

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini menggunakan metode eksperimen murni dengan pendekatan *Cross Sectional*.

B. Subjek Penelitian

1. Populasi Penelitian

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*, L.) galur Spraque Dawley, jantan yang didapatkan dari UPHP (Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*, L) galur Spraque dawley, jantan berjumlah 20 ekor yang didapatkan dari UPHP (Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Sampel yang digunakan adalah yang termasuk di dalam kriteria inklusi pada penelitian ini. Adapun kriteria inklusi & eksklusi sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi :

- (1) Tikus putih (*Rattus norvegicus*, L) galur Spraque dawley, jantan,
- (2) Berumur 3 bulan,
- (3) Berat badan 200 gram – 300 gram

b. Kriteria Eksklusi :

- (1) Terdapat abnormalitas anatomi yang tampak oleh mata
- (2) Tikus tampak sakit, tidak bergerak secara aktif
- (3) Tikus yang mati selama penelitian

3. Cara Pengambilan Sampel

Cara pengambilan sampel pada penelitian ini adalah secara *Random Sampling*.

C. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

Variabel-variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Variabel bebas :

Gel lidah buaya (*Aloe vera*) 1,5ml/200grBB/hari (Kotiah, 2007).

b. Variabel terikat :

Gambaran histologi organ lidah, khususnya epitel, yaitu : Ketebalan epitel lingua.

c. Variabel kontrol :

- (1) Asap rokok *mainstream* kretek filter
- (2) Faktor genetis
- (3) Cara pemeliharaan tikus
- (4) Berat badan tikus
- (5) Umur tikus

2. Definisi Oprasional

- a. Gel *Aloe vera* adalah hasil saringan *Aloe vera* segar yang telah dikupas dan diblender kemudian diberikan gel yang jumlahnya 1,5ml/grBB/hari yang diberikan secara oral pada hewan uji (Kotiah, 2007).
- b. Ketebalan epitel lidah adalah ketebalan melintang epitel lidah hewan uji yang diukur dengan perangkat Optilab dengan perbesaran lemah (10X).
- c. Asap rokok *mainstream* adalah asap rokok yang dihirup langsung oleh hewan uji menggunakan *chip blower* sebanyak 15 hirupan tiap perlakuannya (dua kali sehari).

3. Instrumen Penelitian

a. Alat Penelitian

- (1) Alat pemeliharaan tikus adalah kandang besi strimin, digunakan untuk pemeliharaan 5 ekor tikus tiap kelompok. Pada bagian bawah kandang diberi kawat strimin halus untuk alas tikus dan dibawahnya diberi alas untuk menampung kotoran dan air seni tikus.
- (2) Tempat pakan dan minum tikus
- (3) Alat inhalasi (pipa rokok dan *chip blower*)
- (4) Mikroskop cahaya
- (5) Perangkat Optilab
- (6) Kamera digital
- (7) Blender
- (8) Sonde

- (9) Alat bedah minor
- (10) Seperangkat pembuatan preparat histologi

b. Bahan Penelitian

- (1) 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur Spraque Dawley, jantan, berumur 3 bulan dengan berat 200-300 gram
- (2) Rokok kretek filter dan korek api
- (3) Daun lidah buaya (*Aloe vera*)
- (4) Formalin 10%
- (5) Pakan standar dan air minum tikus
- (6) Asam Hematoxyline
- (7) 0,5% larutan Eosin
- (8) Alkohol 95%, 100%
- (9) *Xylene clarite* atau balsam

4. Cara Pengumpulan Data

Dua puluh ekor tikus dibagi menjadi 4 kelompok. Hari ke-1 sampai 32 hewan uji diberikan perlakuan sesuai kelompoknya dan hari ke-33 hewan uji dikorbankan. Selanjutnya dibuat preparat histologi untuk diamati ukuran gambaran histologis epitel lidah. Preparat/sediaan organ dibuat dengan metode parafin, dengan teknik pewarnaan HE.

a. Tempat Penelitian

- (1) Tempat pemeliharaan hewan uji, perlakuan, dan pembedahan dilaksanakan di UPHP (Unit Pemeliharaan Hewan Penelitian) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- (2) Pembuatan preparat mikroskopik dilakukan di Laboratorium Mikroskop Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
- (3) Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

b. Pembagian Kelompok dan Perlakuan

Hewan uji yang telah dikandangkan sesuai kelompoknya menerima perlakuan sesuai kelompoknya. Pemilihan kelompok perlakuan dilakukan secara acak, dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Tiap ekor tikus ditandai begitu juga perkelompoknya untuk memudahkan pengamatan dan pemberian perlakuan.

Adapun pembagian kelompok secara acak dan perlakuan masing-masing kelompok adalah :

1) Kelompok 1

Kelompok yang tidak diberi perlakuan apapun

(2) Kelompok 2

Kelompok perlakuan dengan pajanan asap rokok *mainstream* dua kali sehari sebanyak 15 hirupan tiap perlakuan

3) Kelompok 3

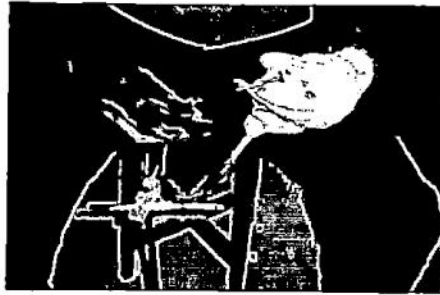
Kelompok perlakuan dengan pemberian gel lidah buaya (*Aloe vera*) 1,5ml/200gr BB/hari sebanyak dua kali sehari.

