

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini meliputi bidang Histologi, Patologi Anatomi, Patologi Klinik, dan Farmakologi.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

- a. Pemeliharaan dan perlakuan terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- b. Pembuatan preparat dan pemeriksaan histopatologi ginjal hewan coba dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- c. Pemeriksaan kadar asam urat hewan coba dilakukan di Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
- d. Penelitian dan pengumpulan data pada bulan Maret – Juni 2015.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan desain yang dipakai adalah *Pre Test* dan *Post Test Only Control Group Design* untuk variabel kadar asam urat mencit Balb/c dan *Post Test Only Control Group Design* untuk variabel gambaran mikroskopis ginjal mencit Balb/c yang hiperurisemia. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok, yaitu tiga kelompok eksperimental dan tiga kelompok kontrol, dengan randomisasi sederhana.

Penilaian dilakukan dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok eksperimental dan kontrol.

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi Target

Mencit Balb/c.

4.4.2 Populasi Terjangkau

Mencit Balb/c, umur 8 minggu, berat badan 20-25 gram, sehat, tidak ada kelainan anatomis, yang dipelihara di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

4.4.3 Sampel

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

- a. Mencit Balb/c
- b. Umur 8 minggu
- c. Berat badan 20 – 25 gram
- d. Sehat
- e. Jantan
- f. Tidak ada kecacatan anatomis

4.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- a. Terdapat kecacatan anatomis selama penelitian
- b. Mati selama adaptasi dan perlakuan

4.4.4 Cara Sampling

Sampling pada penelitian ini dilakukan secara randomisasi.

4.4.5 Besar Sampel

Hewan ini dibagi ke dalam 6 kelompok, dengan jumlah minimal per kelompok mengikuti rumus Federer,²⁷ yakni

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

Dimana : $t = \text{kelompok perlakuan} = 6$

$n = \text{jumlah sampel per kelompok perlakuan}$

Maka : $(t-1) (n-1) \geq 15$

$$(6-1) (n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$n \geq 4 \text{ ekor}$$

Namun mengacu pada pedoman WHO mengenai penggunaan hewan coba untuk penelitian eksperimental, dengan jumlah sampel minimal 5 ekor tiap kelompok.²⁸ Pada penelitian ini menggunakan 30 ekor mencit Balb/c yang dibagi dalam 6 kelompok, yaitu 3 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas penelitian ini adalah pemberian ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura L.*) secara per oral pada dosis bertingkat.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi ginjal mencit Balb/c yang hiperurisemia.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

Jenis Variabel	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Skala
Bebas	Ekstrak buah Kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>)dosis bertingkat	Ekstrak buah kersen (<i>Muntingia calabura L.</i>) dalam bentuk larutan.	Rasio
Tergantung	Gambaran histopatologi ginjal mencit Balb/c	Gambaran histopatologi ginjal mencit Balb/c dinilai setelah dilakukan pengecatan Hematoksin Eosin (HE) dan diamati dengan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400 kali pada lima lapangan pandang	Rasio
	Kadar asam urat mencit Balb/c	Kadar asam urat yang diperiksa menggunakan alat stick test asam urat	Rasio

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

- a. Mencit Balb/c
- b. Ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura L.*)
- c. Hati Ayam
- d. Bahan – bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan yaitu :
 1. Larutan buffer formalin 10%
 2. Parafin
 3. Albumin
 4. Hematoxyllin Eosin
 5. Larutan Xylol
 6. Aquadest
 7. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96%
 8. Asam asetat
- e. Makanan dan minuman mencit Balb/c

4.7.2 Alat

- a. Kandang mencit Balb/c
- b. Sonde lambung
- c. Alat untuk mengambil organ (minor set)
- d. Alat untuk membuat preparat histologi (mikrotom, oven, cetakan parafin)
- e. Alat untuk melihat preparat histologi ginjal (deck glass, object glass, mikroskop cahaya)
- f. Alat untuk mengambil darah mencit : gunting, tabung dengan EDTA

