

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup

Ruang lingkup pada penelitian ini mencakup bidang ilmu Histologi dan Patologi Anatomi.

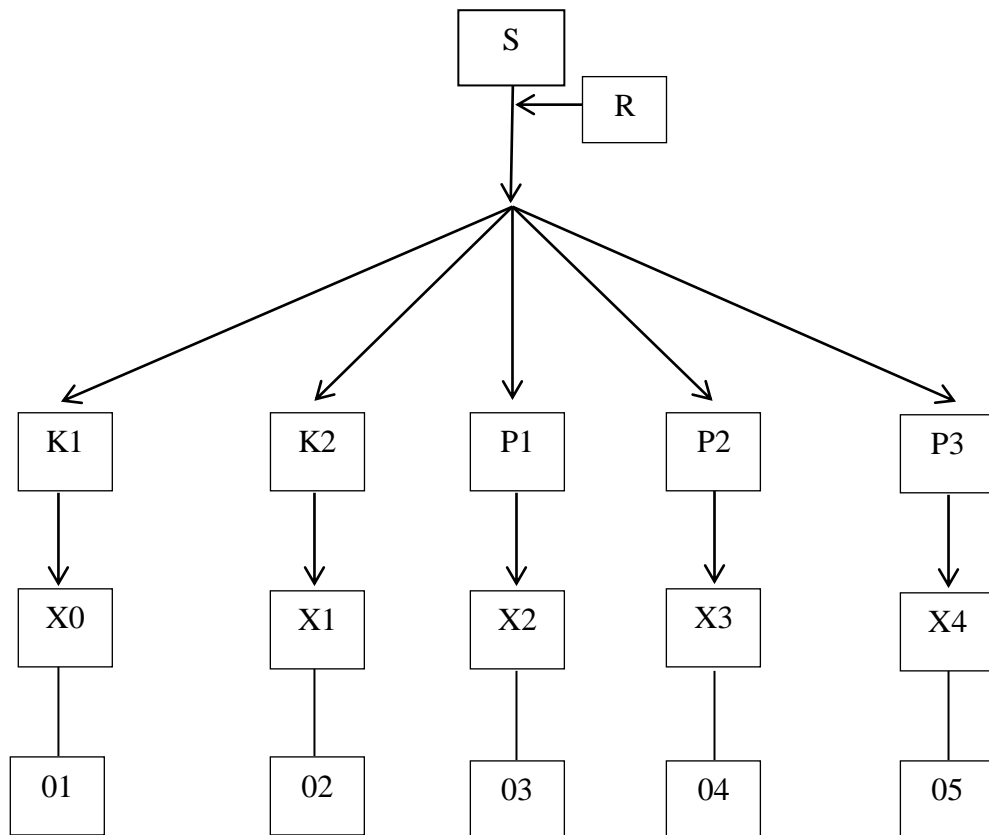
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian, pengumpulan dan analisa data dilakukan pada bulan April - September 2018. Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk tempat pemeliharaan serta perlakuan hewan coba. Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan preparat histopatologi duodenum hewan coba. Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Kariadi untuk melakukan interpretasi hasil mikroskopis duodenum hewan coba.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan tikus Wistar sebagai hewan coba.

Skema rancangan penelitian



Keterangan :

P = Populasi.

S = Kelompok Sampel.

R = Randomisasi.

X0 = Tikus Wistar tanpa diberi perlakuan

X1 = Tikus Wistar diberi minyak baru (dengan 1 kali penggorengan)

X2 = Tikus Wistar diberi minyak jelantah oral frekuensi 3 kali
penggorengan dosis 1,5 ml/hari

X3 = Tikus Wistar diberi minyak jelantah oral frekuensi 6 kali
penggorengan dosis 1,5 ml/hari

X4 = Tikus Wistar diberi minyak jelantah oral frekuensi 9 kali penggorengan dosis 1,5 ml/hari

K1 = Kelompok tanpa diberi perlakuan

K2 = X1 selama 30 hari

P1 = X2 selama 30 hari

P2 = X3 selama 30 hari

P3 = X4 selama 30 hari

O1 = Observasi gambaran mikroskopis duodenum X0

O2 = Observasi gambaran mikroskopis duodenum X1

O3 = Observasi gambaran mikroskopis duodenum X2

O4 = Observasi gambaran mikroskopis duodenum X3

O5 = Observasi gambaran mikroskopis duodenum X4

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

Populasi target pada penelitian ini adalah tikus Wistar.

