

BAB III

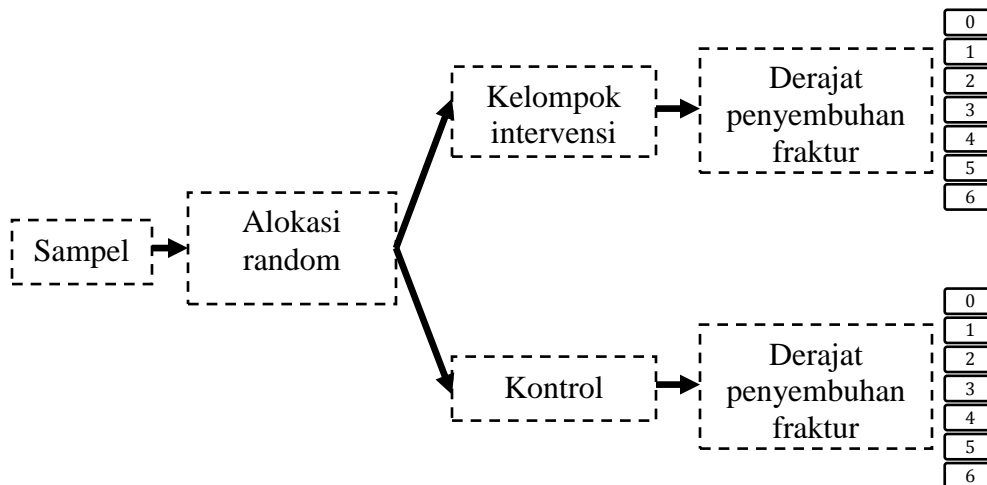
METODE PENELITIAN

3.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup keilmuan dalam penelitian ini adalah ilmu farmakologi, histologi, patologi anatomi dan bedah ortopedi.

3.2 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni yang menggunakan hewan coba tikus dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Perlakuan untuk kelompok intervensi berupa pemberian *ketorolac* dosis tunggal selama 5 hari pada tikus wistar jantan yang telah mengalami frakturisasi tibia unilateral. Parameter pengukuran derajat penyembuhan fraktur berupa gambaran mikroskopis kalus, yang dinilai dengan kriteria Allen dalam bentuk skor 0-6. Rancangan dari penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Rancangan penelitian

3.3 Populasi dan sampel

3.3.1 Populasi penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah tikus wistar jantan dewasa berumur 8-10 minggu yang diperoleh dari Universitas Wahid Hasyim Semarang.

3.3.2 Sampel penelitian

Sampel penelitian diambil dari populasi yang memenuhi kriteria inklusi.

3.3.2.1 Kriteria inklusi

- 1) Umur 8-10 minggu
- 2) Berat badan rata-rata 200-250g

3.3.2.2 Kriteria eksklusi

Terdapat kecacatan anatomis

3.3.3 Cara sampling

Pengambilan sampel menggunakan teknik randomisasi acak sederhana, dimana tiap unit dari populasi akan diberi nomor urut lalu akan dipilih sampel secara random berdasarkan nomor urut tersebut.

3.3.4 Besar sampel

Penentuan besar sampel minimal yang digunakan adalah menurut Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC) dan World Health Organisation (WHO), yaitu 5 ekor tiap kelompok dengan prinsip 3R (Replacement, Reduction and

Refinement). Untuk mengantisipasi apabila ada tikus yang mati dalam durasi penelitian, maka ditambahkan 5 tikus lagi setiap kelompok perlakuan untuk menjaga validitas penelitian ini. Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah 20 ekor tikus, dimana tiap kelompok masing-masing berisi 10 ekor tikus.

3.4 Tempat dan waktu penelitian

- 1) Tempat pemeliharaan dan intervensi terhadap terhadap hewan coba akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- 2) Pembuatan preparat tulang hewan coba akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Umum Pusat Dokter Kariadi.
- 3) Pengamatan struktur mikroskopis tulang hewan coba akan dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- 4) Penelitian akan berlangsung selama 22 hari.

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian injeksi *ketorolac* IP dengan dosis 5mg/kgBB selama 5 hari.

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah derajat penyembuhan fraktur yang dinilai berdasarkan gambaran mikroskopis kalus pada tulang tibia tikus menggunakan sistem skor kriteria Allen.

3.6 Definisi operasional

3.6.1 Variabel bebas

1) *Ketorolac*

Ketorolac yang digunakan adalah *ketorolac* IP. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5mg/kgBB. Dosis yang dipilih adalah dosis diatas median dosis efektif (ED-50) dari *ketorolac*.³⁴ Dosis pemberian *ketorolac* pada manusia dewasa dengan berat 50kg keatas adalah 60mg IM atau 30mg IV untuk dosis tunggal, dan 30mg IM/IV setiap 6 jam dengan maximum 120 mg per hari.³¹ Ini memberikan kisaran dosis 2mg/kgBB yang jelas lebih rendah dibandingkan dosis yang diberikan di tikus coba. Dengan dosis yang lebih tinggi diharapkan pemberian *ketorolac* mampu menunjukkan penghambatan penyembuhan tulang, apabila memang ada efeknya dalam pemberian 5 hari. Dosis 5mg/kgbb juga dipilih dalam beberapa penelitian sebelumnya. Dipilih rute intraperitoneal karena lebih mudah dilakukan dibandingkan rute intravena, dan mempunyai bioavailibilitas yang sama dengan rute intravena. Rute intraperitoneal hanya dilakukan pada hewan coba karena resiko jarum menciderai organ pada manusia.

