

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **1.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini mencakup ilmu dalam bidang Obstetri dan Ginekologi serta Farmakologi.

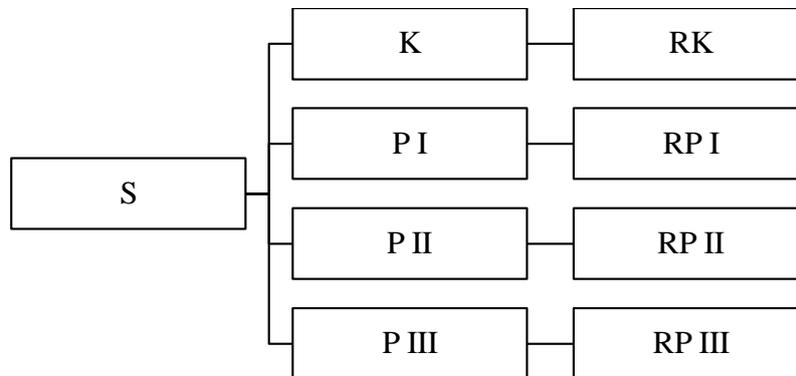
#### **1.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

- a. Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP).
- b. Pengamatan dan pengukuran morfometri berupa berat dan panjang badan serta kelainan morfologi dan jumlah fetus hewan coba yang hidup, mati, dan resorpsi dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP).
- c. Penelitian ini dilaksanakan mulai dari bulan Maret hingga Mei 2016.

#### **1.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian ini menggunakan *eksperimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa mencit betina Balb/c dalam periode gestasi.

Skema rancangan penelitian sebagai berikut:



**Gambar 6.** Skema rancangan penelitian

Keterangan:

S : Sampel keseluruhan

K : Kelompok kontrol

P I : Kelompok perlakuan I (Pemberian ekstrak kunyit asam 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)

RK : Gambaran morfometri fetus kelompok kontrol

RP I : Gambaran morfometri fetus kelompok perlakuan I

RP II : Gambaran morfometri fetus kelompok perlakuan II

RP III : Gambaran morfometri fetus kelompok perlakuan III

## **1.4 Populasi dan Sampel**

Mencit dijadikan sebagai hewan coba pada penelitian ini karena:

- Gen antara mencit dan manusia hampir sama
- Memiliki waktu kebuntingan yang singkat yaitu 18-19 hari
- Jumlah janin yang dilahirkan banyak
- Pemeliharaannya mudah dan murah
- Memiliki masa estrus yang singkat yaitu 4-5 hari
- Mudah mendeteksi tanda awal kebuntingan dengan adanya sumbat vagina.

### **1.4.1 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit Balb/c dalam periode gestasi, dengan usia mencit 2-3 bulan, berat badan 20-35 gram, tidak terdapat kelainan morfologis, dan dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

### **1.4.2 Sampel**

#### **1.4.2.1 Kriteria Inklusi**

- a. Mencit Balb/c betina
- b. Mencit dalam periode gestasi
- c. Berat badan 20-35 gram
- d. Usia 2-3 bulan
- e. Mencit sehat dan aktif
- f. Tidak terdapat kelainan morfologis

#### **1.4.2.2 Kriteria Eksklusi**

- a. Terdapat kecacatan morfologis selama penelitian
- b. Mencit mati selama adaptasi dan perlakuan

#### **1.4.3 Cara Pengambilan Sampel**

Cara pengambilan sampel dilakukan secara acak (*random sampling*) untuk menghindari terjadinya bias seperti variasi umur dan berat mencit. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sudah memenuhi kriteria baik secara inklusi maupun kriteria secara eksklusi.

#### **1.4.4 Besar Sampel**

Besar sampel yang digunakan mengacu pada WHO mengenai penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental. Hewan coba yang akan digunakan tiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor mencit, untuk menghindari kriteria *drop out* sampel maka ditambahkan 10% sehingga jumlah sampel menjadi 6 ekor tiap kelompok. Pada percobaan ini akan dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan dosis yang berbeda, sehingga hewan coba yang diperlukan dalam percobaan ini sebanyak 24 ekor mencit.

