

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 yaitu :

- 1) Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- 2) Laboratorium Histopatologi Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan preparat histopatologi dan interpretasi hasil mikroskopis sampel jaringan gaster

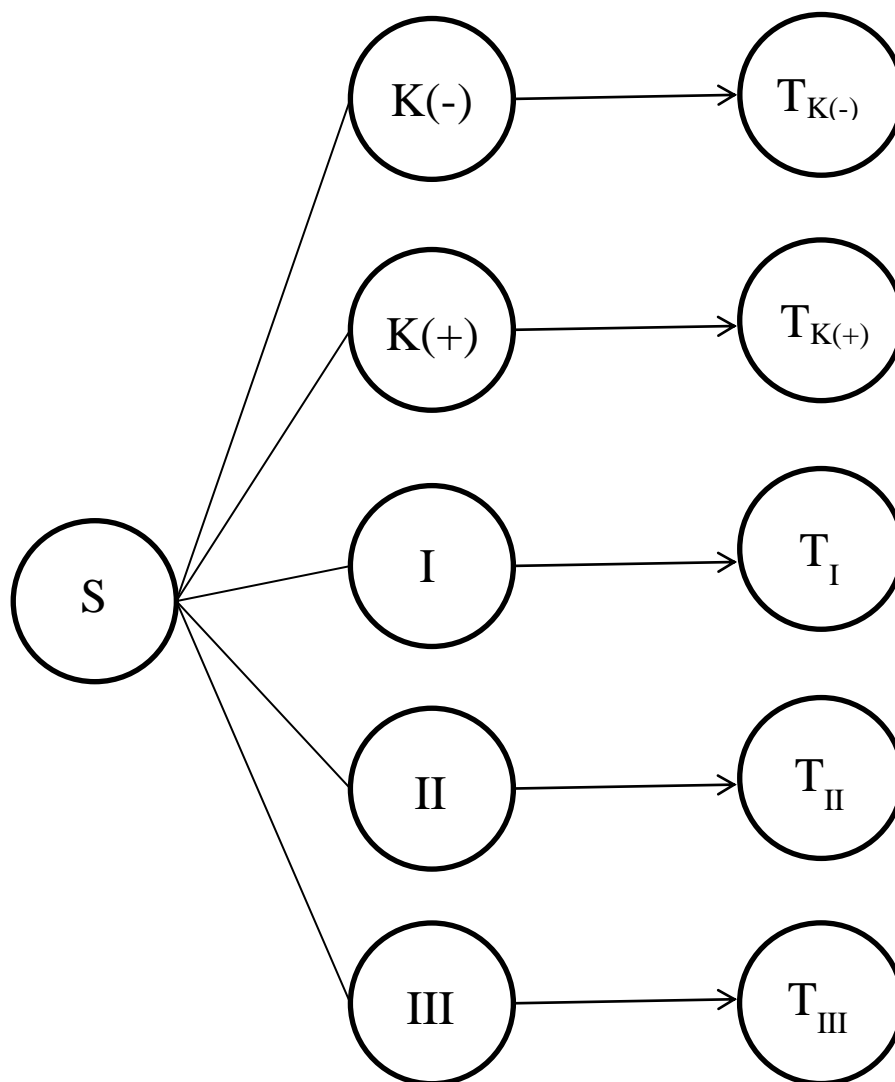
3.2.2 Waktu Penelitian

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

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

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

Skema Rancangan Penelitian adalah sebagai berikut:



Gambar 8. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Kelompok Sampel

K(-) = Kelompok Kontrol Negatif

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

I = Kelompok Perlakuan I (Rifampisin per oral 7mg/ 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak per oral 2mg/ 20 grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest)

II = Kelompok Perlakuan II (Rifampisin per oral 7mg/ 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak per oral 4mg/ 20 grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest)

III = Kelompok Perlakuan III (Rifampisin per oral 7mg/ 20grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak per oral 8mg/ 20 grBB / hari dalam 0,3 ml aquadest)

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 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

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 Drop Out

- 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

Perhitungan jumlah sampel berdasarkan rumus Federer (1977) adalah sebagai berikut:

$$[(t - 1)(n - 1)] \geq 15$$

Dimana:

n = jumlah pengulangan / besar sampel dalam kelompok

t = jumlah perlakuan / banyaknya kelompok (5 kelompok)

Maka jumlah sampel yang dibutuhkan dalam kelompok adalah:

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

$$n = 5$$

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan adalah 25 ekor mencit balb/c jantan karena terdapat 5 kelompok, tiap kelompok masing-masing berjumlah 5 ekor.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak temulawak per oral dosis bertingkat.

