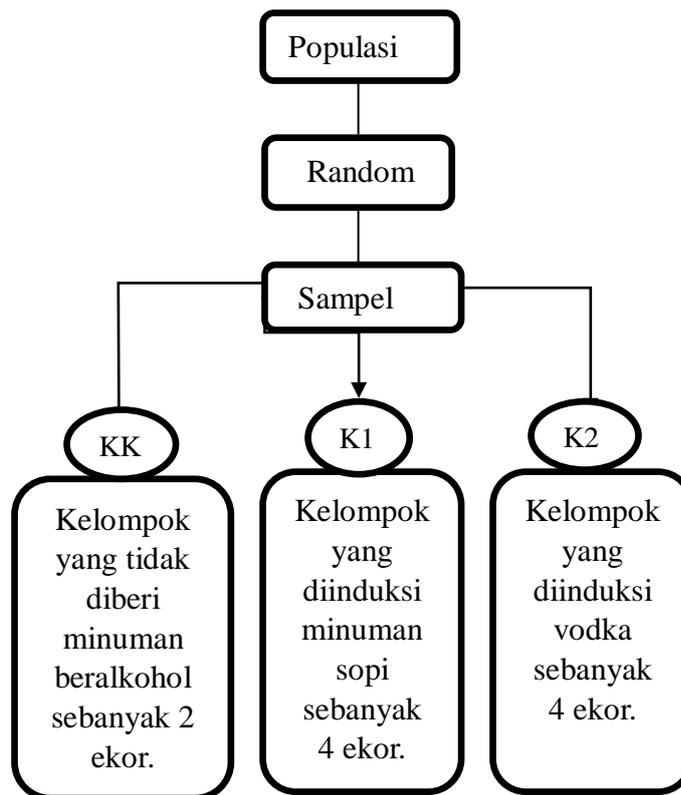


BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimen sungguhan (*true experiment*) dengan desain *post-only control group* untuk membandingkan hasil pengamatan histopatologis dari hati mencit menggunakan minuman beralkohol sopi dan vodka sebagai perlakuan, dengan yang tidak diberikan minuman beralkohol sebagai kontrol. Dengan rancangan penelitian sebagai berikut:



Gambar 4. Skema Penelitian

B. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat

a. Tempat Perlakuan

Dilakukan dikandang yang disiapkan peneliti.

b. Tempat Penelitian

1. Pembedahan dilakukan di Laboratorium FKH Undana
2. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Prof. DR.W. Z. Johannes Kupang.

2. Waktu

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2024.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah sopi dan vodka yang diinduksikan pada mencit.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah histologi hati mencit.

D. Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang digunakan berupa organ hati dari 10 ekor mencit berumur 1 bulan yang telah diinduksi dengan sopi tradisional, vodka dan yang tidak diberi alkohol sebagai kontrol.

E. Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Pengukuran	Hasil pengamatan	Skala Data
Minuman Beralkohol	Jenis minuman beralkohol yang dimaksud adalah sopi dan vodka. Sopi adalah minuman hasil fermentasi secara tradisional dari nira lontar. Vodka adalah jenis minuman beralkohol berkadar tinggi bening, dan tidak berwarna, yang biasanya disuling dari gandum yang difermentasi.	Observasi	Sopi Vodka	Nominal
Hati mencit	Organ hati mencit adalah organ yang digunakan dalam penelitian yang diambil organnya setelah dinduksi minuman beralkohol selama 14 hari.	Hati dibedah	-	Nominal
Gambaran hasil pengamatan sediaan histologi	Gambaran hasil pengamatan sediaan histologi adalah hasil Pengamatan	Mikroskopis	Skor (0) Tidak ada perubahan histologis Skor (1) Terjadi Kerusakan Pada kurang dari sepertiga lapang pandang Skor (2)Terjadi kerusakan pada Sepertiga	Ordinal

hingga dua
pertiga lapang
pandang
Skor (3)
Terjadi
kerusakan pada
lebih dari dua
per tiga lapang

F. Prosedur Penelitian

1. Mengajukan proposal penelitian dan mendapatkan persetujuan dari pembimbing penelitian
2. Seminar proposal penelitian
3. Pengajuan etik penelitian
4. Pengajuan dan pengurusan permohonan ijin penelitian
5. Survei tempat penelitian yaitu, di RSUD Prof. Dr. W. Z. Johannes Kupang
6. Pelaksanaan penelitian
7. Prosedur penelitian
 - a. Alat

Mikrotom, gelas kimia, gelas ukur, *hot plate*, blok parafin, *waterbath*. mikroskop, kuas, *stopwatch*, alkoholmeter, *objek glass* dan *deck glass*.
 - b. Bahan

Mencit, Hematoxylin Eosin, alkohol 95%, alkohol 100%, sopi, vodka, xylol, aquades, *blueing*, tisu, entelan, air mengalir dan minyak imersic.

c. **Prosedur Kerja**

Prosedur kerja yang dilakukan dimulai dari pemberian minuman sopi, vodka, mengambil jaringan, dan dihasilkan preparat yang siap untuk diperiksa secara mikroskopis. Rangkaian proses pembuatan sajian histologi adalah sebagai berikut :

- 1) Proses pemberian minuman sopi, vodka, pada mencit
- 2) Mendapatkan jaringan
- 3) Fiksasi
- 4) Dehidrasi
- 5) *Clearing*
- 6) *Embedding*
- 7) *Cutting*
- 8) *Mounting*
- 9) *Staining*
- 10) *Labeling*

d. **Proses pemberian minuman sopi, vodka, pada mencit .**

- 1) Mencit dengan jumlah 10 ekor dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, yaitu:
 - a) Kelompok kontrol (KK) yang tidak diberi minuman beralkohol sebanyak 2 ekor.
 - b) Kelompok 1 (KI) yang diinduksi minuman sopi tradisional sebanyak 4 ekor.
 - c) Kelompok 2 (K2) yang diinduksi vodka sebanyak 4 ekor

Seluruh mencit diberi waktu adaptasi selama 1 minggu dan diberi makan pelet 511 dan minum air mineral.