### **1.5 Variabel penelitian**

#### **1.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) dalam periode gestasi.

### 1.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran morfometri fetus mencit Balb/c.

### 1.6 Definisi Operasional

**Tabel 2.** Definisi operasional variabel

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Ekstrak kunyit asam ( <i>Curcuma domestica</i> dan <i>Tamarindus indica</i> ) dengan dosis bertingkat	Ekstrak kombinasi rimpang kunyit ( <i>Curcuma domestica</i> ) dan buah asam jawa ( <i>Tamarindus indica</i> ) dengan dosis bertingkat yang diberikan per oral selama 10 hari, yakni pada hari ke-8 sampai ke-17 kebuntingan (masa organogenesis). Pada kelompok kontrol diberi aquades, sedangkan kelompok perlakuan (P) diberi ekstrak kunyit asam dengan dosis, sebagai berikut : <ul style="list-style-type: none"> <li>- P I = 1.365 mg/kgBB/hari</li> <li>- P II = 4.095 mg/kgBB/hari</li> <li>- P III = 12.285 mg/kgBB/hari</li> </ul>	mg	Rasio
Berat badan fetus	Pengukuran berat badan fetus mencit Balb/c menggunakan alat bantu timbangan Neraca O Hauss yang dilakukan pada hari ke-18. Pengukuran berat badan fetus mencit Balb/c dilakukan setelah fetus dibersihkan dari cairan amnion yang membungkusnya.	gram	Rasio

Panjang fetus	badan	Pengukuran panjang badan fetus mencit Balb/c menggunakan kertas milimeter blok. Pengukuran panjang badan fetus mencit Balb/c dilakukan setelah fetus dibersihkan dari cairan amnion yang membungkusnya.	mm	Rasio
Jumlah dengan morfologi hemoragi	fetus dengan kelainan berupa	Jumlah fetus dengan hemoragi atau perdarahan yang tertimbun di dalam ruangan tubuh yang diamati menggunakan alat bantu lup. Pengamatan kelainan morfologi dilakukan setelah fetus mencit dibersihkan dengan aquades.	Ekor	Rasio
Jumlah hidup	fetus yang	Penghitungan jumlah fetus hidup dilakukan dengan melihat tanda tanda lahir hidup pada mencit seperti denyut jantung atau gerakan otot.	Ekor	Rasio
Jumlah mati	fetus yang	Penghitungan jumlah fetus mati dilakukan dengan melihat tanda tanda kematian pada fetus mencit berupa tidak adanya denyut jantung dan tidak bergerak.	Ekor	Rasio
Jumlah resorpsi		Penghitungan jumlah resorpsi dilakukan dengan melihat tanda resorpsi yaitu ditandai oleh adanya gumpalan merah pada uterus yang tidak memberi respon bila disentuh .	Ekor	Rasio

## **1.7 Cara pengumpulan Data**

### **1.7.1 Bahan**

- a. Bahan untuk pembuatan ekstrak kunyit asam: rimpang kunyit, daging buah asam jawa, dan aquades.
- b. Bahan untuk perlakuan: hewan coba yang digunakan adalah mencit betina Balb/c dalam periode gestasi, *pellet Par G* sebagai pakan sehari-hari, ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica-Tamarindus indica*), dan aquades.

### **1.7.2 Alat**

- a. Alat untuk perlakuan: kandang untuk pemeliharaan mencit beserta tempat minum, timbangan Neraca O Haus, spuit 1 cc, dan sonde.
- b. Alat untuk pengamatan preperat : timbangan Neraca O Haus, kertas millimeter blok, lampu, dan lup.
- c. Alat untuk dokumentasi: kamera digital.

### **1.7.3 Jenis Data**

Data yang dikumpulkan merupakan data primer hasil penelitian gambaran morfometri dan jumlah fetus dari mencit betina Balb/c dalam periode gestasi pada kelompok paparan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica-Tamarindus indica*) yang diberikan per oral dengan dosis bertingkat dan kelompok kontrol.

