

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Desain Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif kualitatif. Penelitian ini menunjukkan gambaran ekspresi e-NOS yang diteliti secara obyektif. Metode penelitian yang digunakan adalah pengamatan di laboratorium.

#### **B. Sampel Penelitian**

Sampel penelitian ini adalah tikus galur *Sprague Dawley* jantan berjumlah 2 tikus, yang memiliki berat berkisar antara 150-200 gram dan dipelihara di dalam kandang. Tikus 1 diberikan induksi DMBA untuk membuat model sampel yang dipapar oleh oksidan dari luar. Tikus 2 hanya diberikan pakan biasa.

#### **C. Lokasi Dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penelitian Perguruan Tinggi (LPPT) UGM dan Laboratorium Medis Fakultas Kedokteran UGM, pada bulan April-Desember 2016. Perhitungan ekspresi e-NOS dilakukan di Laboratorium Biomedik FKIK UMY, pada bulan Februari-Mei 2017.

#### **D. Variabel Penelitian**

Penelitian ini tidak menggunakan variabel, karena memiliki desain deskriptif kualitatif non analitik, sehingga tidak dilakukan perbandingan.

## **E. Definisi Operasional**

### **1. Ekspresi e-NOS**

Ekspresi e-NOS adalah garis cokelat tua tebal pada endotel aorta namun bukan berupa eritrosit. Penghitungan ekspresi e-NOS berdasarkan kemunculan dan menggunakan persen area. Preparat diamati, setelah dilakukan pengecatan imunohistokimia dengan pewarnaan antibodi NOS3 *Polyclonal Antibody* ENT3173 IgG.

### **2. Induksi 7,12-Dimetilbenz[ $\alpha$ ]antrasena (DMBA)**

Induksi DMBA adalah pemberian dosis tunggal 15mg/ekor DMBA dalam pelarut minyak jagung 100mg/kgBB secara per oral dengan sonde tunggal.

## **F. Instrumen Penelitian**

### **1. Alat :**

- a. Timbangan hewan
- b. Timbangan analitik
- c. Kandang tikus, botol minum tikus, tempat makan tikus
- d. Sonde
- e. Sput
- f. Gelas kaca
- g. Peralatan bedah mencit

- h. Alat pembuatan preparat histologi
- i. Mikroskop
- j. Mikrometer
- k. Kamera, masker, sarung tangan.

## **2. Bahan:**

- a. *7,12-Dimetilbenz[ $\alpha$ ]antrasena (DMBA)*
- b. Minyak jagung sebagai pelarut DMBA
- c. *NOS3 Polyclonal Antibody ENT3173 IgG*
- d. Buffer Formalin

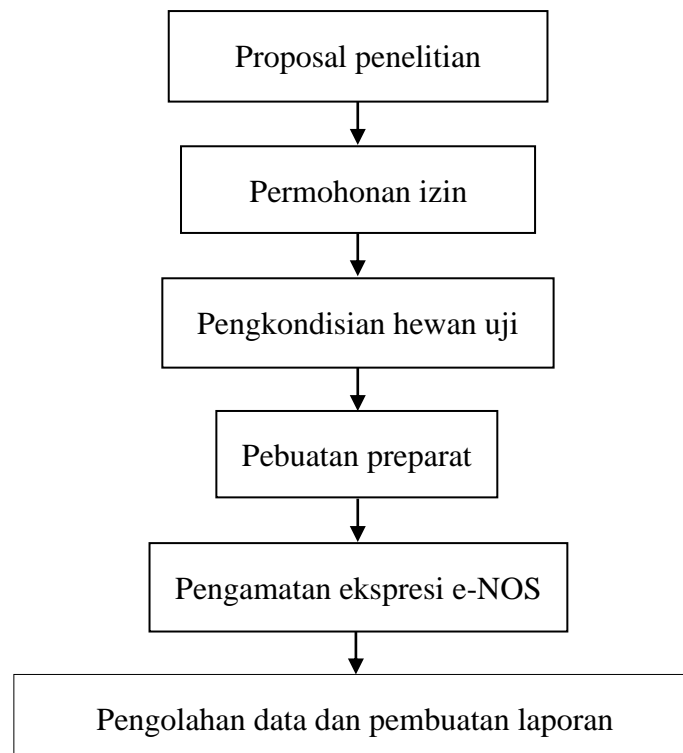
## **G. Jalannya Penelitian dan Cara Pengumpulan Data**

Prosedur penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Persiapan alat dan bahan penelitian
  - a. Mempersiapkan tikus yang akan digunakan dalam percobaan
  - b. Mempersiapkan larutan DMBA dan minyak jagung yang digunakan.
2. Perlakuan pada hewan uji
3. Tikus diamati perkembangannya selama 16 minggu
4. Tikus dikorbankan dengan anestesi dan diambil aortanya
5. Pembuatan preparat histologi serta pengecatan IHC dilakukan oleh laboran di Laboratorium Patologi Anatomi dan Patologi Klinik UGM.

6. Pengamatan preparat di bawah mikroskop
7. Pengolahan data dan pembuatan laporan

#### H. Alur Penelitian



Gambar 6. Bagan alur penelitian.

#### I. Analisis Data

Analisis data dilakukan secara deskriptif kualitatif. Preparat diamati menggunakan mikroskop binokuler, kemudian dilakukan pemotretan. Program Corel Draw digunakan untuk mengetahui prosentase area kemunculan e-NOS pada endotel. Area yang positif dihitung 1, yaitu area yang terdapat ekspresi e-NOS dengan ditandai munculnya garis cokelat tebal sebagai e-NOS dan bukan berupa eritrosit pada endotel aorta. Pembacaan ini

tanpa memperhitungkan banyak sedikitnya, panjang pendeknya, atau penuh tidaknya satu kotak, dengan garis cokelat tebal. Angka yang didapatkan diolah menggunakan pengolahan Microsoft Exel secara sederhana.

## **J. Etik Penelitian**

Terlampir