

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian menggunakan desain penelitian eksperimental murni dengan *post test only control group design*. Pengambilan hewan uji dengan cara randomisasi baik pada group kontrol maupun group perlakuan. Penelitian ini dilakukan pada hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar berusia 1 bulan dengan berat badan 100 – 150 gram. Tikus di paparkan dengan pengharum ruangan dan kemudian diinduksi dengan serbuk kurma.

B. Subyek Penelitian

Menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi:

1. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

a. Kriteria Inklusi :

Kriteria inklusi hewan coba pada penelitian ini :

- 1) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan
- 2) Galur wistar
- 3) Usia 1 bulan
- 4) Berat badan 150 – 200 gram
- 5) Hewan uji dirawat dalam ruangan dengan suhu sekitar 25 – 28°C

6) Tikus dalam keadaan sehat (lincah) dan tidak terdapat kelainan anatomi

7) Makanan yang diberikan berupa pakan hewan standar dan air mineral

b. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi hewan uji pada penelitian ini :

1) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang mati selama aklimatisasi dan perlakuan.

2) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang sakit selama aklimatisasi dan perlakuan dinilai dari berat badan dan keaktifannya.

3) Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang memiliki kelainan anatomis.

2. Jumlah Sampel

Penentuan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan rumus Federer:

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

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

$$7(n-1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

Keterangan:

k= jumlah kelompok

n= jumlah sampel dalam setiap kelompok

Pada penelitian ini jumlah sampel dalam tiap kelompok ditentukan sebanyak 4 ekor tikus putih (≥ 4) dan jumlah kelompok tikus putih ada 8, sehingga penelitian ini membutuhkan 32 ekor tikus putih dari populasi yang ada. Untuk mengantisipasi dari kekurangan sampel akibat kematian hewan uji (*drop out*), maka jumlah sampel dalam penelitian ini di tambahkan dengan rumus :

$$n' = \frac{n}{1 - f}$$

Keterangan :

n' = Besar sampel koreksi

n = Jumlah sampel berdasarkan estimasi

f = Perkiraan proporsi *drop out* sebesar 10%

$$n' = \frac{n}{1 - f}$$

$$n' = \frac{4}{1 - 10\%}$$

$$n' = \frac{4}{0,9}$$

$$n' = 4$$

Maka berdasarkan penghitungan diatas maka jumlah sampel di setiap kelompok ada 4. Sehingga jumlah total tikus yang digunakan sebanyak 32 ekor. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *allocation random sampling*. Pengelompokan dilakukan secara acak (*Simple Random Sampling*). Sampel terpilih dibagi menjadi delapan kelompok yaitu satu kelompok kontrol dan tujuh kelompok perlakuan dengan jumlah tikus 4 ekor tiap kelompok. Kelompok tersebut adalah :

- a. Kelompok kontrol (C) : kelompok yang tidak dipaparkan pengharum ruangan dan diinduksi serbuk kurma
- b. Kelompok kontrol negatif (P) : kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan selama 4 jam/hari
- c. Kelompok kontrol positif (K1) : kelompok yang diinduksi serbuk kurma dengan dosis 120 mg/KgBB
- d. Kelompok kontrol positif (K2) : kelompok yang diinduksi serbuk kurma dengan dosis 240 mg/KgBB
- e. Kelompok kontrol positif (K3) : kelompok yang diinduksi serbuk kurma dengan dosis 360 mg/KgBB
- f. Kelompok perlakuan (PK1) : kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 120 mg/KgBB

- g. Kelompok perlakuan (PK2) : kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 240 mg/KgBB
- h. Kelompok perlakuan (PK3) : kelompok yang dipaparkan pengharum ruangan 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 360 mg/KgBB

3. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung pada bulan Agustus – Oktober 2018 dengan lokasi :

- a. Pemeliharaan hewan uji dilakukan di kandang pemeliharaan hewan uji dan pembedahan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
- b. Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Asri Medical Centre
- c. Pengamatan, penelitian preparat, dan pengumpulan data dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

C. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

- a) Variabel Bebas : Tikus yang dipaparkan dengan pengharum ruangan dan diinduksi serbuk kurma

- b) Variabel Terikat : Perubahan gambaran histologi ginjal tikus *Rattus Norvegicus* Galur Wistar usia 1 bulan
- a. Variabel terkontrol :
- 1) Sampel penelitian
 - a) Jenis kelamin : jantan
 - b) Usia : 1 bulan
 - c) Jenis tikus : *Rattus norvegicus* galur Wistar
 - 2) Perawatan sampel : makanan, minuman, dan jerami pada kandang setiap sampel memiliki jenis dan kualitas yang sama.
 - 3) Bahan coba : penggunaan serbuk kurma dan pengharum ruangan untuk mobil dalam merk dan spesifikasi yang sama.

