

BAB III

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, pengumpulan dan analisa data dilakukan di :

1. Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
2. Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro untuk pembuatan prepat histopatologi dan intrepretasi hasil mikroskopis sampel jaringan hepar.

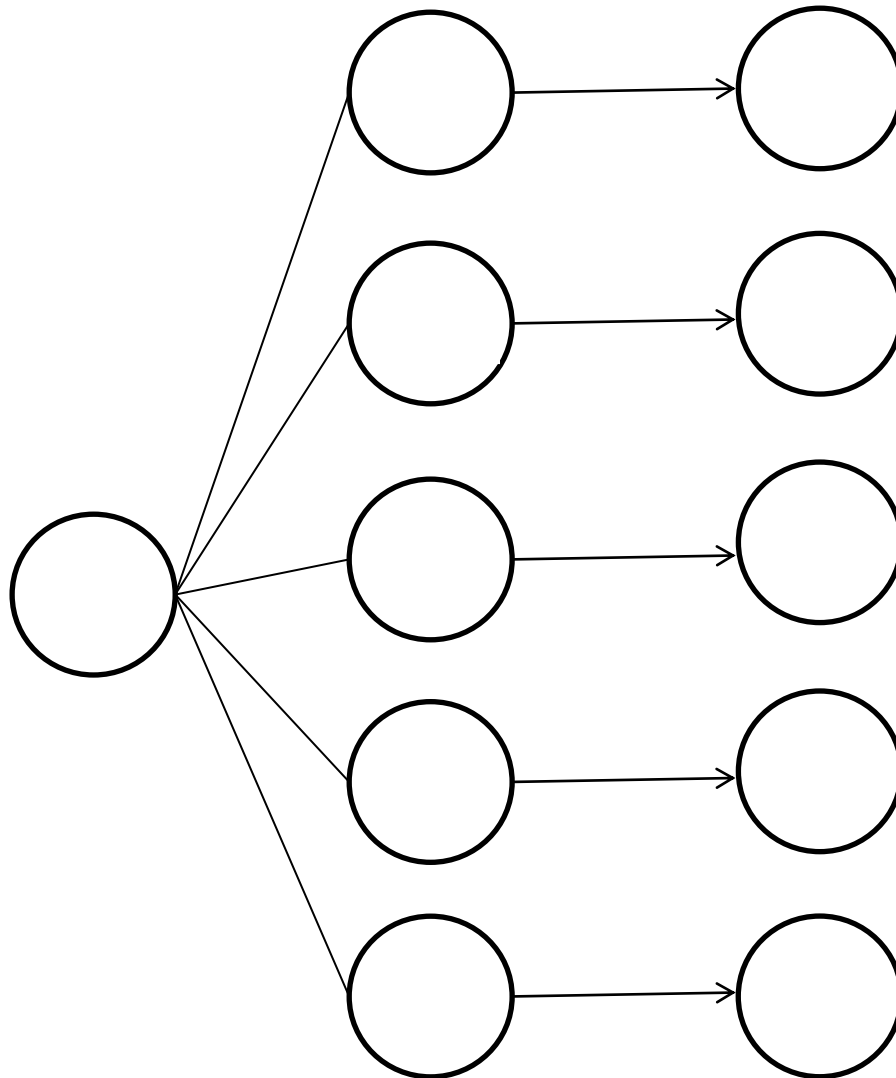
3.2.2 Waktu penelitian

Penelitian, pengumpulan, dan analisa data dilakukan pada April-September 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 7. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Kelompok Sampel

- K(-) = Kelompok Kontrol Negatif (tidak diberikan perlakuan hanya pemeberian pakan standart)
- K(+)= Kelompok Kontrol Positif (Rifampisin 7mg/20grBB/hari)
- I = Kelompok Perlakuan I (Rifampisin 7mg/20grBB, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 2 mg/20grBB/hari)
- II = Kelompok Perlakuan II (Rifampisin 7mg/20grBB/hari, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 4 mg/20grBB/hari)
- III = Kelompok Perlakuan III (Rifampisin 7mg/20grBB/hari, setelah 5 jam diberikan Ekstrak Temulawak 8 mg/20grBB/hari)
- T_{k(-)} = Tes Kelompok Kontrol Negatif
- T_{k(+)} = Tes Kelompok Perlakuan Positif
- T_I = Tes Kelompok Perlakuan I
- T_{II} = Tes Kelompok Perlakuan II
- T_{III} = Tes Kelompok Perlakuan III

1.4 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 LPPT Universitas Gadjah Mada.