4) Kelompok 4

Kelompok perlakuan dengan pajanan asap rokok *mainstream* dan pemberian gel *Aloe vera* dengan dosis 1,5ml/200gr BB/hari

c. Pemaparan Asap Rokok

Pangkal rokok dipasang pada pipa kemudian disambungkan alat bantu yang bernama *chip blower*. Sebatang rokok dinyalakan dengan korek api. Alat bantu tersebut dimasukkan ke dalam mulut tikus putih, kemudian asap rokok dihisap dan dihembuskan ke dalam mulut tikus sehari 2kali, pagi dan sore masing - masing 15 kali hembusan, dengan bantuan *chip blower* (yuningtyaswari, 2002).



Gambar 2. Cara Pengasapan

d. Penentuan Dosis Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*)

Dosis yang dipakai pada penelitian ini adalah 1,5ml/200grBB/hari karena ada penelitian sebelumnya telah terbukti dengan dosis tersebut gel lidah buaya dapat berefek (Kotiah, 2007)

e. Pembuatan Gel Lidah Buaya (*Aloe vera*) dan Pemberian pada hewan uji

- (1) Daun lidah buaya (*Aloe vera*) yang telah dicuci bersih
- (2) Diambil daging daunnya (gel) dengan membuang permukaan atas dan bawah
- (3) Diblender
- (4) Disaring dengan corong, endapan yang tersaring dibuang, cairannya diambil
- (5) Diberikan secara oral (sonde) pada hewan uji sebanyak dua kali sehari dengan dosis 1,5ml/200grBB/hari

f. Pembuatan Preparat Histologi Epitel Lingua dengan Pewarnaan HE

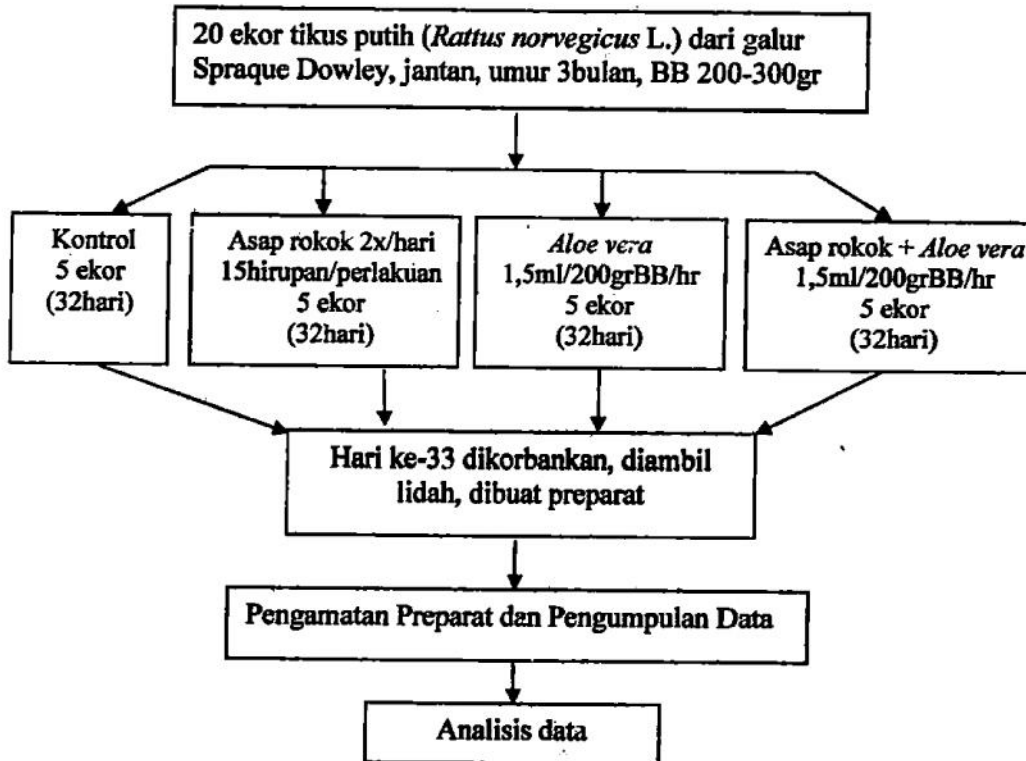
- (1) Lidah yang diambil disimpan dalam formalin 10% (Hau *et al.*, 2003) kemudian dicuci dengan air mengalir.
- (2) Memproses preparat dengan metode parafin dengan pewarnaan HE.

g. Pengamatan Preparat Histologi

Preparat diamati dengan mikroskop yang dihubungkan dengan perangkat Optilab menggunakan perbesaran 10x10 dengan mengamati gambaran histologi epitel lidah. Pengamatan lebih di fokuskan pada

ketebalan epitel lidah. Setiap preparat diamati 5 lapang pandang dan diukur epitel yang panjang dan pendek, kemudian di ambil rata – ratanya.

Berikut bagan alur penelitian yang telah dilakukan :



Gambar 3. Alur Penelitian

5. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan Uji statistik perbandingan. Pada hasil analisis, apabila sebaran data tidak normal atau variansi berbeda, analisis dilakukan dengan menggunakan Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji post hoc Mann-Whitney.

6. Etika Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) galur Spraque Dawley, jantan yang tak lepas dari proteksi hak tikus sebagai makhluk hidup. Perlakuan yang diberikan pada tikus ini tidak melanggar kode etik terhadap makhluk hidup. Selama penelitian pun hewan uji dirawat dan diperlakukan sesuai etika penelitian. Saat akhir penelitian diperlukan diambilnya lidah tikus jantan ini, maka tikus pun dibunuh dengan cara yang tidak menyiksa dan terlalu lama.