- 2) K1 diberi minuman sopi tradisional sebanyak 1 x 0.5 ml per hari.
 - 3) K2 diberi vodka sebanyak 1 x 0.5 ml per hari.
 - 4) Pemberian perlakuan pada masing-masing kelompok melalui jalur oral dengan bantuan spuit injeksi dan jarum gavage selama 14 hari.
 - 5) Pada hari ke 15, mencit dibedah dan diambil organ hatinya oleh dokter hewan.
- e. Pembuatan sediaan histologi
- 1) Fiksasi
Sampel organ yang telah dibedah kemudian dimasukan ke dalam wadah berisi *Neutral Buffer Formalin* 10% dengan waktu 12-24 jam (48 jam). Setelah perendaman organ dilakukan pemotongan. Setiap organ dipotong dengan ketebalan yang dibutuhkan.
 - 2) Dehidrasi
Merupakan proses pengeluaran seluruh cairan dari jaringan agar jaringan tersebut nantinya dapat diisi oleh parafin untuk membuat blok preparat.
 - a) Dehidrasi menggunakan larutan alkohol 70%: ½ jam
 - b) Dehidrasi menggunakan larutan alkohol 95%: ½ jam

- c) Dehidrasi menggunakan larutan alkohol 100%: ½ jam
- d) Dehidrasi menggunakan larutan alkohol 100%: 1 jam
- e) Xylol: ½ jam

3) *Clearing*

Tahapan *clearing* bertujuan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan karena alkohol dan paraffin tidak dapat bersatu, sehingga larutan yang dimasukan ke dalam jaringan dapat berikatan dengan paraffin. Urutan tahapan *clearing* adalah sebagai berikut:

- a) Xylol I: 1 jam
- b) Xylol II: 2 jam

4) Pembuatan blok paraffin

Pembuatan blok ini bertujuan agar nantinya dapat dipotong dengan mikrotom. Salah satu proses dari pembuatan adalah impregnasi yaitu pergantian toluene dengan paraffin cair, dengan urutan:

- a) Paraffin 2% jam
- b) Paraffin 4 jam

Kemudian jaringan dimasukan ke dalam blok paraffin

5) Pemotongan jaringan

Proses pemotongan ini menggunakan mikrotom, setelah blok paraffin berhasil dipotong, angkat potongan dengan kuas dan rendam ke dalam *waterbath* dengan suhu air 37-40°C hingga

potongan terlihat meregang. Ambil potongan dengan kaca objek yang dimasukkan ke dalam *waterbath*, masukkan ke dalam *inkubator* untuk mencairkan paraffin.

6) Pewarnaan HE

Tabel 3.2. Urutan Pewarnaan HE

No	Nama Reagen	Waktu
1	Xilol I	2 Menit
2	Xilol II	2 Menit
3	Xilol III	2 Menit
4	Alkohol absolut 100%	2 Menit
5	Alkohol absolut 100%	2 Menit
6	Alkohol absolut 100%	2 Menit
7	Air	5 Menit
8	HE lilie-Mayer	5 Menit
9	Air	8 Menit
10	Bluing	1 Menit
11	Air	2 Menit
12	Alkohol 95/96%	1 Menit
13	Eosin	1 Menit
14	Alkohol 95%	1 Menit
15	Alkohol 95%	1 Menit
16	Alkohol 100%	1 Menit
17	Alkohol 100%	1 Menit
18	Xylol I	1 Menit
19	Xylol II	4 Menit
20	Xylol III	4 Menit

7) *Mounting*

Jaringan yang telah diwarnai, ditetesi preparat menggunakan entelan 1 tetes kemudian ditutup dengan *deck glass*.

8) Pembacaan hasil sediaan

Diamati gambaran mikroskopis sediaan histologi yang telah diwarnai dengan pewarnaan HE, diamati kualitas ditutup dengan *deck* pewarna *hematoxylin* terhadap inti sel dan eosin terhadap

sitoplasma.

G. Analisis Hasil

1. Analisis Univariat

Analisis univariat digunakan untuk mengetahui karakteristik subjek penelitian serta mendeskripsikan tiap variabel yang diteliti. Data kategorik disajikan dalam bentuk distribusi frekuensi, rerata, nilai maksimum dan nilai minimum

2. Analisis Bivariat

Analisis bivariat dilakukan untuk melihat hubungan antara variabel bebas dengan variabel terikat. Oleh karena itu, dalam penelitian ini awalnya dilakukan analisis data menggunakan *Kruskal Wallis test*. Bila didapatkan $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan antar variabel bebas dengan variabel terikat. Jika didapatkan hasil $p > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan gambaran histopatologi hati mencit yang diinduksi minuman sopi tradisional dan vodka. Setelah dilakukan uji *Kruskal Wallis Test* dilakuakn uji *Whitney Test* untuk mengetahui perbedaan dari dua sampel yang independen