminescent enzyme immunoassay)*. Prosedur pemeriksaan immulite cortisol dengan manik-manik *solid phase*, suatu bola *polystyrene* pada *immulite test unit*, dilapisi dengan antibodi monoklonal kelinci yang spesifik untuk kortisol.
2. Sampel darah dan *alkali phosphatase conjugated rabbit polyconal anti cortisol antibody* dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 37° C dalam test unit. Kemudian Enzim konjugat yang tidak terikat dibersihkan dengan pencucian centrifuge.
3. Ditambahkan substrat dari tes unit dan diinkubasi selama 10 menit. Substrat *chemilumonescent*, ester fosfat dari *adamantyl dioxentane*, mengalami hidrolisis dengan alkali fosfatase membentuk intermediate tidak stabil. Produksi terus menerus menimbulkan emisi cahaya.
4. Emisi cahaya dapat ternaca sebagai kadar kortisol. Konsentrasi kortisol diukur dengan luminoler proporsional dengan ELISA reader.



#### 4.8 Alur Penelitian



**Gambar 6.** Alur Penelitian

Setelah masa adaptasi, tikus akan akan dibagi secara acak ke dalam dua kelompok. Kemudian akan dilakukan insisi yang akan dilanjutkan dengan pemberian obat analgetik tramadol dan ketorolak secara intramuscular. Setelah 24 jam, sampel darah dari tiap kelompok diambil. Kemudian dilakukan pemeriksaan kadar kortisol plasma. Setelah didapatkan data primer, maka akan dilakukan analisa secara statistik.

#### **4.9 Analisis Data**

Data yang terkumpul telah dilakukan *cleaning*, *coding*, dan tabulasi. Data dikumpulkan dan diolah menggunakan program computer SPSS. Analisa data meliputi analisa deskriptif dalam bentuk rerata dan standar deviasi. Kemudian dilakukan uji hipotesis komparatif kadar kortisol antar kelompok dengan menggunakan uji *Independent T-Test*.<sup>48</sup>

#### **4.10 Etika Penelitian**

Tikus wistar merupakan hewan berkelompok, sehingga dibutuhkan waktu adaptasi selama tujuh hari, yang dilakukan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Tikus Wistar diadaptasi dalam kandang berukuran 60cm x 20cm x 30 cm dengan penutup yang terbuat dari kawat basa yang diberi botol minuman. Kandang diletakkan dalam ruangan dengan temperature suhu kamar. Tikus diberi pakan standar selama sebelum perlakuan.

Sebelum penelitian dilakukan, ethical clearance telah dimintakan dari Komis Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.