A. Pemberian *ketorolac* pada kelompok intervensi:

Diberikan *ketorolac* IP secara 5 hari secara berturut turut.

B. Pemberian *ketorolac* kelompok kontrol:

Tidak diberikan *ketorolac* IP.

Skala adalah nominal.

3.6.2 Variabel terikat

- 1) Tingkat penyembuhan fraktur

Tingkat penyembuhan fraktur dinial berdasarkan gambaran mikroskopis kalus yang dinilai dengan menggunakan kriteria Allen yang dimodifikasi.

Tabel 2. Kriteria Penyembuhan Fraktur Allen¹⁹

Nilai	Keterangan
0	<i>non union</i>
1	<i>union</i> cartilago yang inkomplit
2	<i>union</i> cartilago yang komplit
3	<i>union</i> tulang yang inkomplit dengan fase ossifikasi awal
4	<i>union</i> tulang yang inkomplit dengan fase ossifikasi menengah
5	<i>union</i> tulang yang inkomplit dengan fase ossifikasi lanjut
6	<i>union</i> tulang yang komplit

Scala adalah ordinal

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Pakan standar hewan percobaan
- 3) Gypsum
- 4) *Ketorolac*
- 5) Bahan untuk pembuatan preparat histologi
- 6) Bahan untuk pengecatan

3.7.2 Alat

- 1) Timbangan duduk dan timbangan neraca
- 2) Kandang hewan coba

- 3) Mortar dan pestle
- 4) Sduit
- 5) Alat bedah hewan percobaan
- 6) Alat frakturasi hewan percobaan
- 6) Alat untuk pembuatan preparat histologi
- 7) Alat untuk pengecatan
- 8) Mikroskop cahaya medan terang

3.7.3 Jenis data

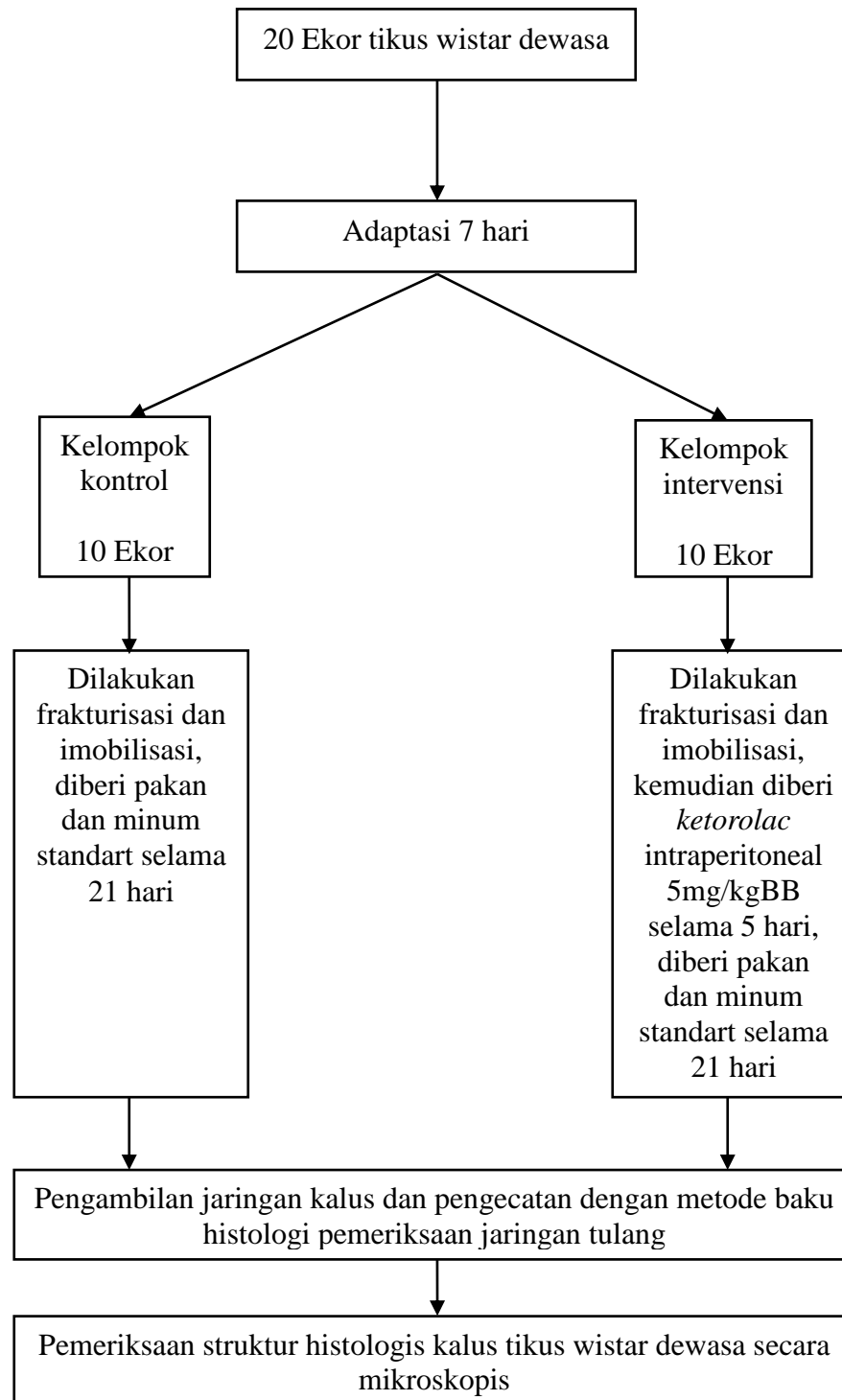
Jenis data yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang didapat langsung dari pemeriksaan mikroskopis kalus menggunakan mikroskop cahaya medan terang.

