

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini mencakup Ilmu dibidang Obstetri dan Ginekologi dan Histologi

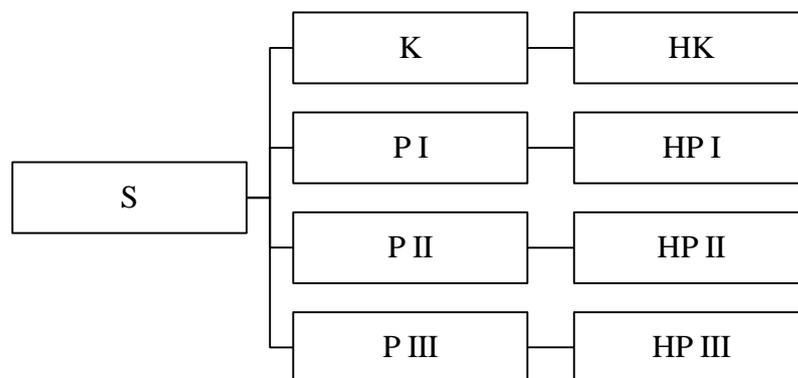
3.2 Waktu dan Lokasi Penelitian

Waktu dan lokasi penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a) Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba, dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- b) Pembuatan preparat dan pemeriksaan histopatologi uterus hewan coba dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr.Kariadi dan Bagian Ilmu Patologi Anatomi RSUP Dr.Kariadi
- c) Penelitian ini dilaksanakan mulai pada bulan Maret sampai Mei 2016.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan desain *Post test only control group*. Dengan skema rancangan penelitian sebagai berikut :



Gambar 10. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

K : Kelompok kontrol

P I : Kelompok perlakuan I (Pemberian ekstrak kunyit secara oral dengan dosis 1.365 mg/kgBB/hari)

P II : Kelompok perlakuan II (Pemberian ekstrak kunyit asam secara oral dengan dosis 4.095 mg/kgBB/hari)

P III : Kelompok perlakuan III (Pemberian ekstrak kunyit asam secara oral dengan dosis 12.285 mg/kgBB/hari)

HK : Hasil kelompok kontrol

HP I : Hasil kelompok perlakuan I

HP II : Hasil kelompok perlakuan II

HP III : Hasil kelompok perlakuan III

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

Mencit dipilih sebagai hewan coba pada penelitian ini, dengan alasan sebagai berikut :

- a) Gen mencit dan manusia hampir sama
- b) Jumlah bayi yang dilahirkan banyak
- c) Pemeliharaan mudah dan murah
- d) Memiliki masa estrus yang singkat yaitu 4-5 hari
- e) Awal kebuntingan mudah dideteksi dengan melihat ada tidaknya sumbat vagina (*plug-copulatory*).

3.4.1 Populasi Target

Populasi target pada penelitian ini adalah mencit Balb/c betina.

3.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit Balb/c betina dalam periode gestasi dengan berat badan antara 20 sampai 35 gram dalam keadaan sehat tanpa kecacatan morfologi.

3.4.3 Sampel Penelitian

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

Sampel penelitian yang akan digunakan pada penelitian ini adalah mencit Balb/c dengan kriteria inklusi sebagai berikut :

- a) Mencit Balb/c dengan jenis kelamin betina
- b) Mencit Balb/c dalam periode gestasi
- c) Mencit Balb/c dengan berat badan antara 20 sampai 35 gram
- d) Mencit Balb/c sehat bergerak aktif
- e) Mencit tanpa kecacatan morfologi

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi sampel penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a) Mencit dengan kecacatan morfologi selama perlakuan
- b) Mati selama adaptasi maupun perlakuan

3.4.3.3 Cara pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan metode *simple randomized sampling* . Dimana sampel akan dipilih secara acak (random).

3.4.3.4 Besar Sampel

Mengacu pada pedoman WHO mengenai penggunaan hewan coba untuk sebuah penelitian eksperimental, perkelompok sampel menggunakan minimal 5 ekor hewan coba. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan membutuhkan 20 ekor mencit Balb/c dengan 1 mencit Balb/c sebagai cadangan masing-masing kelompok. Sehingga total mencit Balb/c yang disiapkan untuk penelitian adalah 24 ekor mencit Balb/c.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral dengan dosis bertingkat.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c dalam periode gestasi.

3.6 Defenisi operasional

Tabel 2. Defenisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Ekstrak kunyit asam (<i>Curcuma domestica</i> dan <i>Tamarindus indica</i>) dengan dosis bertingkat	Ekstrak kombinasi dari rimpang kunyit (<i>Curcuma domestica</i>) dan daging buah asam jawa (<i>Tamarindus indica</i>) dengan dosis bertingkat yang diberikan secara oral selama 10 hari, yakni hari ke-7 sampai hari ke-17 kebuntingan. Pada kelompok kontrol diberikan aquades, sedangkan pada kelompok perlakuan (KP) diberi ekstrak kunyit asam dengan dosis sebagai berikut :	Mg	Rasio
	<ol style="list-style-type: none"> 1) KP I : dosis 1.365 mg/kgBB/hari 2) KP II : dosis 4.095 mg/kgBB/hari 3) KP III : dosis 12.285 mg/kgBB/hari <p>Dosis tersebut, diperoleh dari hasil konversi</p>		

dosis manusia ke mencit yang selanjutnya diberikan secara oral.

Diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c	Diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c dengan menggunakan pengecatan Hematosilin Eosin (HE). Preparat diamati dengan mikroskop cahaya perbesaran 400x.	Mm	Rasio
	Diameter arteri spiralis secara histologis akan diukur menggunakan micrometer okuler yang terdapat di lensa okuler mikroskop kemudian hasil pengukurannya akan didapatkan dari rerata lima lapangan pandang dan kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol.		

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a) Mencit Balb/c betina dalam periode gestasi
- b) Ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*)
- c) Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan:
 - a. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%
 - b. Aquades
 - c. Hematoksilin eosin
 - d. Larutan buffer formalin 10%

- e. Larutan xylol
- f. Parafin
- g. Albumin
- h. Asam asetat

3.7.2 Alat

3.7.2.1 Alat untuk memberikan perlakuan

Alat yang digunakan untuk memberikan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) adalah sebagai berikut :

- a) Kandang mencit Balb/c
- b) Sonde
- c) Spuit 1 cc (tuberculin)
- d) Neraca O Hauss

3.7.2.2 Alat untuk otopsi

Alat yang digunakan untuk mengotopsi adalah sebagai berikut :

- a) Tabung kaca untuk menyimpan organ
- b) Rak tabung
- c) Gunting operasi lurus tajam/tumpul
- d) Scalpel
- e) Pinset chirurgis

3.7.2.3 Alat untuk pemeriksaan histopatologi

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan histopatologi adalah sebagai berikut :

- a) Kaca objek dan kaca preparat

- b) Kamera digital
- c) Mikroskop cahaya

3.7.3 Jenis data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil penelitian diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c betina dalam periode gestasi dari kelompok paparan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral dengan dosis bertingkat dan kelompok kontrol.

3.7.4 Cara kerja

Cara kerja pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

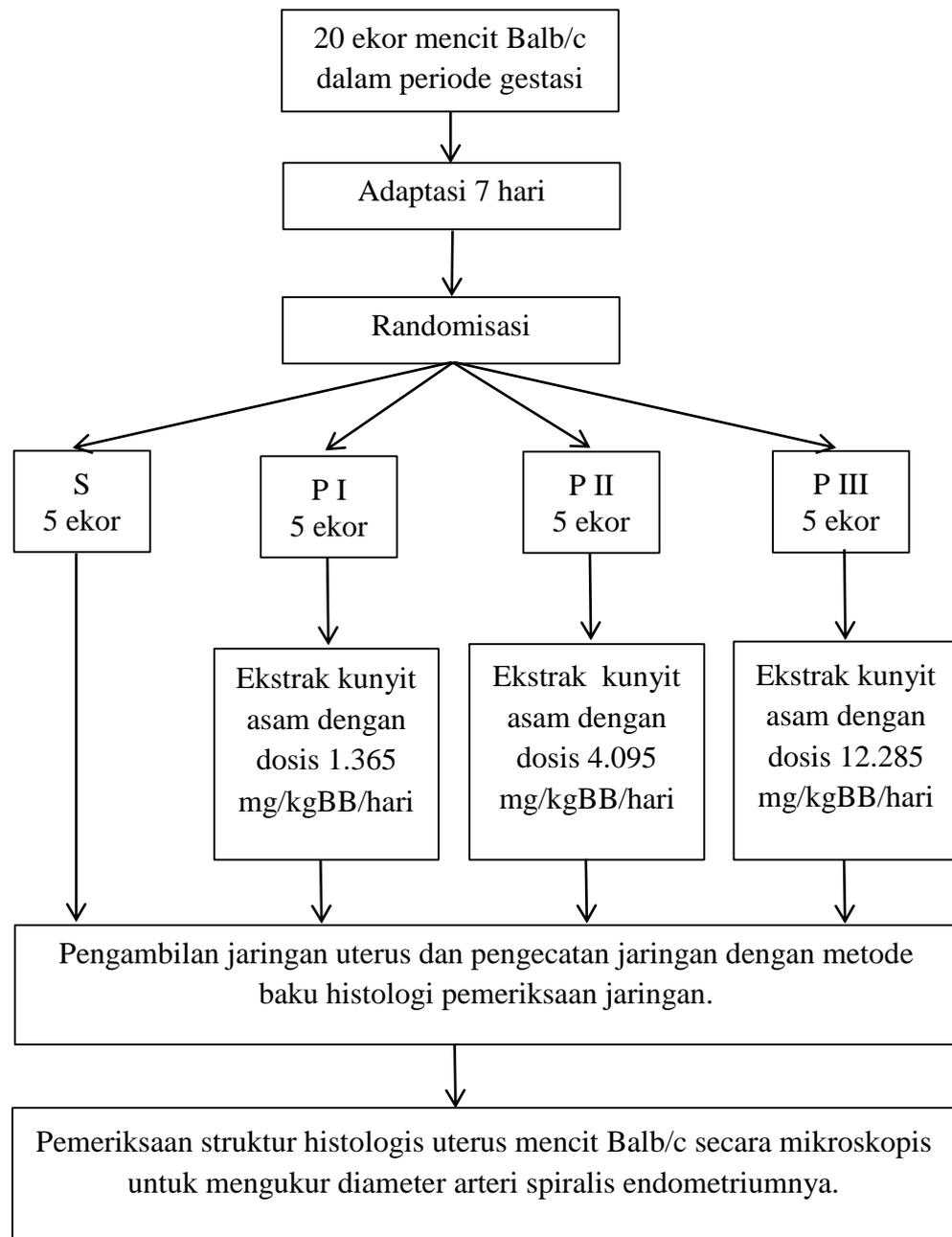
- a) Memilih 20 ekor mencit Balb/c betina yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sampel/subjek penelitian. Kemudian membagi mencit Balb/c yang telah dipilih menjadi 4 kelompok. Dimana masing-masing kelompok terdiri dari 5 mencit Balb/c yang dipilih secara acak (random).
- b) Melakukan proses adaptasi terhadap mencit Balb/c betina selama 7 hari di laboratorium, diletakkan dalam kandang dan diberi pakan standar serta minum *ad libitium*.
- c) Menimbang berat badan masing-masing mencit.
- d) Pada hari ke-8 sampai hari ke-17 periode gestasi, kelompok I diberikan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) dengan dosis 1.365 mg/kgBB/hari, kelompok II dengan dosis 4.095 mg/kgBB/hari, kelompok III dengan dosis 12.285 mg/kgBB/hari. Dimana masing-masing dosis dicampur dengan aquades sampai 1 ml dan

