

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Ruang Lingkup Penelitian

3.1.1. Lingkup Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang, Laboratorium Sentral Rumah Sakit Nasional Diponegoro, Laboratorium Patologi Anatomi Universitas Diponegoro.

3.1.2. Lingkup Waktu

Penelitian ini dilakukan pada bulan April-Mei 2016.

3.1.3. Lingkup Ilmu

Ilmu Anatomi, Ilmu Patologi Anatomi, Ilmu Farmakologi, Ilmu Kedokteran Forensik, Ilmu Neurologi.

3.2. Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini, maka jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Menggunakan 3 (tiga) kelompok, yaitu 1 (satu) kelompok perlakuan, 1 (satu) kelompok kontrol positif, dan 1 (satu) kelompok kontrol negatif. Pengamatan hanya dilakukan pada saat *post test*, dengan membandingkan hasil observasi antara kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan.

3.3. Variabel Penelitian

3.3.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ranitidin.

3.3.2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah derajat nekrosis neuron pada hipokampus tikus wistar dengan intoksikasi metanol akut.

3.4 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi operasional variabel

| No | Variabel | Definisi Operasional dan Cara Pengukuran | Skala | Nilai |
|----|-----------|---|---------|---|
| 1. | Metanol | Dosis yang akan digunakan adalah dosis letal metanol yaitu 14g/kgbb <i>single dose</i> per oral yang diukur dengan menggunakan pipet ukur. ² | Nominal | Ditetapkan berdasarkan penelitian sebelumnya |
| 2. | Ranitidin | Dosis ranitidin yang akan diberikan adalah 30 mg/kg intraperitoneal <i>single dose</i> 1 jam setelah pemberian metanol. Pengukuran dosis diukur dengan menggunakan pipet ukur. ⁴ | Nominal | Ditetapkan berdasarkan penelitian sebelumnya. |

| | | | | |
|----|--|---|---------|---|
| 3. | Jumlah nekrosis neuron pada hipokampus | Pengukuran ini dilakukan dengan melihat preparat histopatologi di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x. Dihitung jumlah kerusakan sel neuron tikus wistar dalam 100 sel neuron kemudian dihitung dalam bentuk persentase dengan derajat kerusakan neuron yang kemudian dikelompokkan berdasarkan <i>grading</i> nekrosis neuron hipokampus. | Ordinal | 0% =Grade 0 1-25% =Grade 1 26-50% =Grade 2 51-75% =Grade 3 76-100% =Grade 4 |
|----|--|---|---------|---|

3.5. Populasi dan Sampel

3.5.1. Populasi Penelitian

a. Populasi Target

Populasi yang diteliti adalah tikus Wistar.

b. Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah tikus Wistar yang diperoleh dari

Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

3.5.2. Sampel Penelitian

3.5.2.1. Kriteria Inklusi

a. Tikus Wistar jantan

- b. Usia 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-250 gram
- d. Dalam keadaan sehat
- e. Tidak ada kelainan anatomi

3.5.2.2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus Wistar mati sewaktu adaptasi

3.5.2.3. Besar Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan berdasarkan ketentuan WHO yaitu minimal 5 (lima) ekor tikus pada masing-masing kelompok.⁴² Sehingga pada penelitian ini akan digunakan 15 (lima belas) ekor tikus Wistar yang dibagi dalam 1 (satu) kelompok perlakuan, 1 (satu) kelompok kontrol positif, serta 1 (satu) kelompok kontrol negatif yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus wistar.

3.5.2.4. Cara Pengambilan Sampel

Untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan dengan *allocation random sampling*. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus Wistar yang sudah memenuhi kriteria inklusi sehingga dianggap cukup homogen.

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat untuk perlakuan

- a. Kandang tikus Wistar
- b. Sonde

3.6.2. Alat untuk bedah minor

- a. Pisau skapel
- b. Pinset bedah
- c. Gunting

3.6.3. Alat untuk pemeriksaan histopatologis

- a. Mikroskop
- b. *Object glass*
- c. Botol-botol

3.6.4. Bahan

Bahan untuk percobaan ini :

- a. Tikus Wistar sebagai subjek penelitian
- b. Ranitidin
- c. Metanol 99% (Spiritus)
- d. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan yaitu larutan Bouin, larutan buffer formalin 10%, parafin, albumin, hematoksilin eosin, larutan xylol, alkohol 30%, alkohol 40%, alkohol 50%, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, dan akuades.

3.7. Cara Pengumpulan Data

3.7.1. Jenis data

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian berupa tingkat kerusakan sel neuron pada hipokampus tikus *Wistar* dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.7.2. Alur penelitian

Sejumlah 15 ekor tikus *Wistar* jantan akan dilakukan adaptasi selama 2 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minuman yang sama (*ad libitum*).

Pada hari ke-3, tikus *Wistar* dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus yang diberi tanda pada daerah yang berbeda yaitu tanpa tanda, kepala, dan punggung. Selanjutnya masing-masing tikus ditimbang dan dilakukan pemeriksaan fisik dengan cara inspeksi.

