

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1. Ruang Lingkup Penelitian

III.1.1. Lingkup Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, Laboratorium Patologi Anatomi RS Soeratto Gemolong Sragen.

III.1.2. Lingkup Waktu

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret 2016.

III.1.3. Lingkup Ilmu

Ilmu Kedokteran Forensik, Ilmu Patologi Anatomi, Ilmu Farmakologi.

III.2. Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan dari penelitian ini, maka jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Menggunakan 7 (tujuh) kelompok, yaitu 1 (satu) kelompok kontrol, 3 (tiga) kelompok pemberian dosis methanol bertingkat dan 3 (tiga) kelompok pemberian dosis methanol bertingkat dengan dosis ranitidin. Penelitian hanya dilakukan pada saat *post test*, dengan membandingkan gambaran histopatologi antara kelompok kontrol, kelompok pemberian methanol dan kelompok pemberian methanol dan ranitidin.

III.3. Variabel Penelitian

III.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metanol dan ranitidin.

III.3.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah tingkat kerusakan sel Gaster tikus wistar.

III.4. Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Skala	Satuan
A.	Variabel bebas			
	Metanol	Dosis yang akan digunakan yaitu 1/4x LD-100 (3,5 gr/kgBB), 1/2x LD-100 (7 gr/kgBB), 1x LD-100 (14 gr/kgBB), single dose per oral yang diukur dengan menggunakan pipet ukur.	Rasio	Gram (gr)
	Ranitidin	Dosis ranitidin yang akan diberikan adalah dosis afektif ranitidin yaitu 30 mg/kg intraperitoneal single dose 1 jam setelah pemberian metanol. Pengukuran dosis diukur dengan menggunakan pipet ukur.	Nominal	- Ya - Tidak

B	Variabel terikat Gambaran histopatologi gaster	Tingkat kerusakan gaster yang dimaksud adalah gambaran histopatologis gaster tikus Wistar yang dipulas dengan Hematoksilin Eosin lalu diamati di bawah mikroskop, diperiksa integritas mukosa pada 5 lapangan pandang. Tingkat kerusakan untuk satu tikus didapatkan dari rerata 5 lapangan pandang, kemudian diklasifikasikan dengan sistem skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja. ³⁷	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> - Skor 0 - Skor 1 - Skor 2 - Skor 3 - Skor 4
----------	--	---	---------	--

III.5. Cara dan Skala Pengukuran

Cara pengukuran variabel bebas yakni metanol dengan sistem dosis bertingkat dan ranitidin dosis afektif menggunakan skala rasio.

Cara pengukuran variabel terikat yaitu tingkat kerusakan sel gaster dengan rerata dari sistem skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja. Setiap tikus wistar dibuat satu preparat jaringan gaster dan setiap preparat dibaca pada 5 lapang pandang yaitu pada keempat sudut dan bagian tengah preparat. Pembacaan preparat dari 5 lapang pandang dicari rerata skor untuk penilaian satu tikus. Skala pengukuran berupa skala rasio.³⁷

Tabel 3. Skor integritas epitel mukosa.³⁷

Skor	Integritas epitel mukosa
0	Tidak ada perubahan patologis
1	Deskuamasi epitel mukosa
2	Erosi permukaan epitel mukosa (gap 1-10 sel epitel/lesi)
3	Ulserasi epitel mukosa (gap 1-10 sel epitel/lesi)
4	Perdarahan mukosa gaster

III.6. Populasi dan Sampel

III.6.1. Populasi Penelitian

a. Populasi Target

Populasi yang diteliti pada penelitian ini adalah tikus Wistar.

b. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah tikus Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

III.6.2. Sampel Penelitian

III.6.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus Wistar jantan
- b. Usia 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-250 gram
- d. Sehat dan tidak ada kelainan anatomi

III.6.2.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus Wistar mati sewaktu adaptasi
- b. Tikus dalam keadaan sakit
- c. Tikus memiliki kelainan anatomi

III.6.2.3. Besar Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan ketentuan WHO yaitu minimal lima ekor tikus pada masing-masing kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus Wistar yang dibagi dalam 6 (enam) kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus wistar.