3.5.2 Variabel Antara

Variabel antara dalam penelitian ini adalah pemberian rifampisin per oral.

3.5.3 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis gaster mencit balb/c.

3.6 Definisi Operasional Penelitian

Tabel 2. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala Pengukuran
1	Pemberian ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorriza</i>) per oral dosis bertingkat dan pemberian rifampisin	Ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorriza</i>) yang digunakan dalam bentuk kapsul. Serbuk dari dalam kapsul dikeluarkan kemudian serbuk ditimbang sesuai dosis dan dilarutkan dalam aquadest. Dosis yang digunakan adalah dosis bertingkat yang diberikan pada kelompok	mg / kgBB	Nominal

	per oral	hewan coba perlakuan 1 (PI) dosis 2mg/ 20grBB / hari, perlakuan 2 (PII) dosis 4mg/ 20grBB / hari, dan perlakuan 3 (PIII) dosis 8mg/ 20grBB / hari dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 14 hari. PI, PII, dan PIII diberikan proteksi dengan diberikan ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i>) per oral dosis bertingkat yang sesuai dengan dosis tiap kelompok perlakuan.		
2	Gambaran mikroskopis gaster mencit balb/c	Gambaran mikroskopis gaster mencit balb/c dapat dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dalam 5 lapangan pandang.	-	Ordinal

Tabel 3. Skor Barthel Manja yang Telah Dimodifikasi

Skor	Integritas Epitel Mukosa
0	Tidak ada perubahan patologis
1	Deskuamasi epitel
2	Erosi permukaan epitel (1-10 sel epitel / lesi)
3	Ulserasi epitel (>10 sel epitel / lesi)

0 : Normal, tidak ada perubahan patologis.

1 : Deskuamasi epitel berupa kerusakan ringan epitel tanpa adanya celah.

- 2 : Erosi permukaan epitel berupa celah pada satu sampai sepuluh epitel per lesi dan tidak meluas sampai ke bawah epitel.
- 3 : Ulserasi ditandai dengan adanya celah lebih dari sepuluh epitel per lesi dan meluas hingga ke bawah epitel. Pada stadium ini biasanya terdapat jaringan granulasi di bawah epitel.³⁸

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 gaster: deck glass, object glass, mikroskop cahaya
7. Gelas ukur dan pengaduk
8. Pemanas dan pemotong

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. Akuades
 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 gaster mencit balb/c jantan.

