

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian quasi eksperimental dengan rancangan penelitian *post-test random control group design*.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah 24 tikus *Rattus Norvegicus Strain Wistar* yang dibeli dari Lembaga Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada dengan kriteria inklusi tikus putih jantan, berumur 2 bulan dengan berat rata-rata 120-140 gram dan dalam kondisi sehat dan tidak ditemukan abnormalitas. Sedangkan kriteria eksklusi adalah jika tikus mati atau tikus mengalami stres.

Besarnya sampel yang dipakai dihitung dengan menggunakan rumus Federer dengan perhitungan sebagai berikut:

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

$$(4-1)(t-1) \geq 15$$

$$3t \geq 18$$

$$t \geq 6$$

Keterangan : n = Jumlah perlakuan

t = Jumlah ulang untuk setiap perlakuan

Sampel penelitian ini dibagi dalam 4 (empat) kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 6 (enam) ekor tikus. Pengelompokan ini berdasarkan macam perlakuan yang diberikan sebagai berikut:

Kelompok I (Kontrol -) : Tanpa perlakuan

Kelompok II (Kontrol +) : Parasetamol

Kelompok III (Perlakuan 1) : Parasetamol + VCO 1 ml/KgBB

Kelompok IV (Perlakuan 2) : Parasetamol + VCO 3 ml/KgBB

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM sebagai tempat pemeliharaan dan perlakuan hewan coba.
2. Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Centre (AMC) sebagai tempat pembuatan preparat histologis.
3. Laboratorium Histologi/Patologi Anatomi FKIK UMY sebagai tempat pengamatan preparat histologik.
4. Waktu penelitian dimulai dari bulan Februari-Maret 2018.

D. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Berdasarkan Dayrit (2013) dosis untuk manusia adalah 45 ml/50 KgBB sehingga dikonversikan ke manusia dengan BB 70 Kg menjadi 63 ml/70 KgBB. Kemudian dikonversikan ke dalam Variabel penelitian yang dipakai antara lain:

- a. Variabel bebas : Pemberian VCO
dosis untuk tikus menggunakan tabel konversi hewan-manusia menjadi $63 \text{ ml}/70 \text{ KgBB} \times 0,018 = 1,134 \text{ ml}/200\text{gr}$.
Sehingga dibulatkan menjadi 1 ml/200 gram.
- b. Variabel tergantung : Gambaran histopatologi hepar
- c. Variabel terkendali :
 - i. Faktor genetik menggunakan tikus satu galur yaitu tikus wistar dan dilakukan randomisasi dalam menentukan sampel
 - ii. Kondisi kandang dan pakan yang sama

2. Definisi Operasional

- a. VCO yang diberikan adalah salah satu produk VCO yang dijual di pasaran.

E. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan elektronik
- c. Kanula pencekok tikus
- d. Alat untuk membuat preparat hepar, seperti : mikroskop, *minor set*, kontainer.
- e. Kaca objek
- f. Mikrometer

2. Bahan

- a. Tikus putih 24 ekor
- b. VCO
- c. Parasetamol

LD-50 untuk tikus secara peroral adalah 2000 mg/KgBB.

Maka diberikan setengah dari LD-50 perhari selama 2 hari yaitu hari ke-1 dan ke-2. Dosis yang digunakan adalah:

$$2000 \text{ mg/KgBB} \times 0,5 = 1200 \text{ mg/KgBB} = 200 \text{ mg}/200 \text{ gram}$$

- d. Satu set bahan kimia untuk pembuatan preparat histologi hepar dengan metode parafin dan pewarnaan HE
- e. *Chloral Hydrate* 3,5 % sebagai anestetik
- f. Formalin 10 % sebagai pengawet organ
- g. Xylazine injeksi *intramuscular* sebagai analgesik

Dosis analgesik xylazine untuk tikus percobaan adalah 5 mg/kgbb IM. Maka diberikan 1 mg/200gr satu kali sehari untuk mengurangi rasa nyeri

F. Jalannya Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan, meliputi :
 - a. Pembelian kandang dan kawat kassa
 - b. Pembelian tikus yang sesuai
2. Pelaksanaan perlakuan

- a. Pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-9

Kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 diberi diet standar yaitu pelet dan akuades.