III.6.2.4. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel menggunakan metode *allocation random sample* hal ini bertujuan untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus Wistar yang sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen.

Dalam penelitian ini terdapat 7 (tujuh) kelompok percobaan. Masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus wistar, sehingga jumlah keseluruhan tikus wistar yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 35 ekor.

III.6. Alat dan Bahan Penelitian

III.6.1. Alat untuk pemeliharaan

- a. Kandang tikus Wistar
- b. Sonde
- c. Pakan dan minum tikus wistar

III.6.2. Alat untuk bedah minor

- a. Pisau skapel
- b. Pinset bedah
- c. Gunting
- d. Botol-botol
- e. Label

III.6.3. Alat untuk pemeriksaan histopatologis

- a. Mikroskop
- b. Object glass
- c. Deckglass
- d. Mikrotom
- e. Oven
- f. Cetakan paraffin
- g. Botol-botol
- h. label

III.6.4. Bahan untuk percobaan

- a. Tikus wistar usia 2-3 bulan
- b. Berat badan 150-250 gram
- c. Metanol dosis bertingkat (1/4x LD-100, 1/2x LD-100, 1x LD-100)
- d. Ranitidin
- e. Nitrous oksida
- f. Anestesi

III.6.5. Bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan

- a. Larutan Bouin
- b. Larutan buffer formalin 10%
- c. Paraffin
- d. Albumin
- e. Hematoksilin Eosin
- f. Larutan Xylol
- g. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
- h. Aquades.

III.7. Cara Pengumpulan Data

III.7.1. Jenis data

Pada penelitian ini, data yang dikumpulkan adalah data primer hasil penelitian yaitu tingkat kerusakan sel gaster tikus wistar dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

III.7.2. Alur penelitian

Sejumlah 35 ekor tikus wistar jantan dilakukan adaptasi selama tujuh hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*.

Pada hari ke-8, sebelum diberi perlakuan tikus dipuasakan, kemudian tikus dibagi menjadi 7 kelompok yang masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Kemudian diberi tanda pada daerah yang berbeda yaitu kepala, punggung, perut, dan tanpa tanda. Selanjutnya masing-masing tikus ditimbang, dilakukan pengukuran suhu dan pemeriksaan fisik dada meliputi inspeksi dan auskultasi.

Sebelas kelompok tersebut adalah:

Kontrol negatif (K0) : tidak diberi metanol (tanpa tanda)