3.7.4 Cara kerja

- 1) Sampel (20 ekor tikus wistar) diadaptasi dan diberi pakan standar (dan 10 ml akuades/100 g BB/hari) selama 7 hari di laboratorium.
- 2) Semua tikus kemudian dilakukan frakturisasi tertutup pada kruris kanan. Sebelum frakturisasi, semua tikus dianestesi dengan ketamine dosis 40mg/kgBB IM, dan dilakukan pencukuran kruris kanan. Setelah fraktur, dilakukan immobilisasi dengan bidai gips.
- 4) Sampel dikelompokkan teknik randomisasi acak sederhana menjadi 2 kelompok (masing-masing kelompok berjumlah 10 ekor tikus), yaitu kelompok intervensi dan kelompok kontrol.
- 5) Kelompok intervensi akan diberikan injeksi *ketorolac* IP 5mg/kgBB dosis

- tunggal selama 5 hari, dengan pemberian pakan standart dan minum selama 21 hari.
- 6) Kelompok kontrol tidak akan diberikan injeksi *ketorolac*, diberikan pakan standart dan minum selama 21.
 - 7) Pada hari ke 22 semua tikus akan diterminasi dengan cara pemberian chloroform dosis tinggi. Tulang tibia tikus diambil melalui cara pembedahan. Difiksasi dengan formalin.
 - 8) Tulang tibia tikus dilakukan pemotongan secara melintang di tempat yang sudah dilakukan pematahan, diambil dengan ukuran dari tepi patahan sekitar 0.5 cm.
 - 9) Dilakukan perendaman dengan larutan TBD-1 *rapid decalcifier* dengan menggunakan cairan asam untuk melunakkan tulang selama 24 jam.
 - 10) Setelah lunak, tulang dicuci dengan cairan fisiologis.
 - 11) Dilakukan pemotongan dengan mikrotom dengan ketebalan sekitar 0.4 mikron sebanyak 6 potongan tiap kalus, lalu diletakkan diatas slide. Dilakukan pengecatan Hemaetoxilin dan Eosin (HE) untuk dievaluasi secara mikroskopis.
 - 12) Struktur mikroskopis kalus kemudian diamati dengan penggunaan mikroskop cahaya medan terang dengan pembesaran 100x pada 3 potongan terbaik, lalu digolongkan berdasarkan kriteria Allen. Pengamatan dilakukan oleh peneliti dengan bimbingan ahli secara blinding agar menghindari subjektivitas.

3.8 Alur penelitian



Gambar 4. Alur penelitian

3.9 Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 22.0 dan dilihat distribusi datanya normal atau tidak dengan uji *Shapiro-Wilk*, karena sampel berjumlah < 50 . Dengan variabel dependen berskala ordinal, maka akan digunakan uji non parametrik. Uji beda statistik yang akan digunakan adalah uji *non-parametric Mann Whitney test*.

- a. Jika $p < 0,05$; maka ada perbedaan yang bermakna
- b. Jika $p > 0,05$; maka tidak ada perbedaan yang bermakna

Jika didapatkan hasil yang berbeda dan bermakna, maka ada perbedaan bermakna pada tingkat penyembuhan fraktur kruris tikus wistar dewasa pada pemberian *ketorolac* IP dengan yang tidak mendapatkan *ketorolac*.

Sebaliknya jika didapatkan hasil yang tidak bermakna, maka tidak ada perbedaan yang bermakna pada tingkat penyembuhan fraktur kruris tikus wistar dewasa pada pemberian *ketorolac* IP dengan yang tidak mendapat *ketorolac*.

3.10 Etika penelitian

Ethical clearance akan dimintakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KPEK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP dr. Kariadi sebelum dilakukan penelitian ini.