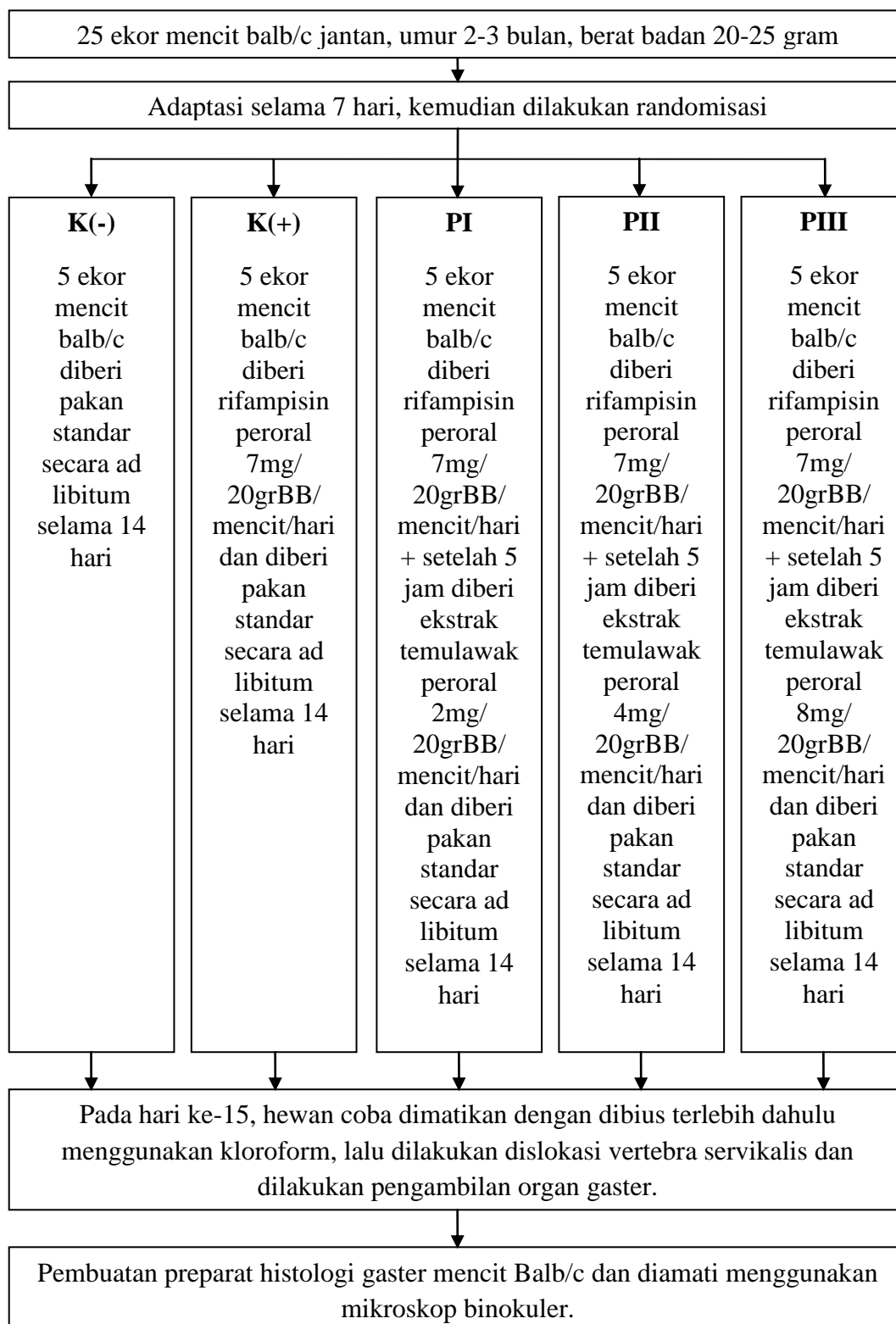
3.7.4 Cara Kerja

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 dikandangan secara individual.
3. Mempersiapkan rifampisin dengan dosis 7mg/20grBB/mencit/hari dan ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis bertingkat.
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 7mg/20grBB/mencit/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - c. Kelompok PI, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7mg/20grBB/mencit/hari dan 5 jam kemudian diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 2mg/20grBB/mencit/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - d. Kelompok PII, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7mg/20grBB/mencit/hari dan 5 jam kemudian diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 4mg/20grBB/mencit/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - e. Kelompok PIII, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7mg/20grBB/mencit/hari dan 5 jam kemudian diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 8mg/20grBB/mencit/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 gaster. Organ gaster 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 gaster dengan mikroskop.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan program komputer analisis data statistik. Pertama dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* karena sampel kurang dari 50 dan didapatkan hasil berdistribusi tidak normal. Setelah itu dilakukan uji beda dengan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*. Jika nilai $p \leq 0,05$ maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Mann-Whitney* untuk mengetahui antar kelompok mana yang terdapat perbedaan secara bermakna.

3.10 Etika Penelitian

Penelitian ini dilakukan atas izin dari bagian Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP dr. Kariadi Semarang dengan nomor *Ethical Clearance 25/EC/H/FK-RSDK/IV/2018*.