3.4.3 Sampel

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- a) Mencit strain Balb/c
- b) Jantan
- c) Berat badan 20-30 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 factor 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

Besar sampel dihitung menggunakan rumus Frederer, perhitungannya sebagai berikut:

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

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = besar sampel

Besar sampel yang dibutuhkan tiap kelompok adalah 5 ekor mencit. Total mencit yang dibutuhkan 25 ekor mencit.

1.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak temulawak dosis bertingkat.

3.5.2 Variabel Perantara

Variabel perantara dalam penelitian ini adalah rifampisin.

3.5.3 Variabel Terpengaruh

Variabel terpengaruh dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis hepar mencit balb/c.

1.6 Definisi Operasional Penelitian

Tabel 3. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Satuan	Skala Pengukuran
1	Ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorriza</i>)	Ekstrak temulawak (<i>Curcuma xanthorriza</i>) dengan dosis yang digunakan adalah dosis	mg/grBB	Nominal

dosis beringkat dan rifampisin	bertingkat diberikan kepada kelompok hewan coba perlakuan 1 (P1) dosis 2 mg/20grBB, perlakuan 2 (P2) dosis 4 mg/20grBB, dan perlakuan 3 (P3) dosis 8 mg/20grBB dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 14 hari. Pemberian temulawak setelah pemberian rifampisin dengan dosis 7mg/20grBB dengan sonde sebanyak satu kali sehari selama 14 hari.		
2	Gambaran mikroskopis hepar mencit balb/c	Gambaran mikroskopis hepar mencit balb/c dapat dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksilin Eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali dalam 5 lapangan pandang mikroskopik 4 sudut dan ditengah.	- Ordinal

Kriteria pembacaan derajat histopatologi hepar berdasarkan system skoring yang mengacu pada system Manja Roenigk³⁶.

- 1) Nilai 1 = sel hepar normal. Tampak sel berbentuk poligonal, sitoplasma berwarna merah homogen, dinding sel berbatas tegas.

- 2) Nilai 2 = sel hepar degenerasi parenkimatosia. Terdapat pembengkakan sel disertai sitoplasma keruh dan bergranula.
- 3) Nilai 3 = sel hepar degenerasi hidropik. Sel sembab, dan bervakuola yang berisi cairan.
- 4) Nilai 4 = sel hepar nekrosis. Kerusakan permanen sel atau kematian sel.

1.7 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: skalpel, gunting, jarum, dan meja lilin.
5. Alat pembuatan prepaat histologi: mikrotom, oven, cetakan paraffin
6. Alat lihat histopatologi hepar: 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. 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 hepar mencit balb/c jantan.