Ke-3 kelompok tersebut adalah :

Kontrol negatif : tidak diberi metanol

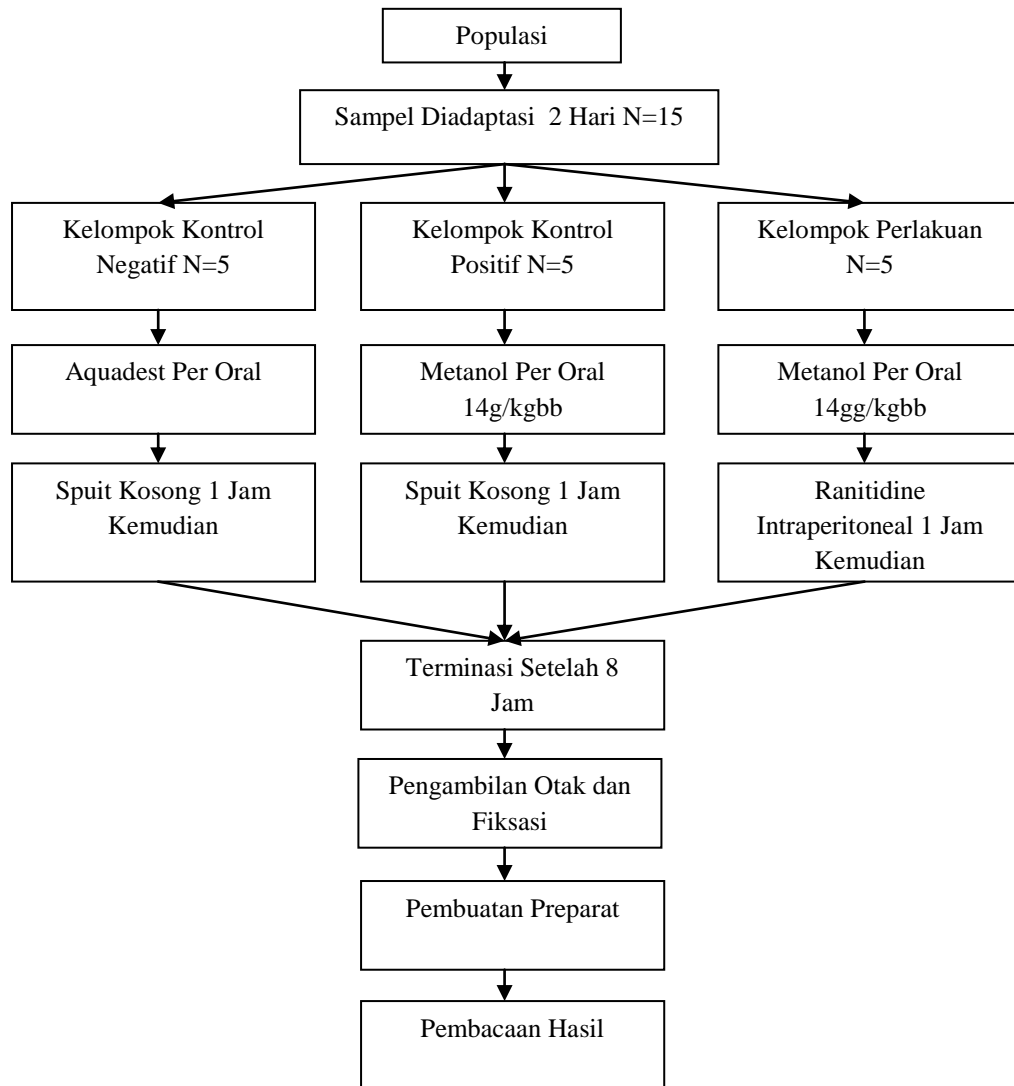
Kontrol positif : diberi metanol 14g/kgbb

Perlakuan : diberi metanol 14g/kgbb + ranitidin 30mg/kgbb

Kelompok kontrol negatif diberi aquades per oral dan ditusuk di perut. Kelompok kontrol positif diberi metanol dengan dosis letal per oral dan ditusuk di perut. Kelompok perlakuan diberi larutan metanol dosis letal per oral dan ranitidin per intraperitoneal 1jam setelah pemberian metanol. Pemberian metanol diberikan dengan sonde sampai habis. Setelah itu tikus akan didekapitasi setelah waktu yang ditentukan yaitu 8 jam.

Setelah tikus didekapitasi, selanjutnya dilakukan autopsi untuk pengambilan otak tikus dengan potongan -0.82 *anterior bregma* untuk mendapatkan gambaran hipokampus. Organ otak tersebut kemudian dimasukkan ke dalam botol plastik berisi larutan buffer formalin 10% untuk diolah mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan Hemaktosilin Eosin (HE). Pembacaan dilakukan pada area CA 1 sampai CA 2 hingga didapatkan 100 sel dan dikelompokkan.

Data pemeriksaan ditulis dalam formulir untuk kemudian dianalisa. Untuk menghindari bias, analisa hasil akan dilakukan dengan menggunakan teknik *double blind*, dimana kedua pemeriksa tidak tahu tiap-tiap anggota kelompok perlakuan maupun kontrol sehingga diharapkan akan diperoleh hasil pemeriksaan yang objektif.



Gambar 9. Alur Penelitian

3.8. Pengolahan dan Analisa Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 23.00 dan diuji normalitas dengan *Saphiro-Wilk*. Distribusi data pada penelitian ini tidak normal sehingga dilanjutkan dengan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

3.9. Etika Penelitian

Etika penelitian diajukan ke Komisi Etik Fakultas Kedokteran UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan nomor 551/EC/FK-RSDK/2016.