

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *post-test control group design*. Posttest untuk menganalisis perubahan ukuran miokardium .

B. Populasi dan Sampel

Subjek uji pada penelitian ini ialah tikus putih *Rattus Norvegicus* galur *Sprague-dawley* yang diperoleh induk hamil yang sehat pada usia kehamilan 7 dan 11 hari yang telah diinduksi hipoksia iskemik dengan cara diligasi *arteri uterina* unilateral. Ditentukan pula anak *Rattus Norvegicus* galur *Sprague-dawley* yang diperoleh dari induk hamil yang sehat tanpa diinduksi hipoksia iskemik. Hewan uji dipelihara dan diberi makan minum *ad libitum*. Hanya anak yang berat badan lahir <5,50 gr yang dipilih sebagai subjek penelitian. Besar sampel penelitian yaitu sebanyak 27 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu:

1. Kelompok 1 : Hewan uji yang dijadikan sebagai kelompok kontrol tidak diinduksi hipoksia iskemik.
2. Kelompok 2 : Hewan uji yang dijadikan subyek penelitian, dari induk diberikan induksi hipoksia iskemik mulai umur kehamilan 7 hari.

3. Kelompok 3 : Hewan uji yang dijadikan subyek penelitian, dari induk diberikan induksi hipoksia iskemik mulai umur kehamilan 11 hari.

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus WHO (1993) jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tiap kelompok.

Kriteria Inklusi:

1. Tikus putih *Rattus Norvegicus* galur *Sprague-dawley*.
2. Berat Badan <5,50 gr.
3. Usia 35 hari.
4. Tikus jantan.

Kriteria Ekslusi:

- A. Tikus dalam keadaan sakit.
- B. Tikus mati sebelum pemeriksaan.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini mengikuti penelitian dosen dr. Ratna Indriawati, M.Kes. Penelitian ini berlangsung selama 6 bulan dan bertempat di lab hewan uji Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY untuk dilakukan pemeliharaan, pemberian makan dan perawatan tikus tersebut. Pembedahan pada tikus dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY. Pembuatan preparat histologi organ jantung dilakukan di bagian Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UGM.

Pengamatan gambar pada preparat dilakukan di Laboratorim Histologi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UMY.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas : Kelompok berdasarkan pemberian perlakuan yaitu induksi hipoksia iskemik prenatal pada umur kehamilan 7 dan 11 hari.
2. Variabel tergantung : Gambaran histologi pada serabut purkinje, yaitu diamati struktur serabut purkinje jantung.

D. Definisi Operasional

1. Tikus Putih Hipoksia Iskemik Prenatal

Tikus putih *Rattus Norvegicus* galur *Sprague-dawley* dengan umur kehamilan 7 dan 11 hari didapatkan dari penangkaran hewan percobaan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Tikus putih hipoksia iskemik prenatal adalah tikus putih yang diinduksi hipoksia dengan cara diligasi arteri uterina pada saat kehamilan pada umur kehamilan yang sudah ditentukan sehingga anaknya nanti akan memiliki pengaruh dari hipoksia.

2. Ketebalan miokardium

Preparat miokardium dibuat dari bagian jantung ventrikel kiri tikus *Rattus Novergicus* galur *Sprague-dawley* pada potongan

membujuryang sebelumnya sudah dieutanasia. Sampel miokardium jantung diambil dengan alat-alat bedah standar dan kemudian di masukkan ke dalam tabung kecil berisi formalin kemudian dibuat menjadi preparat. Setelah itu preparat dibaca menggunakan mikroskop berkamera lalu mengukur menggunakan aplikasi *Optic Lab* dan *Image Raster*. Diukur pada sisi ventrikel kiri yang ditarik menggunakan garis imajiner yang berasal dari aplikasi tersebut dari perbatasan pericardium dengan miokardium sampai dengan perbatasan endocardium dengan miokardium.

F. Alat dan Bahan Penelitian

Tikus putih *Rattus Norvegicus* galur *Sprague-dawley* berjumlah 27 ekor, makan dan minum *ad libitum*, kandang tikus, sekam, botol minum khusus untuk tikus, alat timbang berat, alat bedah tikus, alkohol, *povidone iodine*, kapas, obat bius waktu pembedahan (ketamin & kloroform), tabung bius, formalin untuk mengawetkan organ yang telah diambil, pot untuk organ, label, gelas preparat, mikroskop, kamera untuk mendokumentasi, alat hitung, komputer.

G. Jalannya Penelitian

Tahapan penelitian yang dirancang untuk pengumpulan data adalah sebagai berikut :

1. Induk tikus yang hamil dikelompokkan secara acak.

2. Induk tikus diinduksi hipoksia iskemik dengan dilakukan ligasi arteri uterina unilateral pada usia kehamilan 7 dan 11 hari sesuai masing-masing kelompok.
3. Induk tikus diberikan anestesi ketamin sebelum dilakukan pembedahan untuk ligasi arteri uterina unilateral.
4. Setelah anak-anak tikus lahir kemudian dipelihara sampai pada usia 35 hari.
5. Pada usia 35 hari anak-anak tikus dibius dengan kloroform lalu diambil organnya seperti otak, jantung, paru, hati, pankreas, ginjal.
6. Setelah tikus dibunuh, kemudian organ yang diambil dimasukan ke dalam pot yang berisi formalin.
7. Kemudian organ yang akan diteliti dibawa ke Laboratorium Patologi Anatomi di UGM untuk dibuat preparat histologi dengan pengecatan HE (*Hematoxylin Eosin*).
8. Preparat diamati menggunakan mikroskop pada perbesaran 10x kemudian diukur menggunakan aplikasi *Optic Lab* dan *Image Raster*.

H. Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan secara mikroskopik. Dalam penelitian ini menggunakan 3 kelompok perlakuan (>2 kelompok) dan bukan merupakan variabel yang berpasangan (independent) maka untuk menguji hipotesis perbedaan pada semua kelompok perlakuan digunakan analisis statistik *One Way Anova*. Sebelumnya data diuji normalitas dengan

menggunakan metode deskriptif dan metode analitik uji *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Apabila diketahui distribusi data tidak normal, maka uji statistik yang digunakan adalah *Kruskal Wallis*. Kemudian, untuk mengetahui perbandingan pengaruh dari masing–masing kelompok terhadap kelompok yang lain, digunakan uji *Post Hoc Test Multiple Comparison*