

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan *study experimental* pada hewan coba untuk menilai pengaruh deksametason terhadap gambaran histologi hepar.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test control group design*. *Post test* dilakukan untuk melihat gambaran histologi hepar.

#### B. Subyek Penelitian

Subyek di gunakan adalah tikus putih galur *Wistar (Rattus Norvegicus)*, jenis kelamin jantan dengan berat badan awal 122 - 188 gram sehat umur 2 – 3 bulan, aktif dan tidak cacat yang di peroleh dari Laboratorium Farmakologi UGM.

Jumlah tikus putih yang di gunakan pada penelitian ini berjumlah 15 ekor dibagi 3 kelompok yang masing-masing berjumlah 5 ekor. Kelompok 1 kelompok kontrol tanpa perlakuan, kelompok 2 dan 3 kelompok perlakuan pemberian deksametason dengan dosis 2.5 dan 7.5 mg/kgBB.

#### C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium biomedik FKIK UMY meliputi induksi deksametason dan *streaming* preparat hepar dilakukan di Laboratorium Biomedik FKIK UMY. Waktu penelitian ± tiga bulan.

Pembuatan preparat histologi dan pengamatan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM.

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

1. Variabel bebas : Dosis deksametason.
2. Variabel terikat : Histologi hepar yang mengalami beberapa perubahan patologis seperti degenerasi parenkimatososa, degenerasi, hidropik, dan nekrosis (piknotik, karioreksis, kariolisis).
3. Variabel terkontrol : Tikus putih jantan galur *Wistar* berumur 2 bulan dengan berat 122 - 188 gram, jenis makanan, tempat pemeliharaan, waktu pemeliharaan.
4. Variabel pengganggu :
  - 1) Ras. Ras juga dapat mempengaruhi farmakokinetik dan efek samping suatu obat. Untuk mengendalikan hal ini maka tikus yang digunakan pada penelitian ini dipilih dari galur yang sama yaitu galur *Wistar*.
  - 2) Berat badan. Berat badan yang berbeda-beda sedangkan perlakuan yang diberikan sama akan maka akan ada kemungkinan muncul efek yang berbeda pula, sehingga untuk mengatasi hal ini digunakan tikus putih yang berat badan antara 122 - 188 gram.
  - 3) Jenis kelamin jantan. Tikus dengan jenis kelamin jantan lebih memiliki antibody yang lebih baik.

## **E. Instrumen Penelitian**

1. Alat : Spuit injeksi 1 cc, Timbangan digital, Label, Kandang tikus, Tempat pakan dan tempat minum tikus, Sarung tangan, Masker, Alkohol 70%, Kapas, Botol preparat, Mikroskop, Pengecatan HE(Hemaktosin and Eosin), Software Image J.
2. Bahan :Deksametason injeksi, Air, Pakan tikus (BR2).

## **F. Tahapan Penelitian**

### **1. Pemberian Deksametason**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedis FKIK UMY. Pemberian dosis deksametason diberikan dengan cairan injeksi subcutan dengan dosis 2.5 dan 7.5 mg/kgBB. Deksametason diberikan selama 7 hari.

### **2. Pembedahan Tikus**

Tikus dikorbankan dan kemudian dilakukan pengambilan organ hepar dan difiksasi dalam formalin 10%.

### **3. Pembuatan Preparat Histologi Hepar**

Pembuatan preparat dilakukan di Lab PA FK UGM. Pemotongan organ hepar dilakukan dengan cara melintang. Organ di potong tipis, selanjutnya potongan organ tersebut akan dibuat preparat dengan pengecatan HE.

### **4. Pengamatan Preparat**

Pada sel hepar yang mengalami hiperlipidemia akan nampak beberapa perubahan patologis yang kemudian dilakukan skoring *Manja*

*Roenigk* berdasarkan derajat kerusakannya (Manautou dkk, 1994). Pada penelitian ini preparat diamati menggunakan perbesaran kuat 200x setiap lapang pandang untuk melihat beberapa perubahan, yaitu degenerasi parenkimatososa, degenerasi hidropik dan nekrosis. Kondisi sel di berikan skor sesuai derajat kerusakan menurut *Manja Roenigk* dapat dilihat pada Tabel 1.

Kondisi Sel	Skor
Normal	1
Degenerasi Parenkimatososa	2
Degenerasi Hidropik	3
Nekrosis	4

Tabel 1. Skoring derajat kerusakan sel.

### G. Analisis Data

Dari pengamatan preparat diperoleh data jumlah sel-sel yang berbeda pada tiap lapang pandang, sehingga jumlah skor setiap lapang pandang dibagi dengan jumlah sel.

Data diskor dan diamati kerusakan sel hepar menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan didapatkan nilai  $p < 0.05$  maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.