

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah ilmu Histologi, Patologi Anatomi, dan Farmakologi.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

3.2.1 Tempat penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di beberapa tempat:

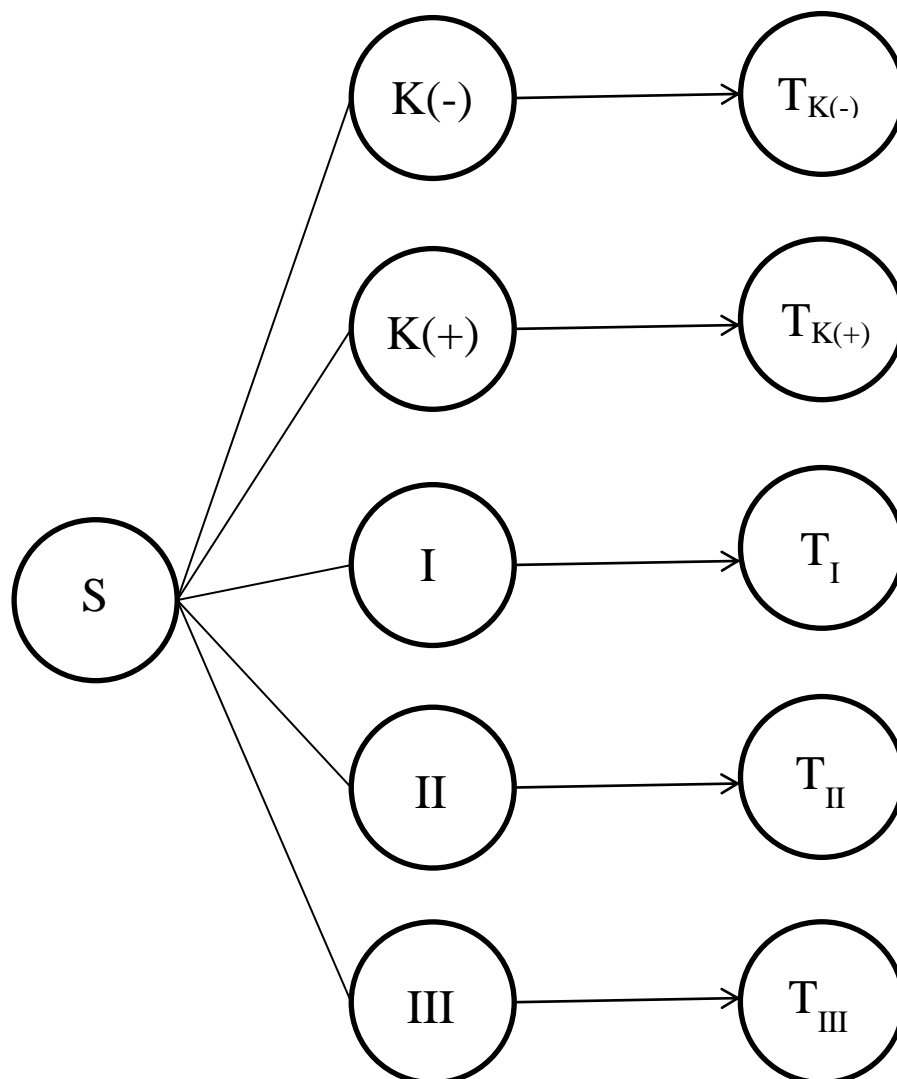
- 1) Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk perlakuan.
- 2) Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan preparat histologi dan interpretasi hasil mikroskopis sampel jaringan ginjal.

3.2.2 Waktu penelitian

Penelitian, pengumpulan, dan analisa data dilakukan pada bulan April-Oktober 2018.

3.3 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *True Experimental* dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa mencit Balb/c jantan sebagai objek penelitian.



Gambar 10. Skema rancangan penelitian

Keterangan:

S = Kelompok Sampel

K(-) = Kelompok Kontrol Negatif

K(+) = Kelompok Kontrol Positif (Rifampisin 7 mg/20grBB/hari dalam 0,3 ml aquadest)

- I = Kelompok Perlakuan I (Rifampisin 7 mg / 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 2mg / 20grBB / hari dalam CMC 0.5%)
- II = Kelompok Perlakuan I (Rifampisin 7 mg / 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 4mg / 20grBB / hari dalam CMC 0.5%)
- III = Kelompok Perlakuan I (Rifampisin 7 mg / 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 8mg / 20grBB / hari dalam CMC 0.5%)
- $T_{K(-)}$ = Tes Kelompok Kontrol Negatif
- $T_{K(+)}$ = Tes Kelompok Kontrol Positif
- T_I = Tes Kelompok Perlakuan I
- T_{II} = Tes Kelompok Perlakuan II
- T_{III} = Tes Kelompok Perlakuan III

3.4 Populasi

3.4.1 Populasi target

Populasi target penelitian ini adalah mencit Balb/c jantan.

3.4.2 Populasi terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah mencit Balb/c jantan yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba FK UNDIP.