3.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah tikus Wistar yang diperoleh dari PT. Tiput Abadi Jaya peternakan hewan uji Yogyakarta.

3.4.3 Sampel

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus Wistar Jantan
2. Berat badan rata-rata 150-200 gram
3. Umur 2-3 bulan

4. Tikus dalam keadaan sehat dan aktif bergerak
5. Tidak terdapat kelainan anatomi

3.4.3.2 Kriteria *Drop out*

Mati saat penelitian berlangsung

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Sampling pada penelitian ini dilakukan *simple random sampling* untuk menghindari bias karena variasi faktor umur dan berat badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel yang diambil dari tikus Wistar sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Semuanya diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

Pengambilan organ duodenum tikusnya secara perpendicular. Diambil kurang lebih 1 centimeter bagian duodenum teratas yaitu bagian yang berbatasan langsung dengan lambung. Kemudian diamati makroskopisnya terlihat mukosa licin, warna merah muda dan perabaan lunak.

3.4.5 Besar sampel

Besar sampel mengacu pada pedoman *World Health Organization* (WHO) mengenai penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental. Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor. Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan

adalah 30 ekor tikus strain Wistar jantan karena terdapat 5 kelompok, tiap kelompok masing masing berjumlah 5 ekor dan ditambah 1 ekor di masing-masing kelompok sebagai cadangan.

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian minyak jelantah dengan frekuensi penggorengan berbeda yang diberikan secara per oral.

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis duodenum tikus Wistar.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 4. Definisi Operasional Variabel

Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala
Pemberian minyak jelantah	Minyak jelantah pembuatan dengan teknik <i>deep fried</i> pada suhu 190°C. Frekuensi penggorengan minyak jelantah yang digunakan adalah frekuensi bertingkat yang diberikan pada kelompok hewan coba perlakuan 1 (P1) 1,5 ml/ hari minyak jelantah per oral dengan 3 kali penggorengan, perlakuan 2 (P2) 1,5 ml/hari minyak jelantah per oral dengan 6 kali penggorengan, perlakuan 3 (P3) 1,5 ml/hari minyak jelantah per oral dengan 9 kali penggorengan dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 30 hari.	Ordinal
Gambaran mukosa duodenum tikus Wistar	Dinilai menggunakan skor Barthel Manja 0 = tidak ada perubahan 1 = terjadi deskuamasi epitel 2 = erosi permukaan epitel (1-10 sel epitel/lesi) 3 = ulserasi permukaan epitel (>10 sel epitel/lesi)	Ordinal

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan penelitian

- 1) Pembuatan minyak jelantah
 1. Minyak kemasan peringkat 1 TOP brand Indonesia 2018 fase 1 (TOP brand index = 38.3%) sebanyak 3 liter. Dengan komposisi :
 - ✓ Minyak kelapa sawit yang mengandung : lemak jenuh 4 gram, lemak tidak jenuh tunggal 4.5 gram, lemak tidak

jenuh ganda 1 gram, dan mengandung 4.5 gram omega-9 per sajian.

