

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Rancangan untuk penelitian ini adalah *Post Test-Only, Control Group Design*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek *patchouli alcohol* terhadap gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus yang diinduksi indometasin.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

4.2.2 Sampel Penelitian

Terdapat 5 kelompok perlakuan dalam penelitian ini, maka jumlah binatang coba untuk masing-masing perlakuan dapat dicari dengan rumus $n = (15 + p) : p$ (Indra, 1999), dimana n = jumlah pengulangan tiap perlakuan dan p = jumlah perlakuan. Dari sejumlah sampel ini akan diuji dengan level signifikansi 95%.

$$n = (15+p) : p$$

$$n = (15+5) : 5$$

$$n = 4$$

Dari hasil perhitungan di atas, dibutuhkan jumlah sampel sebanyak 4 ekor tikus pada tiap kelompok perlakuan apabila dilakukan 5 perlakuan sehingga total jumlah sampel yang dibutuhkan adalah 20 ekor tikus dengan perincian sebagai berikut.

Tabel 4.1 Pembagian Kelompok Perlakuan

Kelompok	Perlakuan	Jumlah
Kontrol Negatif (K-)	Diberi minyak jagung	4
Kontrol Positif (K+)	Induksi indometasin 30 mg/kg/BB	4
Perlakuan 1 (P1)	Induksi indometasin 30 mg/kgBB + <i>patchouli alcohol</i> 10 mg/kgBB	4
Perlakuan 2 (P2)	Induksi indometasin 30 mg/kgBB + <i>patchouli alcohol</i> 20 mg/kgBB	4
Perlakuan 3 (P3)	Induksi indometasin 30 mg/kgBB + <i>patchouli alcohol</i> 40 mg/kgBB	4

4.2.3 Kriteria Sampel

4.2.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus berjenis kelamin jantan
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-200 gram
- d. Kondisi sehat, aktif, dan tidak ada kelainan anatomik

4.2.3.2 Kriteria Eksklusi

Tikus yang sakit dan mati selama masa perlakuan

4.2.3.3 Kriteria Drop Out

Tikus dinyatakan drop out apabila sesuai kriteria eksklusi dan diganti tikus lain yang sesuai dengan kriteria inklusi, sehingga didapat jumlah tikus sesuai ketentuan sampel.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas (Independen)

Variabel bebas dari penelitian ini adalah dosis *patchouli alcohol*.

4.3.2 Variabel Terikat (Dependen)

Variabel terikat dari penelitian ini adalah gambaran histopatologi epitel mukosa lambung tikus.

4.4 Tempat dan Waktu Penelitian

4.4.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan selama 1 bulan, mulai dari 6 Juni 2016 sampai 6 Juli 2016.

4.5 Alat dan Bahan Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

4.5.1.1 Bahan untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Pakan tipe ABS dicampur dengan tepung terigu dan air
- b. Sekam

4.5.1.2 Bahan untuk Perlakuan Hewan Coba

- a. Indometasin 30mg/kgBB (Purnawati, 2009)
- b. Akuades untuk melarutkan indometasin
- c. *Patchouli alcohol*
- d. Minyak jagung untuk melarutkan *patchouli alcohol*

4.5.1.3 Bahan untuk Pengambilan Organ Hewan Coba

- a. *Chloroform*
- b. Air untuk mencuci lambung

4.5.1.4 Bahan untuk Pembuatan Preparat

- a. Lambung tikus
- b. Formalin 10%

- c. Alkohol 80%, 95%, 96%, dan 100%
- d. Alkohol asam
- e. Parafin
- f. *Xylol*
- g. *Counter staining*
- h. *Canadian balsem* atau *Entellan*
- i. Putih telur
- j. Air
- k. Cat Hematoksilin-Eosin (*Haris Hematoxilen*)

4.5.2 Alat Penelitian

4.5.2.1 Alat untuk Pemeliharaan Hewan Coba

- a. Kandang tikus berupa kotak plastik yang diisi sekam dan ditutup dengan kawat. Ukuran kandang 15cm x 30 cm x 42 cm, masing masing kandang berisi 4 ekor tikus
- b. Wadah air minum tikus
- c. Spidol untuk memberi identitas pada tikus