3.4.3 Sampel

3.4.3.1 Kriteria inklusi

- a) Mencit strain Balb/c
- b) Jantan
- c) Berat badan 20-25 gram
- d) Usia 2-3 bulan
- e) Mencit dalam keadaan sehat dan lincah

3.4.3.2 Kriteria eksklusi

- a) Mati pada saat penelitian berlangsung.
- b) Perilaku berubah (lemah dan tidak aktif bergerak).

3.4.4 Cara pengambilan sampel

Sampling pada penelitian ini dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*) untuk menghindari bias karena variasi faktor umur dan berat badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel yang diambil dari mencit Balb/c sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Semua diambil secara acak dari kelompok mencit Balb/c yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

3.4.5 Besar sampel

Sampel penelitian dipilih secara acak berjumlah 25 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok. Banyaknya jumlah sampel ditentukan dengan menggunakan rumus Frederer.

Besar sampel yang dibutuhkan untuk tiap kelompok:

$$(n-1) (5-1) \geq 15$$

$$(n-1) 4 \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 = 5$$

Jadi sampel yang digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 5 ekor. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi kedalam 5 kelompok.

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak temulawak dosis bertingkat.

3.5.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c.

3.5.3 Variabel perantara

Variabel perantara dalam penelitian ini adalah rifampisin.

3.6 Definisi operasional penelitian

Tabel 2. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala Pengukuran
1	Ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) dosis bertingkat dan rifampisin	Ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) dengan dosis bertingkat yang diberikan pada kelompok perlakuan I dosis 2 mg/20grBB/hari, perlakuan II dosis 4mg/20grBB/hari, dan perlakuan III dosis 8mg/20grBB/hari dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 14 hari. I, II, dan III diberikan 5 jam setelah diberikan rifampisin 7 mg/20grBB/hari dengan sonde sebanyak satu kali sehari.	mg/20grBB /hari	Nominal
2	Gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c	Gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c dapat dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dalam 5 lapangan pandang, yaitu empat sudut dan satu tengah.	-	Ordinal

Perubahan organ yang terjadi dibuat skoring berdasarkan tingkat kerusakan organ menurut Poernomo (1987). Skoring untuk ginjal:

Tabel 3. Kriteria pembacaan derajat histopatologi ginjal

Tingkat Kerusakan Organ	Skoring
Tidak ada kerusakan	0
Ada degenerasi hidropik	1
Ada perdarahan	2
Ada peradangan	3
Adanya nekrosis sel	4

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Alat

- 1) Kandang hewan coba
- 2) Timbangan duduk dan timbangan neraca
- 3) Sonde lambung
- 4) Alat bedah hewan coba: scalpel, gunting, jarum, dan meja lilin.
- 5) Alat pembuatan prepaat histologi: mikrotom, oven, cetakan paraffin
- 6) Alat lihat histopatologik ginjal: deck glass, object glass, mikroskop cahaya
- 7) Gelas ukur dan pengaduk
- 8) Pemanas dan pemotong
- 9) Spuit 1 cc

3.7.2 Bahan

- 1) Mencit Balb/c jantan
- 2) Makanan dan minuman standar hewan coba
- 3) Bahan pengecatan HE:
 - a. Larutan buffer formalin 10%
 - b. Paraffin
 - c. Albumin
 - d. Larutan xyol
 - e. Alkohol bertingkat: 70%, 80%, 90%, 96%.
- 4) *Aquadest*
- 5) Kapsul ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)
- 6) Rifampisin

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini merupakan data primer. Data diperoleh langsung dari pemeriksaan mikroskopis terhadap organ ginjal mencit Balb/c jantan.