2. 9 potong ayam 100 gram/potong
- 2) Perawatan dan perlakuan hewan coba
 1. 30 ekor tikus Wistar jantan
 2. Pakan dan minum standar secara *ad libitum*
 3. Minyak jelantah 1,5 ml/hari.⁸
 - 3) Pembuatan preparat histologi
 1. Larutan buffer formalin 10%
 2. Hematoksin eosin
 3. Larutan xylol
 4. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96%
 5. Larutan aquades

3.7.2 Alat penelitian

3.7.2.1 Pembuatan minyak jelantah

1. Wajan penggorengan
2. Termometer 200° C
3. Tabung reaksi

3.7.2.2 Perawatan dan perlakuan hewan coba

1. Kandang hewan coba
2. Timbangan hewan coba

3. Sonde lambung *Syringe*
4. Tabung penampung

3.7.2.3 Alat pembuatan preparat histologi

1. Deck glass
2. Objek glass
3. Mikrotom
4. Oven
5. Cetakan parafin
6. Mikroskop cahaya
7. Alat bedah minor (untuk mengambil duodenum tikus)
8. Kamera

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer hasil pengamatan gambaran mikroskopis duodenum tikus Wistar dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.7.4 Cara kerja

3.7.4.1 Cara pembuatan minyak jelantah

Minyak kemasan baru sebanyak 3 liter, dibeli di supermarket. Minyak kemasan baru dipanaskan dengan suhu 190° C dalam wajan dengan lebar 45 cm dan kedalaman 20 cm, dan masukkan 100 gram

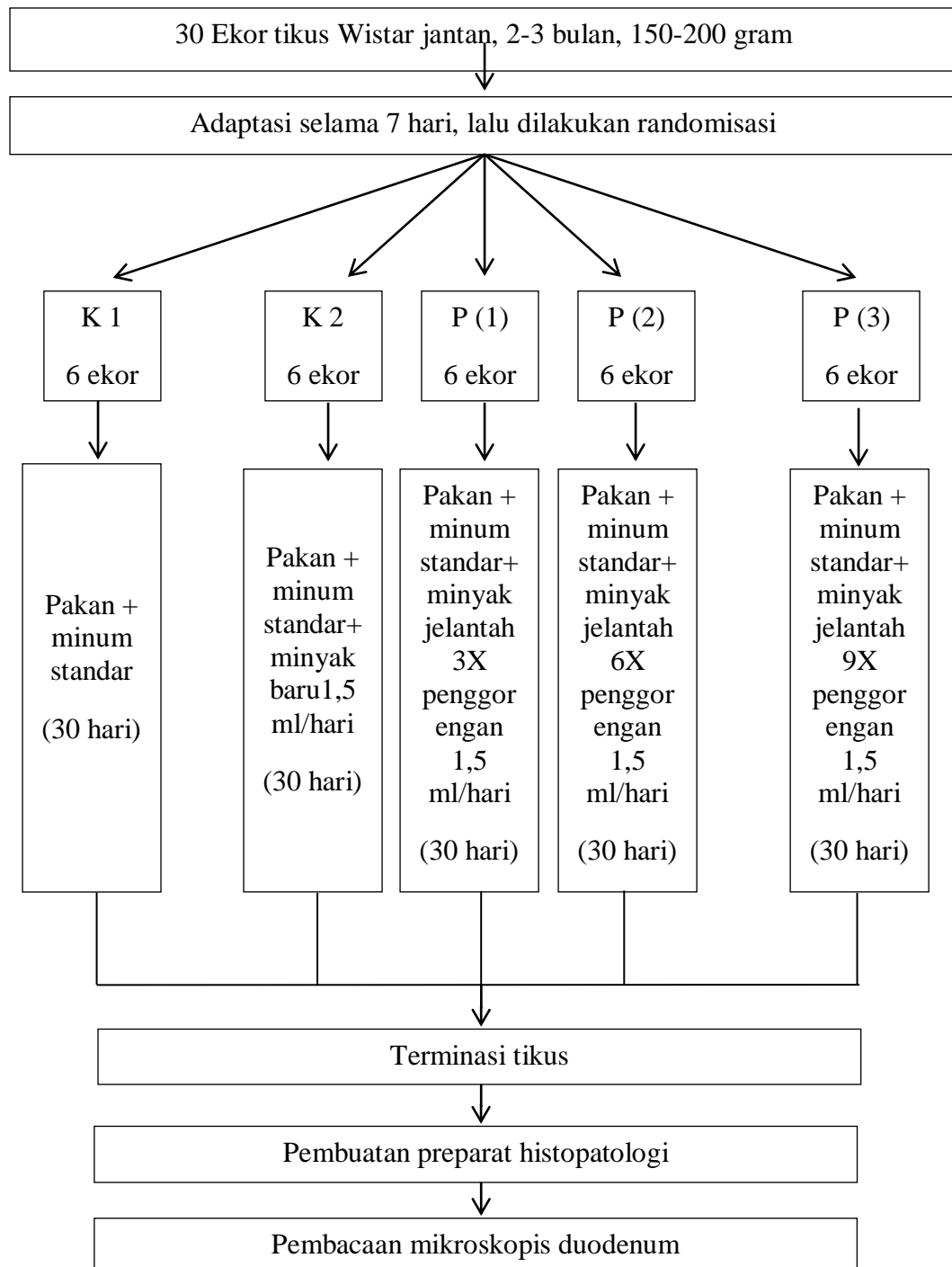
ayam potong untuk digoreng selama ± 4 menit.⁸ 100 gram ayam potong harus dimasukkan ke dalam minyak pada setiap kali penggorengan.