4.5.2.2 Alat untuk Penimbangan Berat Badan Hewan Coba

- a. Timbangan

4.5.2.3 Alat untuk Pembuatan Ekstrak

- a. Neraca analitik
- b. Cawan petri

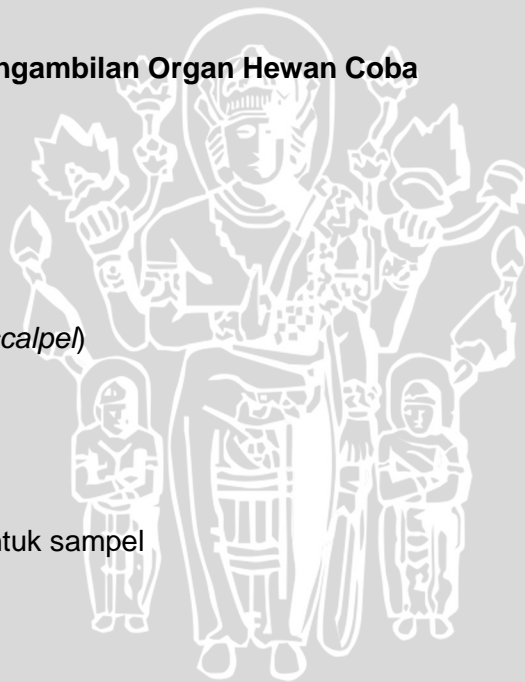
- c. Gelas ukur
- d. Botol plastik untuk sampel
- e. Pengaduk

4.5.2.4 Alat untuk Pemberian Indometasin dan *Patchouli Alcohol*

- a. Sonde
- b. Spuit 1 cc

4.5.2.5 Alat untuk Pengambilan Organ Hewan Coba

- a. Handschoen
- b. Papan bedah
- c. Pinset
- d. Pisau bedah (*scalpel*)
- e. Gunting
- f. Jarum
- g. Botol plastik untuk sampel



4.5.2.6 Alat untuk Pembuatan Preparat

- a. *Object glass*
- b. *Cover glass*
- c. *Rotatory microtome*

4.5.2.7 Alat Penilaian Gambaran Histopatologi Mukosa Lambung

- a. Mikroskop cahaya
- b. Kamera digital
- c. Program komputer untuk pengambilan gambar
- d. Alat tulis

4.6 Definisi Operasional

a. *Patchouli Alcohol*

Patchouli alcohol diperoleh dari Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Dosis yang digunakan sebesar 10mg/kgBB, 20mg/kgBB, dan 40mg/kgBB (Zheng, 2014). *Patchouli alcohol* diberikan secara peroral kepada tikus sebanyak tiga kali menggunakan sonde. *Patchouli alcohol* dilarutkan dalam minyak jagung.

b. Deskuamasi Epitel Mukosa Lambung

Disebut sebagai deskuamasi jika ada kerusakan atau pengangkatan pada sel epitel mukosa lambung berdasarkan dengan skoring modifikasi skor integritas epitel mukosa Barthel Manja (Manja, 2003).

c. Erosi Epitel Mukosa Lambung

Disebut sebagai erosi jika terdapat gap 1-10 sel epitel pada lesi mukosa lambung tiap lapang pandang berdasarkan dengan skoring modifikasi skor integritas epitel mukosa Barthel Manja (Manja, 2003).

d. Ulserasi Epitel Mukosa Lambung

Disebut sebagai ulserasi jika terdapat gap >10 sel epitel pada lesi mukosa lambung tiap lapang pandang berdasarkan dengan skoring modifikasi skor integritas epitel mukosa Barthel Manja (Manja, 2003).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan Hewan Coba

Persiapan dimulai dengan mempersiapkan alat dan bahan penelitian yang akan digunakan, serta melakukan seleksi tikus berdasarkan kriteria inklusi. Dilakukan adaptasi terhadap tikus selama 1 minggu. Pakan yang digunakan untuk tikus adalah pakan ayam jenis ABS dicampur dengan tepung terigu dan air.

