

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup keilmuan penelitian ini mencakup bidang Histologi, Gizi, dan Patologi Anatomi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian, pengumpulan dan analisa data dilakukan pada bulan Maret – September 2018.

Penelitian ini akan dilakukan di beberapa tempat anatar lain:

- 1) Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas
Diponegoro
- 2) Laboratorium Central Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk
pembuatan preparat histopatologi
- 3) Interpretasi hasil mikroskopis sampel jaringan hepar dilakukan di
Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Dr Kariadi Undip

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian *true eksperimental* laboratorik dengan rancangan *Post Test Only with Control Group Design* yang menggunakan hewan coba berupa tikus wistar sebagai objek penelitian.

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 jantan yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

3.4.3 Sampel

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- 1) Tikus Wistar Jantan
- 2) Berat badan rata-rata 150-250 gram .
- 3) Umur 2-3 bulan .
- 4) Tikus dalam keadaan sehat
- 5) Tidak terdapat kelainan anatomis

3.4.3.2 Kriteria *Drop out*

- 1) Tikus sakit, rambut rontok
- 2) Mati selama masa penelitian

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 tikus wistar sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen. Semuanya diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

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 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 frekuensi penggorengan pemberian minyak jelantah dosis bertingkat pada hewan coba yang diberikan secara peroral.

3.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis hepar tikus wistar.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Skala
Minyak Jelantah	Minyak jelantah pembuatan dengan teknik deep frying pada suhu 190°C. Frekuensi penggorengan minyak jelantah yang digunakan adalah frekuensi bertingkat yang diberikan pada kelompok hewan coba (P1) 1,5 ml/ hari minyak jelantah per oral dengan 3 kali penggorengan, (P2) 1,5 ml/hari minyak jelantah per oral dengan 6 kali penggorengan, (P3) 1,5 ml/hari minyak jelantah per oral dengan 9 kali penggorengan dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 30 hari.	Ordinal

Gambaran mikroskopi s hepar tikus wistar.	Gambaran mikroskopis hepar tikus wistar baru dapat dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali pada lima lapangan pandang. 1 = Sel hepar normal 2 = Sel hepar degenerasi parenkimatosa 3 = Sel hepar degenerasi hidropik 4 = Sel hepar nekrotik ³² Dibaca oleh dr. Ika Pawitra Miranti, M.Kes.,Sp.PA Pada tanggal 5 September 2018 di Laboratorium Patologi Anatomi <u>RSUD Dr Kariadi Undip.</u>	Ordinal
---	--	---------

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan Penelitian

1) Pembuatan minyak

- 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 paha ayam tanpa kulit 100 gram

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/hari³³
- 3) Pembuatan preparat histologi
1. Larutan buffer formalin 10%.
 2. Hematoksilin Eosin.
 3. Larutan xylol.
 4. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 96%.
 5. Larutan aquades.

3.7.2 Alat Penelitian

- 1) Pembuatan minyak jelantah
 - 1 Wajan penggorengan
 - 2 Termometer 200 C
 - 3 Tabung reaksi
- 2) Perawatan dan perlakuan hewan coba
 1. Kandang hewan coba.
 2. Timbangan hewan coba.
 3. Sonde lambung *syringe*.

4. Tabung penampung.
- 3) Alat pembuatan preparat histologi
 1. Deckglass.
 2. Objekglass.
 3. Mikrotom.
 4. Oven.
 5. Cetakan paraffin.
 6. Mikroskop cahaya.
 7. Alat bedah minor (untuk mengambil organ hepar tikus).
 8. Kamera.

3.7.3 Jenis Data

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer hasil pengamatan gambaran mikroskopis hepar 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 sebanyak 3 liter, dibeli di pasar tradisional. Minyak kemasan di panaskan dengan suhu dengan suhu 190 C dalam wajan dengan lebar

45 cm dan kedalaman 20 cm, dan dimasukan 100 gram ayam potong. 100 gram ayam potong harus dimasukan ke dalam minyak pada setiap kali penggorengan.