2. Definisi Operasional

a. Pengharum ruangan

Pengharum ruangan yang digunakan pada penelitian ini adalah pengharum ruangan yang biasanya digunakan di dalam mobil dan mengandung formaldehida serta memiliki merk dan spesifikasi yang sama.

b. Serbuk Kurma

Serbuk kurma (*Phoenix dactylifera*) yang akan digunakan dalam penelitian ini terbuat dari serbuk sari bunga kurma yang biasa dijual di pasaran dengan merk dan spesifikasi yang sama.

c. Perubahan gambaran histologi ginjal tikus

Gambaran histologi ginjal tikus yang akan diamati pada penelitian ini adalah pada bagian korteks terutama *corpusculum renale* dan *spatium bowman*.

D. Instrumen Penelitian

A. Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan adalah kandang pemeliharaan, kandang perlakuan, perlengkapan makan, perlengkapan bedah hewan percobaan (minor set), mikroskop cahaya, gelas benda, papan pembedahan, pot air, software optilab, sarung tangan latex, masker, tisu kering, dan wadah preparat basah.

B. Bahan

Bahan penelitian yang digunakan adalah pengharum ruangan, serbuk kurma, pakan standar tikus, air mineral, formalin buffer 10%, khloroform, NaCl fisiologis, alkohol 70%, kapas, bahan untuk pembuatan preparat histologi dengan pengecatan HE.

E. Cara Pengumpulan Data

1. Aklimatisasi atau adaptasi hewan coba selama tujuh hari
2. Pengelompokan hewan coba ke dalam delapan kelompok, yang terdiri dari:
 - a. Kelompok kontrol
 - b. Kelompok kontrol negatif
 - c. Kelompok kontrol positif 1
 - d. Kelompok kontrol positif 2
 - e. Kelompok kontrol positif 3

- f. Kelompok perlakuan 1
- g. Kelompok perlakuan 2
- h. Kelompok perlakuan 3

Setiap kelompok terdiri dari 4 tikus

3. Pemberian tanda pada subjek penelitian dengan menggunakan pikrat
4. Pemberian perlakuan:
 - a. Tikus dipindahkan ke kandang perlakuan
 - b. Tikus kontrol positif dan perlakuan yang di induksi serbuk kurma terlebih dahulu serbuk kurma dilarutkan dalam akuades 1 ml kemudian baru diberikan ke tikus
 - c. Tikus kelompok kontrol (C) sebagai kontrol dimasukan ke dalam kandang dan tetap dibiarkan tanpa perlakuan
 - d. Tikus kelompok kontrol negatif (P) dipaparkan dengan pengharum ruangan selama 4 jam/hari
 - e. Tikus kelompok kontrol positif (K1) dengan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 120 mg/KgBB
 - f. Tikus kelompok kontrol positif (K2) dengan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 240 mg/KgBB
 - g. Tikus kelompok kontrol positif (K3) dengan diinduksi serbuk kurma dengan dosis 360 mg/KgBB
 - h. Tikus kelompok perlakuan (PK1) dengan dipaparkan pengharum ruangan selama 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dosis 120 mg/KgBB

- i. Tikus kelompok perlakuan (PK2) dengan dipaparkan pengharum ruangan selama 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dosis 240 mg/KgBB
 - j. Tikus kelompok perlakuan (PK3) dengan dipaparkan pengharum ruangan selama 4 jam/hari dan diinduksi serbuk kurma dosis 360 mg/KgBB
 - k. Dilakukan perlakuan selama 30 hari kepada seluruh kelompok hewan uji
5. Pembedahan tikus
- a. Tikus dibius dengan cara kapas diberi kloroform kemudian diletakkan di dalam kandang
 - b. Tikus dibedah dengan menggunakan alat minor set
 - c. Organ yang diambil adalah ginjal
 - d. Organ yang telah diambil dimasukan ke dalam pot air yang telah diisi dengan formalin 10 % hingga terendam seluruhnya, kemudian ditutup dengan rapat
 - e. Pembuatan preparat dengan menggunakan metode blok paraffin, dengan teknik pewarnaan *Haematoxilyn* dan *Eosin* (HE)
6. Pengamatan preparat ginjal difokuskan pada bagian korteks dengan pengamatan pada *corpusculum renale* dan *spatium bowman* dengan perbesaran 40 x 10 kali dalam 10 lapang pandang yang kurang lebih terdapat 10 *corpusculum renale*.
7. Pengumpulan data dan analisis statistika dengan terlebih dahulu di uji normalitasnya dengan *Shapiro-Wilk*. Data terdistribusi normal maka

dilanjutkan dengan uji statistik parametrik menggunakan uji *One Way ANOVA* kemudian uji *post hoc Duncan*.

8. Penyusunan laporan

F. Etik Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang tidak lepas dari perlindungan hak tikus sebagai makhluk hidup. Hewan coba diaklimatisasi Laboratorium Biomedis Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta selama tujuh hari. Aklimatisasi dilakukan menggunakan kandang dengan penutup kawat yang diberi botol air minum berisi air mineral dan diberi pakan standar tikus. Pemeliharaan diawasi langsung oleh peneliti, meliputi pemberian makanan dan minuman standar, pemberian pengharum ruangan mobil dan serbuk kurma (*Phoenix dactylifera*), pembedahan, dan penyimpanan organ. Untuk menjamin legalitas penelitian ini, peneliti telah mendapatkan ijin penelitian dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan Nomor Etik : 366/EP-FKIK-UMY/VIII/2018.