- g. Neraca O Hauss
- h. Botol – botol
- i. Alat untuk mengukur Kadar asam urat

4.7.3 Jenis Data

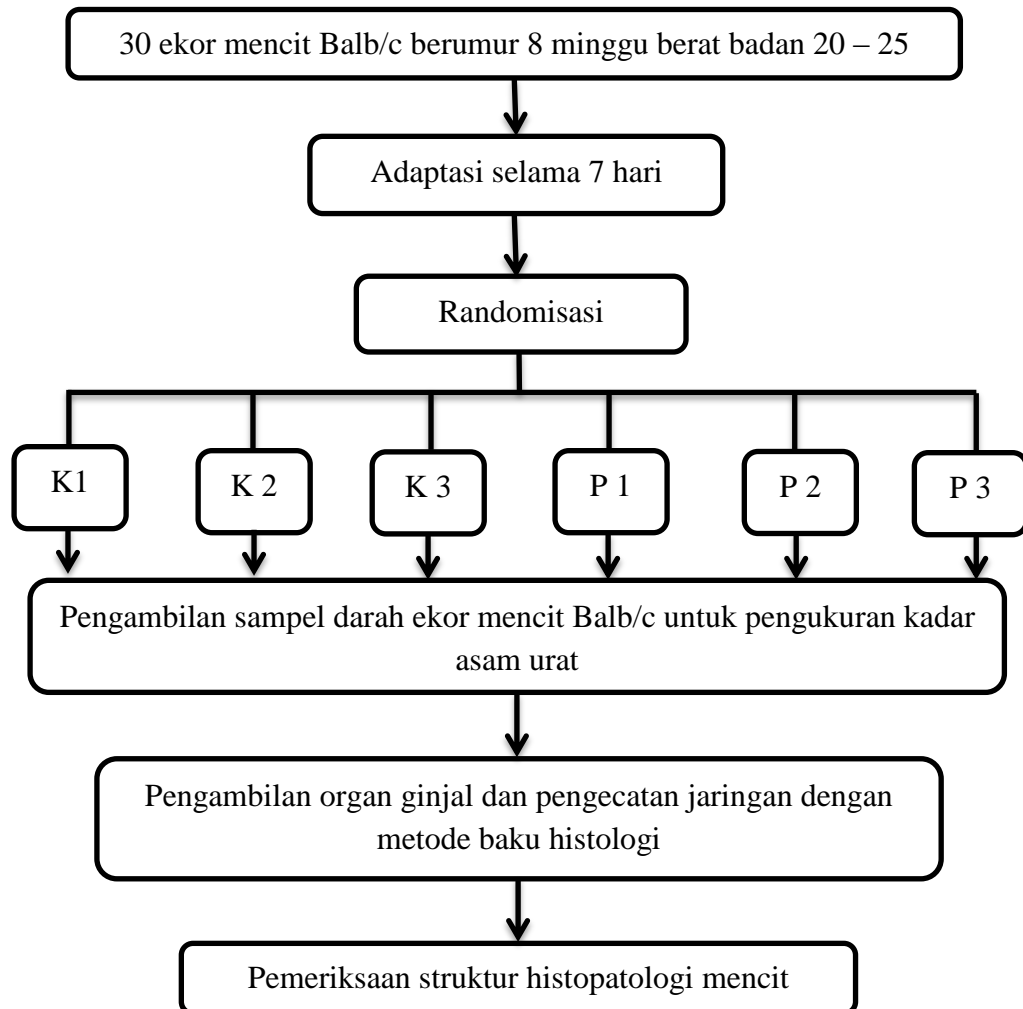
Data yang diambil adalah data primer yaitu dari pembacaan histopatologi ginjal dari kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kadar asam urat mencit Balb/c.