kemudian ekstraknya diberikan secara oral dengan menggunakan sonde.

Semua kelompok diberikan pakan standar dan minum *ad libitum*.

- e) Pada hari ke-18 periode gestasi masing-masing mencit ditimbang kembali berat badannya.
- f) Mencit Balb/c diterminasi dengan cara dislokasi leher.
- g) Mengambil organ uterus sebagai sampel. Sampel kemudian diukur dan ditimbang, diamati keadaan makroskopisnya. Kemudian sampel diletakkan pada tabung kaca yang berisi cairan pengawet dengan perbandingan 1 bagian uterus dan 9 bagian buffer formalin 10%.
- h) Tabung kaca yang berisi sampel uterus mencit Balb/c diletakkan pada rak tabung, kemudian diserahkan ke analis untuk pengolahannya mengikuti metode baku histologi. Setiap sampel uterus dibuat preparat.
- i) Preparat tersebut dilihat menggunakan mikroskop. Tiap preparat dibaca dalam lima lapangan pandang yaitu dari keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 400x.
- j) Penilaian dilakukan dengan cara mengukur diameter arteri spiralis endometrium kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol preparat pada lima lapangan pandang.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 11. Bagan Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh akan diolah dengan menggunakan program computer *SPSS for windows*. Data diameter arteri spiralis endometrium uterus mencit Balb/c periode gestasi uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* ($p > 0,05$). Data yang normal dan varian data sama dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Jika terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$), dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc*. Data yang tidak normal dan atau varian data tidak sama dilakukan uji *Kruskal-Wallis*. Jika terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc*. Uji *Post Hoc* memiliki ketentuan :

1. $p < 0,05$ maka ada perbedaan yang bermakna
2. $p \geq 0,05$ maka tidak ada perbedaan yang bermakna

Jika didapatkan hasil yang bermakna, maka data akan diinterpretasikan dengan: terdapat perbedaan yang bermakna diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c yang diberi ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral dalam periode gestasi dengan dosis bertingkat

Jika didapatkan hasil yang tidak bermakna, maka diinterpretasikan dengan : tidak ada perbedaan yang bermakna diameter arteri spiralis endometrium mencit Balb/c yang diberi ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral dalam periode gestasi dengan dosis bertingkat.

3.10 Etika Penelitian

Pengajuan *Ethical Clearence* kepada Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro telah dilakukan dan disetujui sebelum penelitian ini berlangsung. Mencit Balb/c betina dipelihara dan diberi perlakuan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Hewan diberikan makan dan minum *ad libitium*. Intervensi dilakukan dengan memberikan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral menggunakan sonde. Hewan diterminasi dengan cara dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode buku histologi pemeriksaan jaringan.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Waktu (Bulan)						
		12	1	2	3	4	5	6
1.	Penyusunan proposal							
2.	Seminar proposal							
3.	Revisi proposal							
4.	Pemilihan sampel/subjek penelitian, pengumpulan data, dan analisis data							
5.	Penyusunan laporan hasil							
6.	Seminar hasil							