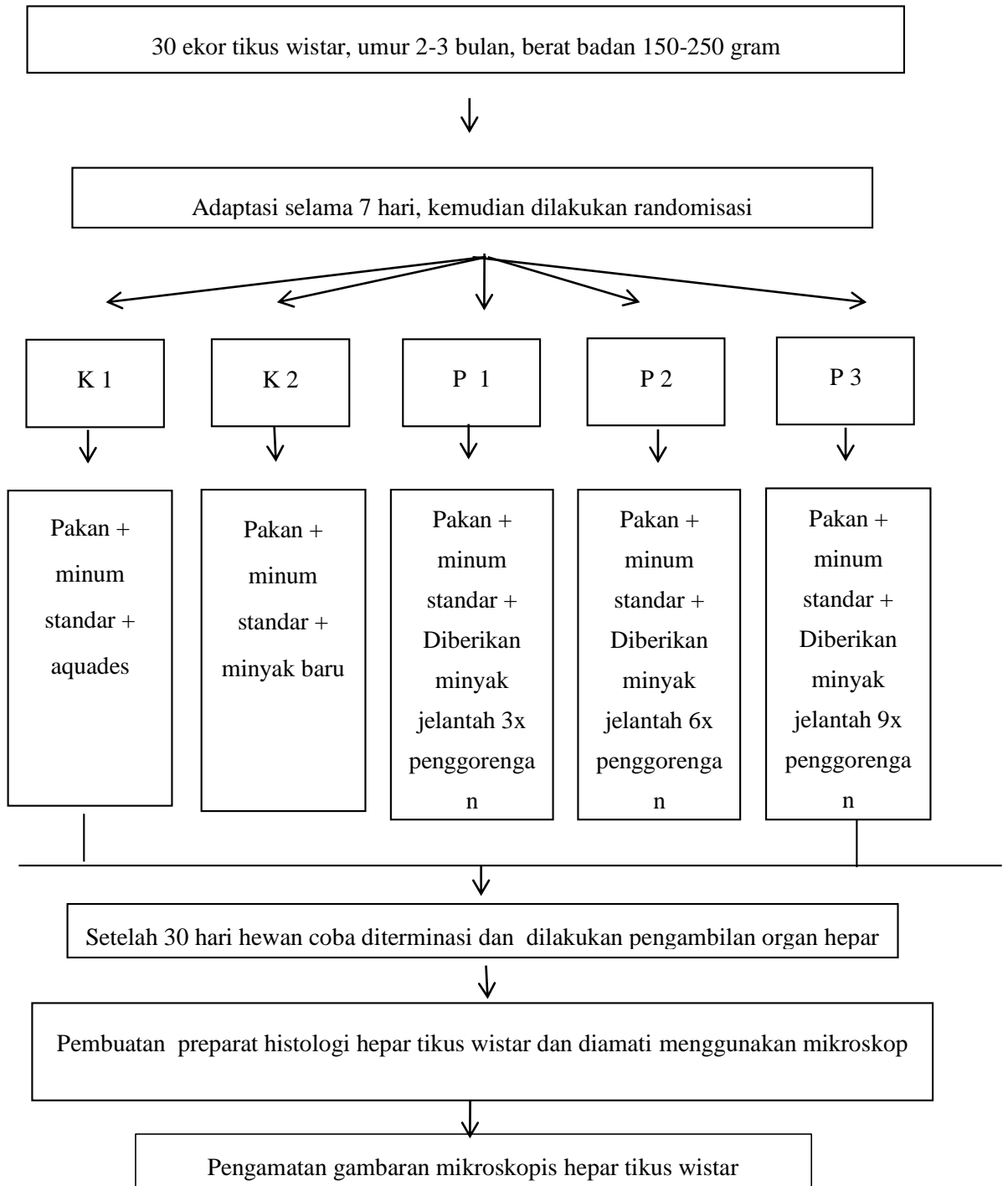
3.7.4.2 Perlakuan pada hewan coba

- 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 simple random sampling.
- 3 Menimbang berat badan masing-masing tikus wistar.
- 4 Mulai hari ke-8 pada kelompok pertama adalah kelompok kontrol 1, diberikan pakan standar dan aquadest tanpa perlakuan apapun.
- 5 Pada kelompok kedua adalah kelompok kontrol 2 ,tikus wistar diberikan minyak baru dengan dosis 1,5 ml/hari per oral selama 30 hari dan diberikan sebelum makan
- 6 Kelompok Perlakuan 1, merupakan kelompok tikus yang diberikan minyak jelantah 3x penggorengan dengan dosis 1,5 ml/hari per oral selama 30 hari dan diberikan sebelum makan.

- 7 Kelompok Perlakuan 2, merupakan kelompok tikus yang diberikan minyak jelantah 6x penggorengan dengan dosis 1,5 ml/hari per oral selama 30 hari dan diberikan sebelum makan
 - 8 Kelompok Perlakuan 3, merupakan kelompok tikus yang diberikan minyak jelantah 9x penggorengan dengan dosis 1,5 ml/hari per oral selama 30 hari dan diberikan sebelum makan
 - 9 Tikus wistar di lakukan anestesi terlebih dahulu lalu dilakukan terminasi.
 - 10 Mengambil organ hepar. Sampel hepar tersebut kemudian diukur dan ditimbang, diamati secara makroskopik selanjutnya diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet buffer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian hepar dan 9 bagian buffer formalin 10%.
 - 11 Tabung berisi sampel hepar tikus wistar diletakkan ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis guna mengolahnya mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Dari setiap sampel hepar dibuat preparat dan akan dibaca dalam lima lapangan pandang yaitu dari keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan pembesaran 400x.
- Sasaran yang

dibaca adalah perubahan gambaran histopatologis hepar pada tikus wistar yaitu degenarasi dan nekrosis.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 4 . Alur penelitian

3.9 Analisa Data

Uji hipotesis yang digunakan adalah uji komparatif Chi-Square karena kelompok-kelompok pengukuran dalam penelitian ini tidak berpasangan dan berjumlah lebih dari dua kelompok, serta variabel-variabel dalam penelitian ini berskala kategorikal (ordinal/ordinal). Nilai p dianggap bermakna apabila $p < 0.05$.

3.10 Etika Penelitian

Etika penelitian diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP dr. Kariadi Semarang dengan nomor 21/EC/H/FK-RSDK/V/2018.