3.7.4.2 Perlakuan pada hewan coba

1. 30 ekor tikus Wistar yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasi selama 7 hari di laboratorium dalam kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*.
2. Pada hari ke-8, tikus Wistar dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 6 ekor tikus Wistar yang dipilih berdasarkan *random allocation sampling*.
3. Menimbang berat badan masing-masing tikus Wistar.
4. Mulai hari ke-8 pada kelompok pertama yaitu kelompok kontrol pertama, diberikan pakan standar dan aquades tanpa perlakuan apapun.
5. Pada kelompok kedua yaitu kelompok kontrol kedua, tikus Wistar diberikan pakan standar, aquades, dan minyak kemasan baru peroral 1,5 ml/hari selama 30 hari yang diberikan sebelum makan.
6. Kelompok Perlakuan 1, diberikan pakan standar dan minyak jelantah dengan 3 kali penggorengan peroral 1,5 ml/hari selama 30 hari yang diberikan sebelum makan.
7. Kelompok Perlakuan 2, diberikan pakan standar dan minyak jelantah dengan 6 kali penggorengan peroral 1,5 ml/hari selama 30 hari yang diberikan sebelum makan.

8. Kelompok Perlakuan 3, diberikan pakan standar dan minyak jelantah dengan 9 kali penggorengan peroral 1,5 ml/hari selama 30 hari yang diberikan sebelum makan.
9. Tikus Wistar di lakukan anestesi terlebih dahulu lalu dimatikan dengan cara dislokasi leher.
10. Mengambil organ duodenum, sampel duodenum tersebut kemudian diukur dan ditimbang, diamati secara makroskopik selanjutnya diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet buffer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian duodenum dan 9 bagian buffer formalin 10%.
11. Tabung berisi sampel duodenum tikus Wistar diletakkan ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis guna mengolahnya mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Dari setiap sampel duodenum dibuat preparat dengan potongan longitudinal dan akan dibaca dalam lima lapangan pandang bagian lesi terparah dengan pembesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah perubahan struktur epitel mukosa duodenum tikus Wistar yang diamati setiap lapangan pandang.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 5 . Alur penelitian

3.9 Analisis Data

Jenis rancangan hipotesis yang digunakan pada penelitian ini adalah hipotesis komparatif, lebih dari dua kelompok data dengan lebih dari dua kelompok data yang tidak berpasangan. Data yang diperoleh akan diolah menggunakan program komputer dan dilakukan uji beda menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

3.10 Etika Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, telah dimintakan ethical clearance dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan nomor 53/EC/H/FK-RSDK/V/2018.