- b. Pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-2

Kelompok K(+), P1 dan P2 diberi parasetamol dosis 200 mg/200gr, serta diberi xylazine 1 mg/200gr

- c. Pada hari ke-3 sampai dengan hari ke-9

Kelompok P1 dan P2 diberi VCO dengan dosis masing-masing 1 ml/200gr/hari dan 3 ml/200gr/hari

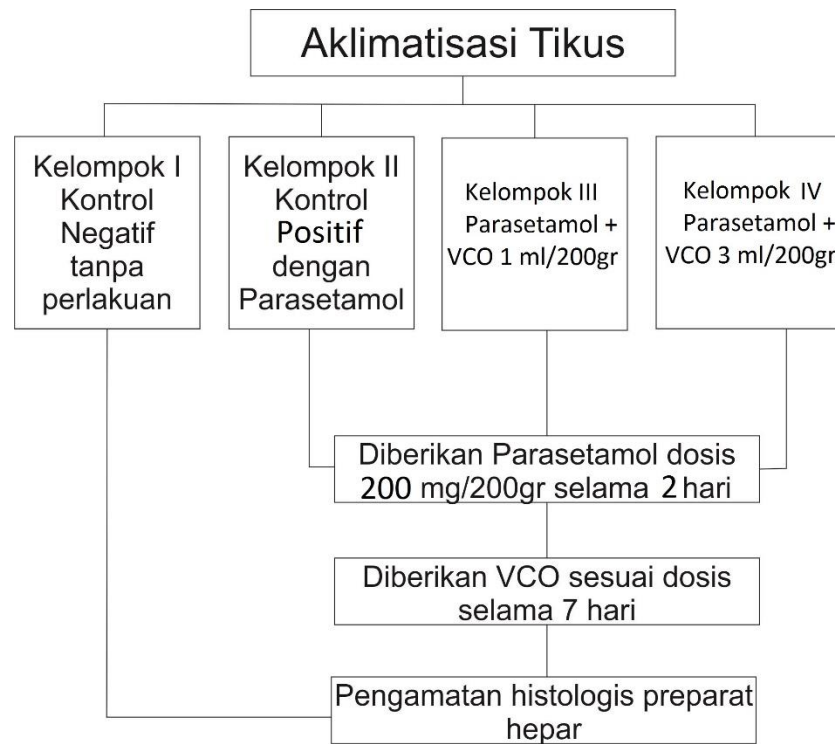
3. Pemeriksaan

Pada hari ke-10, tikus didekapitasi kemudian organ hepar difiksasi menggunakan cairan buffer formalin 10%. Hepar dibuat preparat dengan pengecatan hematoksilin-eosin dan dianalisis dengan mikroskop cahaya.

Kerusakan hepar akibat parasetamol pada penelitian ini dilihat dengan menilai 40 hepatosit di zona sentral dan dinilai menggunakan skor Manja-Roenigk sebagai berikut:

Tabel 4. Kriteria Penilaian Manja-Roenigk (Asri, 2016)

Tingkat Kerusakan	Skor Manja-Roenigk
Normal	1
Degenerasi Parenkim	2
Degenerasi Hidropik	3
Nekrosis	4



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

G. Analisis Data

Analisis data histologis hepar tiap kelompok dianalisis secara statistik dengan uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dilanjutkan dengan uji Tukey untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan.

H. Kesulitan Penelitian

Kesulitan dalam penelitian ini adalah derajat kerusakan hepar tidak dapat diukur secara fungsional karena tidak dilakukan pemeriksaan enzim hepar seperti AST dan ALT.

I. Etik Penelitian

Penelitian ini dinilai kelayakannya oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk mendapatkan *ethical clearance*. Penelitian ini menggunakan hewan coba dengan prinsip 5 kebebasan yaitu kebebasan dari lapar dan haus, kebebasan dari ketidaknyamanan, kebebasan dari nyeri, cedera atau penyakit, kebebasan untuk berperilaku secara normal, dan kebebasan dari ketakutan dan tekanan.