

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

3.1.1 Lingkup tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, Laboratorium Histologi Universitas Diponegoro, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Diponegoro.

3.1.2 Lingkup waktu

Bulan Mei 2016

3.1.3 Lingkup ilmu

Ilmu Kedokteran Forensik , Ilmu Patologi Anatomi , Ilmu Histologi , Ilmu Farmakologi

3.2 Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai dalam 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 3 (tiga) kelompok eksperimental dan 3 (tiga) kelompok kontrol, dan 1 (satu) kelompok kontrol negatif. Penelitian hanya dilakukan pada saat *post test*, dengan

membandingkan hasil observasi antara kelompok kontrol dengan kelompok eksperimental.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah metanol dan ranitidin.

3.3.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah tingkat kerusakan sel pankreas pada gambaran histopatologi pankreas tikus Wistar.

3.3.3 Definisi operasional variabel

Tabel 2. Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Skala	Nilai
1.	Metanol	Dosis yang akan digunakan adalah $\frac{1}{4}$ LD100 (3,5g/kgBB), $\frac{1}{2}$ LD100 (7g/kgBB), LD100 (14g/kgBB), single dose per oral yang diukur dengan menggunakan pipet ukur.	Rasio	Ditetapkan berdasarkan LD100 pada penelitian sebelumnya 14g/kgBB
2.	Ranitidin	Dosis ranitidin yang akan diberikan adalah 30 mg/kg intraperitoneal single dose 4 jam setelah pemberian metanol. Pengukuran dosis diukur dengan	Rasio	Ditetapkan berdasarkan penelitian sebelumnya.

menggunakan pipet ukur.				
3..	Jumlah nekrosis pada sel pankreas	Pengukuran ini dilakukan dengan melihat preparat histopatologi di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x. Dihitung jumlah kerusakan sel pankreas tikus wistar dalam 100 sel pankreas kemudian dihitung dalam bentuk persentase dengan derajat kerusakan pankreas yang kemudian dikelompokkan berdasarkan <i>grading</i> histopatologi kerusakan sel asini pankreas.	Numerik yang kemudian menjadi ordinal	Tergantung pengaruh variabel bebas yang kemudian dikelompokkan berdasarkan : Grade 1 : 0-2 sel/LP Grade 2: 3-5 sel/LP Grade 3: 6-8 sel/LP Grade 4: 9-11 sel/LP

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi penelitian

Populasi yang diteliti adalah tikus wistar.

3.4.2 Sampel penelitian

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

3.4.2.1 Kriteria inklusi

- a. Tikus Wistar jantan
- b. Usia 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-250 gram

- d. Dalam keadaan sehat dan tidak ada kelainan anatomi

3.4.2.2 Kriteria eksklusi

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

3.4.3 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 3 (tiga) kelompok perlakuan, 3 (tiga) kelompok kontrol positif, dan 1 (satu) kelompok kontrol negatif yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus wistar.

3.4.4 Cara pengambilan sampel

Untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan dengan *allocation random sampling*. 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 5 (lima) ekor tikus Wistar, sehingga

jumlah keseluruhan tikus Wistar yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 35 ekor.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat untuk perlakuan

- a. Kandang tikus Wistar
- b. Sonde

3.5.2 Alat untuk bedah minor

- a. Pisau skalpel
- b. Pinset bedah
- c. Gunting

3.5.3 Alat untuk pemeriksaan histopatologis

- a. Mikroskop
- b. Object glass
- c. Botol-botol

3.5.4 Bahan

- a. Tikus Wistar
- b. Ranitidin
- c. Botol-botol

3.6 Cara Pengumpulan Data

3.6.1 Jenis data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian berupa tingkat kerusakan sel pankreas tikus Wistar yang dari kelompok pelakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.6.2 Alur penelitian

Sejumlah 35 ekor tikus *Wistar* jantan akan dilakukan adaptasi selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minuman yang sama (*ad libitum*).

Pada hari ke-8, tikus *Wistar* dibagi menjadi 7 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang diberi tanda pada daerah yang berbeda yaitu kepala, punggung, perut, ekor, dan tanpa tanda. Selanjutnya masing-masing tikus ditimbang, dilakukan pengukuran suhu dan pemeriksaan fisik dada meliputi inspeksi dan auskultasi.

Ke-7 kelompok tersebut adalah :

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

Kontrol positif : (tanda warna biru)

- K1 : diberi $\frac{1}{4}$ LD100 metanol (tanda di kepala)
- K2 : diberi $\frac{1}{2}$ LD100 metanol (tanda di punggung)

- K3 : diberi LD100 metanol (tanda di perut)