4.7.2 Induksi Indometasin dan Pemberian *Patchouli Alcohol*

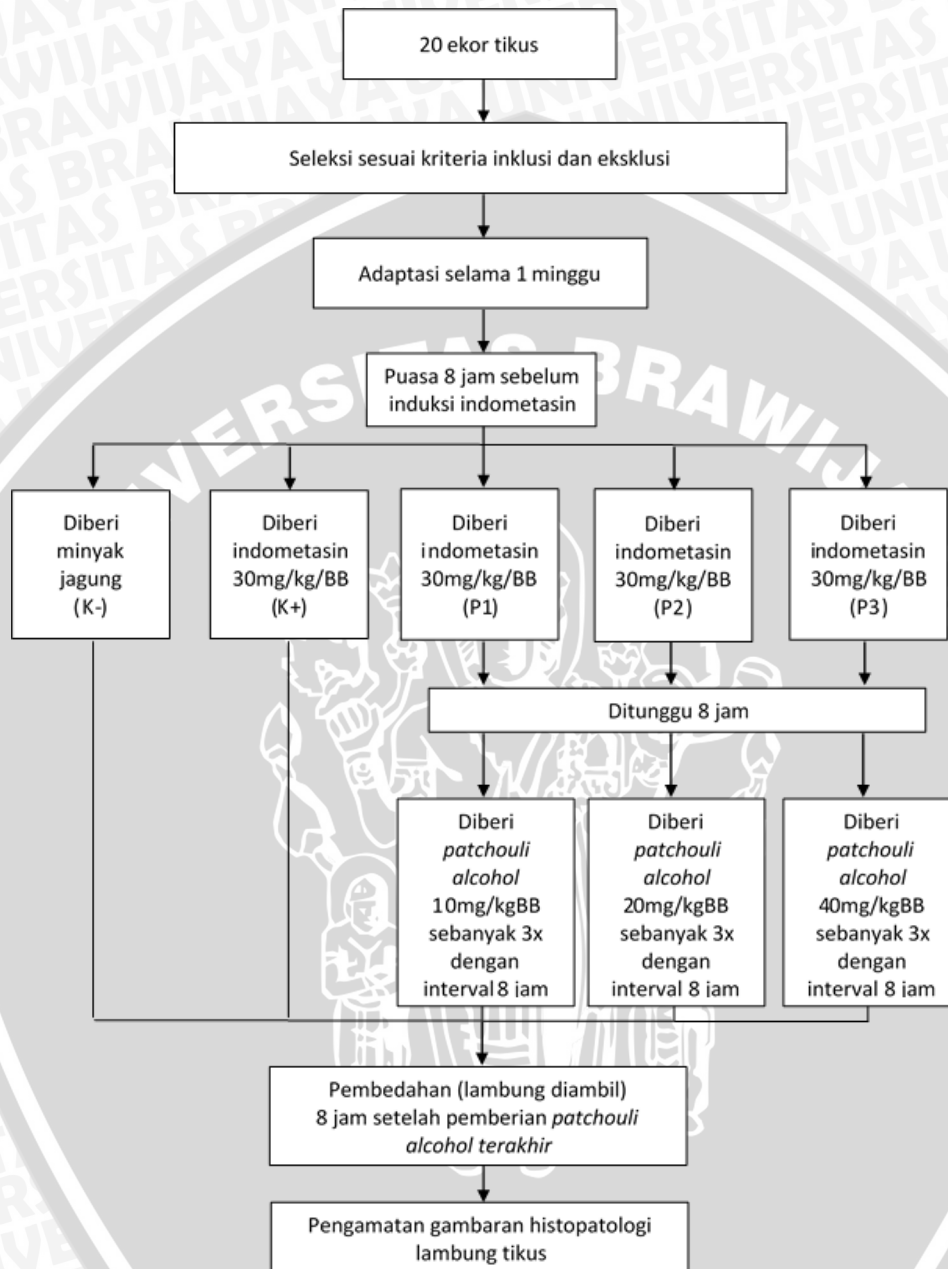
Indometasin dengan dosis 30 mg/kgBB (Purnawati, 2009) dilarutkan dalam akuades, kemudian diberikan pada tikus secara per oral. Selanjutnya, *patchouli alcohol* dilarutkan dalam minyak jagung dan diberikan secara per oral dengan dosis 10 mg/kgBB, 20 mg/kgBB, dan 40 mg/kgBB. Pemberian indometasin dan *patchouli alcohol* menggunakan sonde.

Indometasin diberikan kepada tikus setelah tikus dipuaskan 8 jam sebelumnya. 8 jam setelah pemberian indometasin, *patchouli alcohol* diberikan kepada tikus sebanyak 3x dalam 24 jam (interval 8 jam).

4.7.3 Pengambilan Organ Hewan Coba dan Pembuatan Preparat

Setelah tikus diinduksi dengan indometasin dan diberi *patchouli alcohol*, dilakukan pembedahan pada tikus. Sebelumnya, tikus dieutanasia menggunakan *chloroform*. Setelah itu, tikus dibedah, kemudian lambungnya diambil untuk diamati gambaran histopatologi epitel mukosa lambung. Pembuatan preparat histopatologi menggunakan pengecatan HE. Dilakukan pemotongan secara melintang pada area yang dipilih (*selective sampling*).

4.7.4 Bagan Alur Penelitian



4.7.5 Metode Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara observasi eksperimental oleh peneliti. Setelah pembedahan, dilakukan observasi pada slide histo yang dibuat di laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya. Pengamatan preparat histologi menggunakan perbesaran 400x.

4.8 Analisis Data

Data hasil penelitian disajikan dalam $\text{mean} \pm \text{SD}$, kemudian dianalisis dengan statistik parametrik menggunakan One Way ANOVA setelah memenuhi uji homogenitas varian dan uji normalitas data. Selanjutnya, dilakukan uji Post Hoc Tukey untuk mengetahui signifikansi hubungan antar kelompok perlakuan. Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui seberapa kuat hubungan antar variabel dan arah korelasi. Terakhir, dilakukan uji regresi linear untuk mencari persamaan guna prediksi skor kerusakan epitel minimum dan mengetahui persentase kuat hubungan antara variabel. Analisa data menggunakan program SPSS dengan derajat kepercayaan 95% dan $\alpha=0,05$. Uji statistik dinyatakan signifikan apabila $p < 0,05$.