3.7.4 Cara Kerja

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

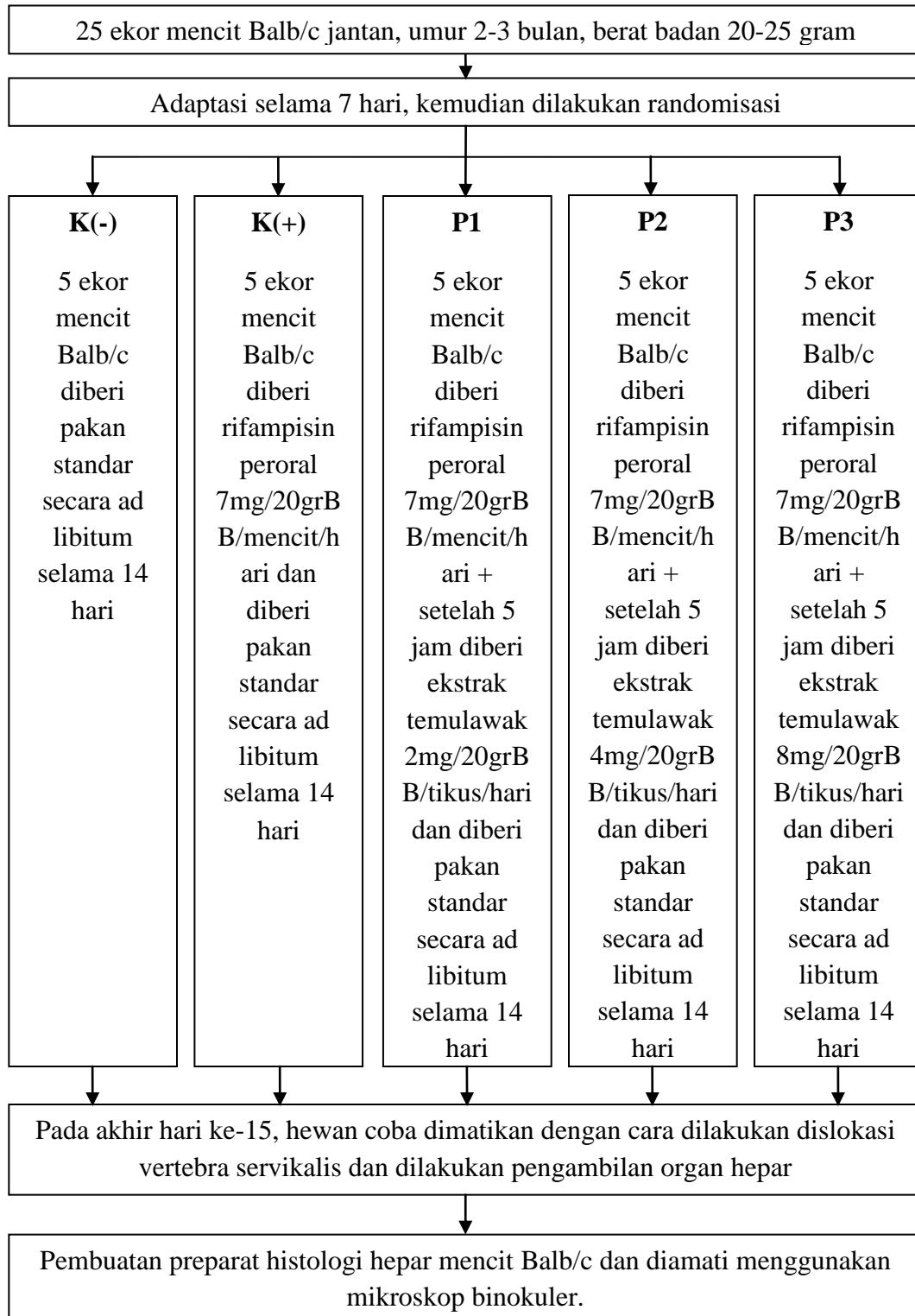
1. Melakukan aklimatisasi hewan sampel di laboratorium selama 1 minggu.
2. Memilih sampel dengan metode *simple random sampling*, 25 ekor mencit balb/c jantan dibagi dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok mencit balb/c jantan dikandangan secara individual.
3. Mempersiapkan rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB dan kapsul ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 2 mg/20grBB, 4 mg/20grBB, dan 8 mg/20grBB.
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/mencit/hari selama 14 hari berturut-turut.
 - c. Kelompok P1, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/mencit/hari dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 2 mg/20grBB/mencit/hari dengan jeda waktu pemberian rifampisin ke temulawak selama 5 jam dan dilakukan selama 14 hari berturut-turut.
 - d. Kelompok P2, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/mencit/hari dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 4 mg/20grBB/mencit/hari dengan jeda waktu pemberian rifampisin ke temulawak selama 5 jam dan dilakukan selama 14 hari berturut-turut.
 - e. Kelompok P3, berupa pemberian rifampisin dengan dosis 7 mg/20grBB/mencit/hari dan diberi ekstrak temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) dengan dosis 8 mg/20grBB/mencit/hari dengan jeda waktu pemberian rifampisin ke temulawak selama 5 jam dan dilakukan selama 14 hari berturut-turut.
5. Melakukan terminasi semua hewan coba pada hari ke-15 penelitian dengan cara melakukan dislokasi vertebra servikalis, kemudian membedah dan mengambil organ hepar. Organ hepar hewan percobaan diambil masing-

masing berukuran sekitar 1 cm³, kemudian difiksasi menggunakan larutan buffer formalin 10%. Setelah itu dibuat preparat histologi dengan metode blok paraffin dan diberi pengecatan HE.

6. Mengamati struktur mikroskopis hepar dengan mikroskop binokuler masing-masing pada 5 lapang pandang mikroskopik 4 sudut dan di tengah. Pemeriksaan dengan mikroskop dilakukan dengan pembesaran 100x kemudian dilanjutkan dengan pembesaran 400x.

1.8 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

1.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian yang telah dilakukan diolah dengan program komputer SPSS, pertama dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* karena sampel <50 dan didapatkan hasil berdistribusi tidak normal sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji *Kruskall-Wallis*. Hasil uji beda menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskall-Wallis* didapat $p \leq 0,05$. Selanjutnya uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui antar kelompok mana yang terdapat perbedaan secara bermakna.

1.10 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/ 47/EC/H/FK-RSDK/V/2018 .