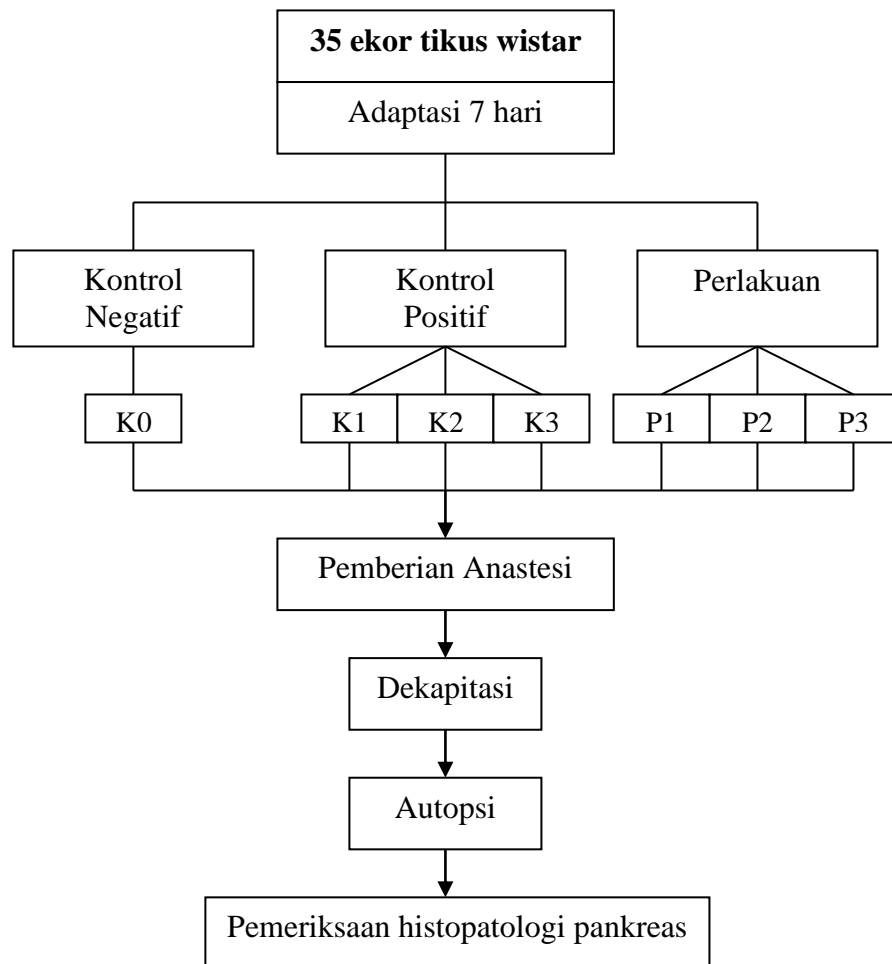
Perlakuan : (tanda warna kuning)

- P1 :diberi $\frac{1}{4}$ LD100 metanol + ranitidin (tanda di kepala)
- P2 :diberi $\frac{1}{2}$ LD100 metanol + ranitidin (tanda di punggung)
- P3 : diberi LD100 metanol + ranitidin (tanda di perut)

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 pemberian metanol selesai dilakukan , kemudian dilakukan anestesi menggunakan eter kemudian tikus didekapitasi.

Setelah tikus didekapitasi, selanjutnya dilakukan autopsi untuk pengambilan lobus kiri pankreas tikus dengan potongan longitudinal-horizontal .Organ pankreas tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik berisi larutan buffer formalin 10% kemudian dipotong dengan ketebalan 3mm dan potongannya dimasukkan ke dalam kaset jaringan.Organ pankreas yang ada dalam kaset jaringan kemudian dimasukkan ke dalam gelas-gelas mesin tissue processor untuk dilakukan dehidrasi menggunakan alkohol yang onsentrasinya berbeda-beda , masing-

masing selama 2 jam. Setelah itu melakukan proses *embedding* , parafin dimasukkan ke dalam cetakan sampai setengah , kemudian potongan jaringan dimasukkan , selanjutnya cetakan ditambah parafin hingga penuh, dan diberi label . Sediaan lalu dibekukan kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom. Selanjutnya sediaan diproses untuk pewarnaan Hematosilin Eosin (HE), setelah itu slide diamati dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x untuk menghitung prosentase sel asini pankreas yang mengalami nekrosis. Data pemeriksaan ditulis dalam formulir untuk kemudian dianalisa.



Gambar 8. Alur penelitian

3.7 Pengolahan dan analisa data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 21.00 dan diuji normalitas dengan *Saphiro Wilk*. Telah didapatkan distribusi data tidak normal dan variasi data yang tidak sama. Analisis dilanjutkan dengan uji *Kruskall Wallis* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ sehingga analisis akan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.²⁵

3.8 Etika penelitian

Etika penelitian diperoleh dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan No.518/EC/FK-RSDK/2016.

3.9 Jadwal penelitian

Program	Bulan																			
	1				2				3				4				5			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1. Persiapan																				
a. Proposal penelitian	■																			
b. Ethical clearance		■																		
c. Persiapan material			■																	
d. Diskusi				■																
2. Operasional																				
a. Skrining data				■																
b. Pengumpulan sampel					■															
c. Konsultasi						■														
3. Eksperimen																				
a. Intervensi						■	■													
b. Feedback							■	■												
c. Konsultasi								■												
4. Seminar																				
a. Progres report									■	■										
b. Feedback										■										
5. Laporan akhir																				
a. Konsultasi											■									
b. Analisis data												■	■							
c. Presentasi														■						
d. Revisi															■	■				
e. Publikasi																	■			