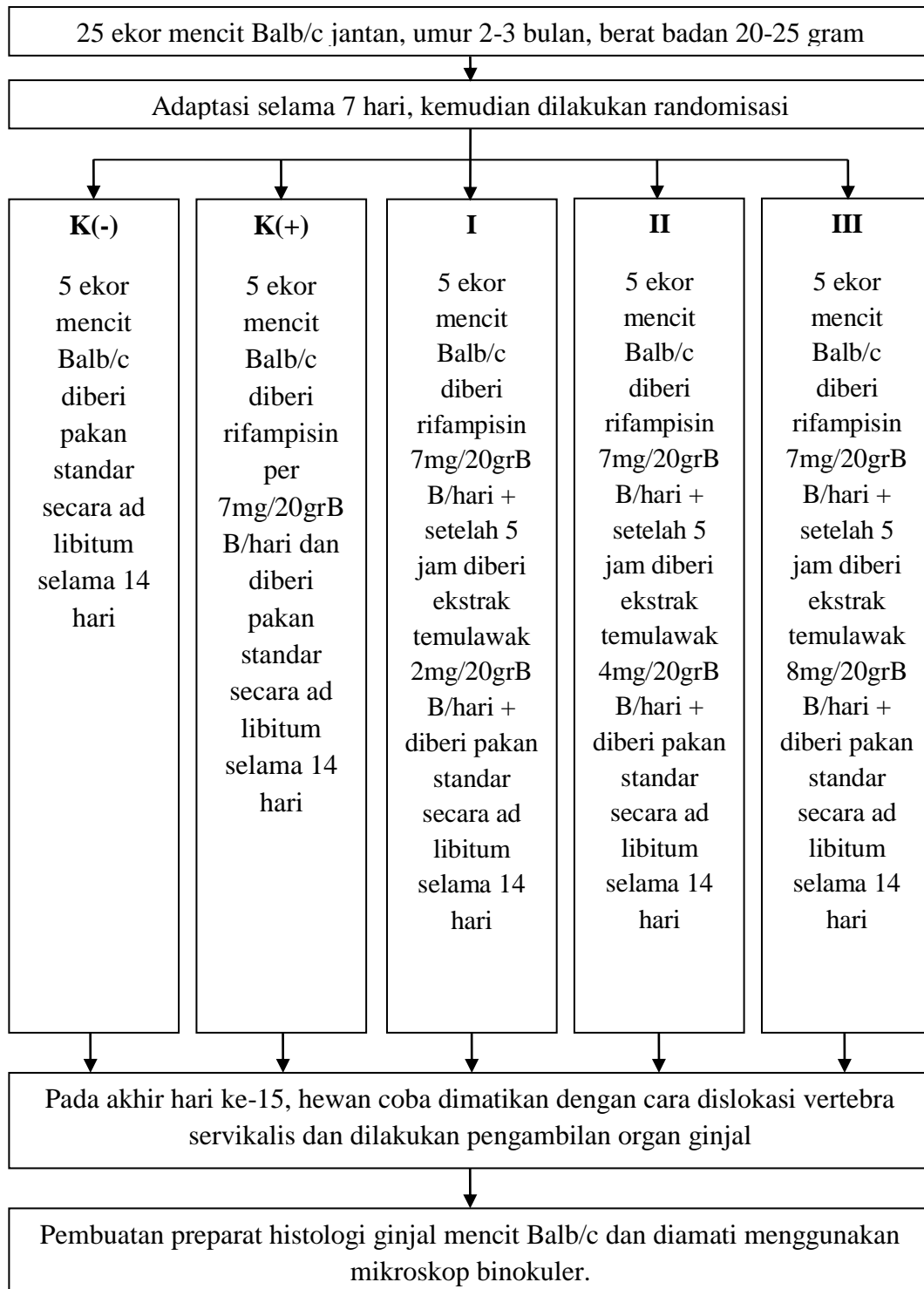
3.7.4 Cara Kerja

Cara kerja dalam penelitian ini meliputi langkah-langkah sebagai berikut:

- 1) Melakukan aklimatisasi hewan sampel di laboratorium selama 1 minggu.
- 2) Memilih sampel dengan metode *simple random sampling*, 25 ekor mencit Balb/c jantan dibagi dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok mencit Balb/c jantan dikandangkan secara individual.
- 3) Mempersiapkan rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/hari dan kapsul (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 2 mg/20grBB/hari, 4 mg/20grBB/hari, dan 8 mg/20grBB/hari
- 4) Memberi perlakuan selama 14 hari pada tiap kelompok, yaitu:
 - a. Kelompok K(-), berupa pemberian pakan standar selama 14 hari berturut-turut.
 - b. Kelompok K(+), berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - c. Kelompok I, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/hari dan setelah 5 jam diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 2 mg/20grBB/hari selama 14 hari berturut-turut.

- d. Kelompok II, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/hari dan setelah 5 jam diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 4 mg/20grBB/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - e. Kelompok III, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/hari dan setelah 5 jam diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 8 mg/20grBB/hari selama 14 hari berturut-turut.
- 5) Melakukan terminasi semua hewan coba pada hari ke-15 penelitian dengan melakukan dislokasi vertebra servikalis, kemudian membedah dan mengambil organ ginjal. Organ ginjal hewan percobaan diiris memanjang hingga terbelah dua, kemudian difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10%. Setelah itu dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dan diberi pengecatan HE.
- 6) Mengamati struktur mikroskopis ginjal dengan mikroskop.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 11. Alur Penelitian

3.9 Analisis data

Data yang diperoleh dari penelitian diolah dengan program computer SPSS. Uji normalitas dilakukan pertama kali untuk mengetahui distribusi data. Uji normalitas yang digunakan adalah Uji *Saphiro-Wilk* karena sampel < 50 . Hasil uji normalitas adalah data tidak terdistribusi normal., sehingga dilanjutkan dengan uji beda menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskall-Wallis*. Hasil uji beda *Kruskall-Wallis* adalah $p \leq 0,05$, yang artinya terdapat perbedaan signifikan. Uji beda dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney untuk mengetahui antar kelompok mana yang terdapat perbedaan secara bermakna.

3.10 Etika penelitian

Penelitian ini dilaksanakan atas izin dari bagian Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP dr. Kariadi Semarang dengan No. 43/EC/H/FK-RSDK/V/2018.