#### 1.7.4 Cara Kerja

##### a. Persiapan Hewan Coba

1. Mencit betina Balb/c dalam periode gestasi yang berusia 2-3 bulan dengan berat 20-35 gram yang dipelihara dalam kandang, masing-masing kandang perlakuan berisi 5 ekor mencit.
2. Mencit betina Balb/c sebelum dipergunakan untuk penelitian diadaptasi dahulu selama 7 hari dan diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

##### b. Perlakuan Hewan Coba

Hewan uji dibagi dalam 4 kelompok, 1 kelompok merupakan kelompok kontrol dan 3 kelompok merupakan kelompok perlakuan, masing-masing ada 5 mencit. Semua mencit diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Pada kelompok kontrol diberi aquades, sedangkan kelompok perlakuan diberi larutan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica-Tamarindus indica*). Dosis per cekokan masing-masing kelompok perlakuan sebagai berikut:

- a. Perlakuan I : dosis ekstrak kunyit asam 1.365 mg/kgBB/hari.
- b. Perlakuan II : dosis ekstrak kunyit asam 4.095 mg/kgBB/hari.
- c. Perlakuan III : dosis ekstrak kunyit asam 12.285 mg/kgBB/hari.

##### c. Pemberian Ekstrak Kunyit Asam

Ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica-Tamarindus indica*) diberi secara oral menggunakan sonde pada hari ke-8 sampai hari ke-

17 kebuntingan (masa organogenesis), kemudian pada hari ke-18 mencit dibedah.

d. Pembedahan dan Pengamatan

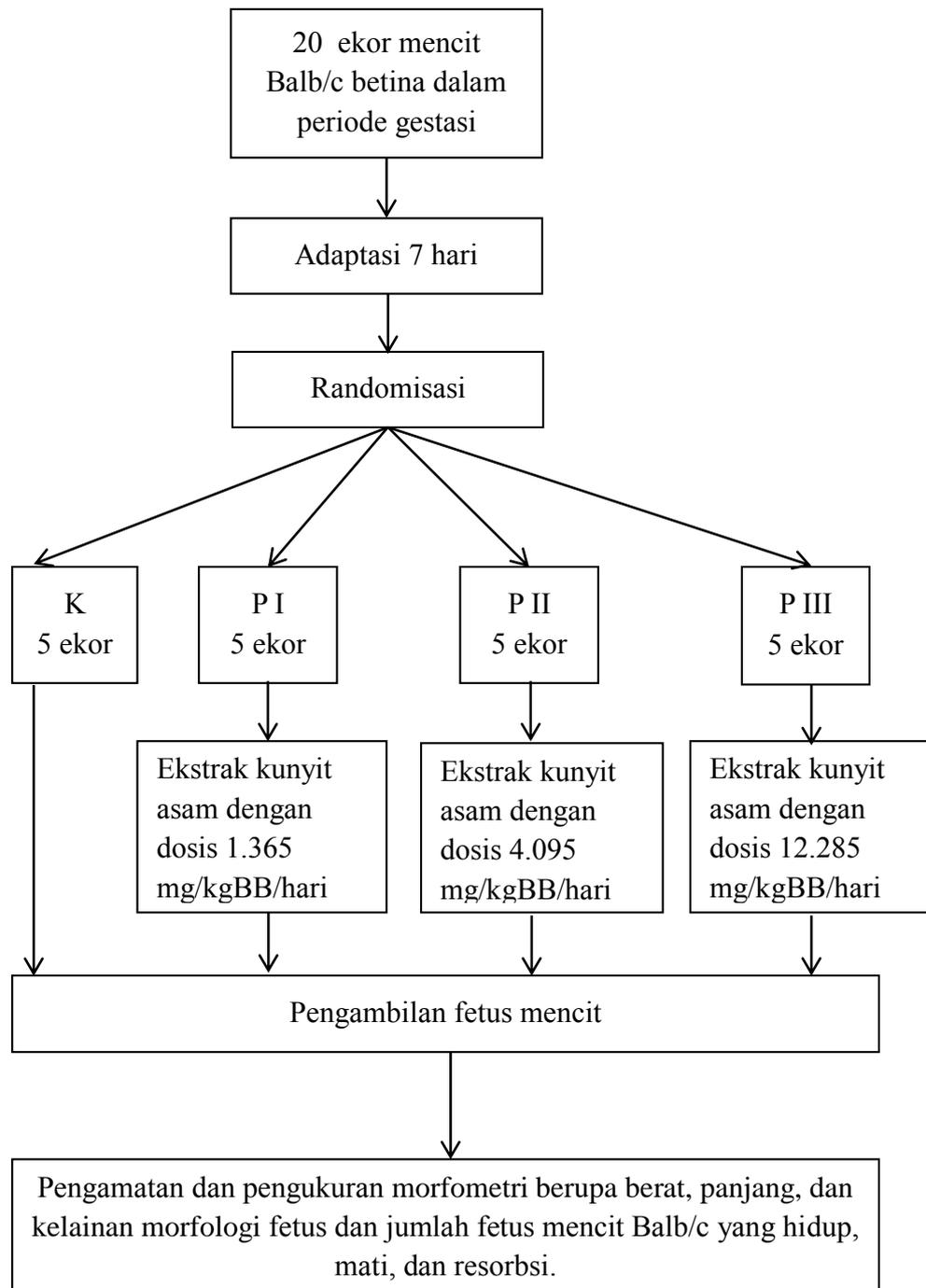
Pada hari ke-18 kebuntingan, hewan coba dianastesi dengan *ether* dan kemudian diterminasi dengan cara dislokasi leher untuk diamati fetusnya. Pengamatan gambaran morfometri, berupa berat badan, panjang badan, dan kelainan morfologi, serta menghitung jumlah fetus mencit yang hidup, mati, dan resorpsi. Untuk pengamatan dan pengukuran meliputi :