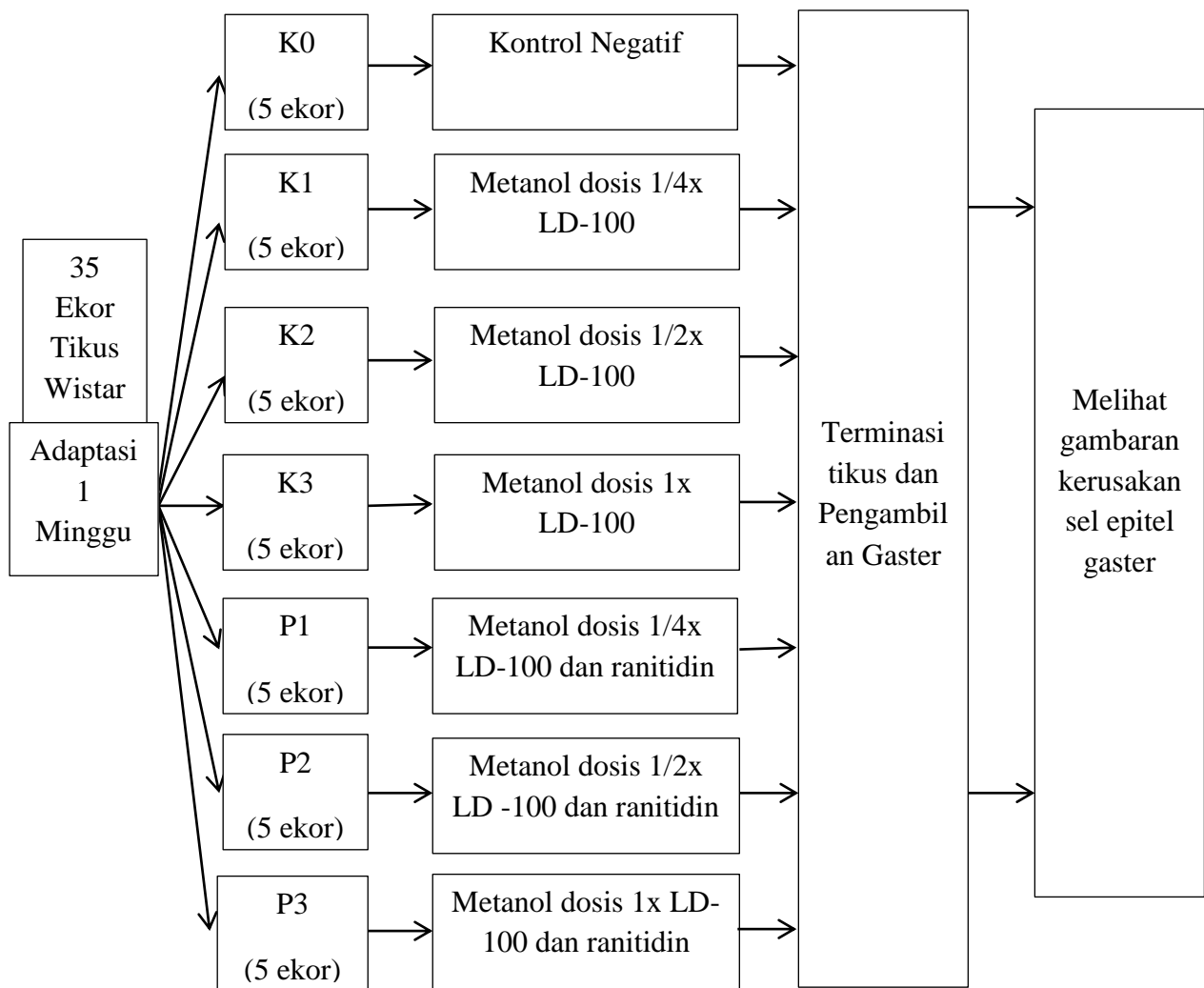
Kontrol positif : (tanda warna biru)

- K1 : diberi metanol 1/4x LD-100 (tanda di kepala)
 - K2 : diberi metanol 1/2x LD-100 (tanda di punggung)
 - K3 : diberi metanol 1x LD-100 (tanda di perut)
- Perlakuan : (tanda warna kuning)
- P1 : diberi metanol 1/4x LD-100 + ranitidin (tanda di kepala)
 - P2 : diberi metanol 1/2xLD-100+ranitidin (tanda di punggung)
 - P3 : diberi metanol 1x LD-100 + ranitidin (tanda di perut)

Sebelum pemberian metanol, tikus diberi nitrous oksida terlebih dahulu selama 16 jam dengan *flow rate* 2L/min. Kelompok kontrol negatif tidak dikenakan perlakuan apapun kemudian dilakukan dekapitasi. Kelompok kontrol positif diberi metanol dengan dosis bertingkat. Kelompok perlakuan diberi larutan metanol dosis bertingkat dan ranitidin. Pemberian metanol diberikan dengan sonde sampai habis.

Setelah dilakukan perlakuan sesuai kelompok masing-masing, tikus diberi anestesi dengan eter. Kemudian, semua kelompok didekapitasi pada waktu yang bersamaan. Oleh karena itu, pemberian perlakuan tikus dimulai dengan dosis terendah terlebih dahulu.

Setelah tikus didekapitasi, selanjutnya diautopsi untuk pengambilan organ gaster. Gaster tersebut kemudian diukur dan ditimbang, serta diamati secara makroskopik. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik berisi larutan buffer formalin 10% untuk diolah mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan Hemaktosilin Eosin. Data pemeriksaan ditulis dalam formulir untuk kemudian dianalisa.



Gambar 9. Bagan alur penelitian

III.7. Pengolahan dan Analisa Data

Pada penelitian ini, data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS for windows*. Uji normalitas yang digunakan adalah *Saphiro wilk*. Telah didapatkan distribusi data tidak normal. Analisis dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal wallis* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ kemudian analisis data dilanjutkan dengan uji *Mann whitney*.