4.7.4 Cara Kerja

1. Dilakukan pengelompokkan secara randomisasi, 30 ekor mencit Balb/c dibagi dalam 6 kelompok.
2. Kelompok kontrol pertama yang diberi pakan standar selama sebulan. Kelompok kontrol kedua diberi pakan standart 7 hari dan diet tinggi purin (hati ayam 100gram untuk 5 ekor) selama 14 hari dan diperiksa kadar asam urat *pre test*, kemudian diberi pakan standar selama 10 hari dan diperiksa kadar asam urat *post test*. Kelompok kontrol ketiga yang diberi pakan standar selama 7 hari dan diperiksa kadar asam urat *pre test*, kemudian disonde ekstrak buah kersen dengan dosis 28 mg/20grBB/hari (*Muntingia calabura L.*) dan pakan standar selama 21 hari dan diperiksa kadar asam urat *post test*.
3. Kelompok perlakuan pertama, kedua, ketiga diberi pakan standar 7 hari dan diet tinggi purin (hati ayam 100 gram untuk 5 ekor) selama 7 hari kemudian diukur kadar asam urat *pre test* pada hari ke 21

4. Pada hari ke-15, kelompok perlakuan pertama disonde ekstrak buah kersen dengan dosis 14 mg/20grBB/hari, kelompok perlakuan kedua diberi ekstrak buah kersen dengan dosis 28 mg/20grBB/hari, dan kelompok perlakuan ketiga disonde ekstrak buah kersen dengan dosis 56 mg/20grBB/hari dan pakan standar selama 14 hari. Kemudian diukur kadar asam urat *post test nya*.
5. Semua kelompok hewan coba dilakukan diterminasi. Kemudian dilakukan pembedahan, pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi ginjal. Organ ginjal dari mencit Balb/c diproses secara mikroteknik dan dilakukan pengecatan dengan HE.
6. Masing-masing preparat dibaca padalima lapangan pandang dilihat pada lima area yaitu keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 100x dan 400x serta dianalisis menggunakan mikroskop cahaya untuk dinilai index histopatologinya.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

Keterangan:

K 1: mencit Balb/c dengan pakan standar sebulan.

K 2: mencit Balb/c + pakan standar 7 hari+ diet tinggi purin (hati ayam 100 gram untuk 5 ekor) 14 hari+ pakan standar 10 hari.

K 3: mencit Balb/c + pakan standar 7 hari + ekstrak buah kersen dengan dosis 28 mg/20grBB/hari+pakan standar selama 21 hari.

- P 1: mencit Balb/c + pakan standar 7 hari+diet tinggi purin (hati ayam 100 gram untuk 5 ekor) 7hari + ekstrak buah kersen dengan dosis 14 mg/20grBB/hari+pakan standar selama 14 hari.
- P 2: mencit Balb/c + pakan standar 7 hari+diet tinggi purin (hati ayam 100 gram untuk 5 ekor) 7 hari+ ekstrak buah kersen dengan dosis 28 mg/20grBB/hari+pakan standar selama 14 hari.
- P 3: mencit Balb/c + pakan standar 7 hari+diet tinggi purin (hati yam 100gram untuk 5 ekor) 7 hari + ekstrak buah kersen dengan dosis 56 mg/20grBB/hari selama+pakan standar 14 hari

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program computer *SPSS for windows*. Data pre test dan post test kadar asam urat dengan skala rasio dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk*. Apabila 2 kelompok menggunakan uji *T* berpasangan. Sedangkan >2 kelompok menggunakan uji *Repeated ANOVA*, karena didapatkan data normal dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk membedakan kadar asam urat *Pre Test* dan *Post Test* antar kelompok. Maka dilanjutkan analisis *Post Hoc* untuk uji *Friedman* adalah dengan uji *Wilcoxon*.

Data gambaran histopatologi ginjal mencit uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Data yang normal dan varian data sama dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* kemudian jika terdapat perbedaan bermakna dilanjutkan dengan analisa *Post Hoc*. Data yang tidak normal dan atau varian data tidak sama dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian ini telah disetujui Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dengan dikeluarkannya surat keterangan *ethical clearance*. Mencit Balb/c dipelihara di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Hewan percobaan diberi makan dan minum ad libitum. Pemberian dan diet tinggi purin pada mencit Balb/c selama 7 hari. Perlakuan dosis bertingkat ekstrak buah kersen (*Muntingia calabura L.*) dicampur dengan aquadest kemudian disondekan. Mencit Balb/c diterminasi dengan cara dekapitasi. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologi pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya akan ditanggung oleh peneliti.