1. Mengukur berat badan fetus mencit Balb/c menggunakan alat bantu timbangan Neraca O Haus.
2. Mengukur panjang badan fetus mencit Balb/c menggunakan kertas millimeter blok.
3. Mengamati dan menghitung jumlah fetus dengan kelainan morfologi fetus mencit Balb/c yang mengalami hemoragi.
4. Menghitung jumlah fetus mencit Balb/c yang hidup.
5. Menghitung jumlah fetus Balb/c yang mati.
6. Menghitung jumlah fetus mencit Balb/c yang resorpsi.

e. Pemotretan Fetus

Gambaran morfometri fetus mencit Balb/c diamati, kemudian dilakukan pemotretan dengan menggunakan kamera foto digital.

### 1.8 Alur Penelitian



**Gambar 7.** Bagan alur penelitian

## 1.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS for windows*. Data pengamatan gambaran morfometri berupa berat dan panjang serta kelainan morfologi fetus, dan jumlah fetus mencit Balb/c yang hidup, mati, dan resorpsi dilihat distribusi datanya normal atau tidak (uji normalitas) menggunakan uji *Shapiro-Wilk* ( $p > 0,05$ ). Bila distribusi data normal, varians datanya sama, dilanjutkan dengan uji beda menggunakan statistik parametrik *One Way Anova*, kemudian jika terdapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc*. Bila distribusi datanya tidak normal atau varians data tidak sama, maka ditransformasi. Jika setelah ditransformasikan tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji beda menggunakan statistik non parametrik *Kruskall-Wallis*, jika didapat perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc* (*Mann Whitney Test*).<sup>30</sup>

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

Jika didapatkan hasil yang bermakna, maka diinterpretasikan dengan terdapat perbedaan yang bermakna pada gambaran morfometri dan jumlah fetus mencit Balb/c dengan pemberian per oral ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) dengan dosis bertingkat.

Jika didapatkan hasil yang tidak bermakna, maka diinterpretasikan dengan tidak terdapat perbedaan yang bermakna terhadap gambaran morfometri dan

jumlah fetus mencit Balb/c pada pemberian per oral ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) dengan dosis bertingkat.

### **1.10 Etika Penelitian**

*Ethical Clearance* akan diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro sebelum penelitian berlangsung. Mencit betina Balb/c dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro (FK UNDIP). Hewan diberi makan dan minum ad libitum. Intervensi dilakukan dengan memberikan ekstrak kunyit asam (*Curcuma domestica* dan *Tamarindus indica*) secara oral menggunakan sonde. Hewan diterminasi dengan cara dislokasi leher. Pengamatan dan pengukuran morfometri berupa berat dan panjang badan serta bentuk kelainan morfologi fetus dan jumlah fetus mencit Balb/c yang hidup, mati, dan resorpsi dilakukan secara subjektif berdasarkan mata pengamat. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian akan ditanggung oleh peneliti.

