

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan eksperimental murni, dengan rancangan *post-test control group design*. Pada jenis penelitian ini, *pre-test* tidak dilakukan karena kasus-kasus telah dirandomisasi baik pada kelompok perlakuan maupun pada kasus kelompok kontrol. Kelompok-kelompok tersebut dianggap homogen sebelum diberikan penelitian. Dengan rancangan ini, peneliti dapat membandingkan hasil perlakuan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Perlakuan dalam penelitian ini dilaksanakan selama 21 hari, yang terdiri dari 7 hari adaptasi pada mencit dan perlakuan selama 14 hari. Penelitian akan dilaksanakan di laboratorium Patologi Anatomi yang ada di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel

Sample yang dipakai pada penelitian ini adalah mencit, karena mencit merupakan hewan yang paling umum digunakan pada penelitian laboratorium sebagai hewan percobaan, yaitu sekitar 40-80%. Mencit memiliki banyak keunggulan sebagai hewan percobaan, yaitu siklus hidup yang relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi dan mudah dalam penanganannya (Moriwaki, 1994).

Mencit (*Mus mucus*) dan tikus (*Ratus norvegicus*) merupakan omnivora alami, sehat, dan kuat, profilik, kecil, dan jinak. Selain itu, hewan ini juga mudah didapat dengan harga yang relatif murah dan biaya ransum yang rendah (Peter, 1976). Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dengan strain balbc dan memiliki berat badan 20-35 gr.

Perhitungan besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor. Dimana 25 ekor mencit tersebut dibagi dalam 5 kelompok uji, yang masing-masing kelompok uji terdiri dari 5 ekor tikus putih. Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \sim 5$$

Jadi mencit tiap kelompok berjumlah 5 ekor dan terdapat lima kelompok sehingga jumlah mencit yang digunakan 25 ekor.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

Variabel penelitian yang kami gunakan adalah sebagai berikut :

1) Variabel Independen

- a. Kitosan : 1. Dosis 0,5%
2. Dosis 0,75%
3. Dosis 1%
- b. Plumbum dosis 0,08 mg/gBB

2) Variabel Dependen

Variabel dependen adalah gambaran histopatologi ginjal mencit putih (*Mus musculus L.*) jantan strain balb/c.

3.5 Definisi Operasional

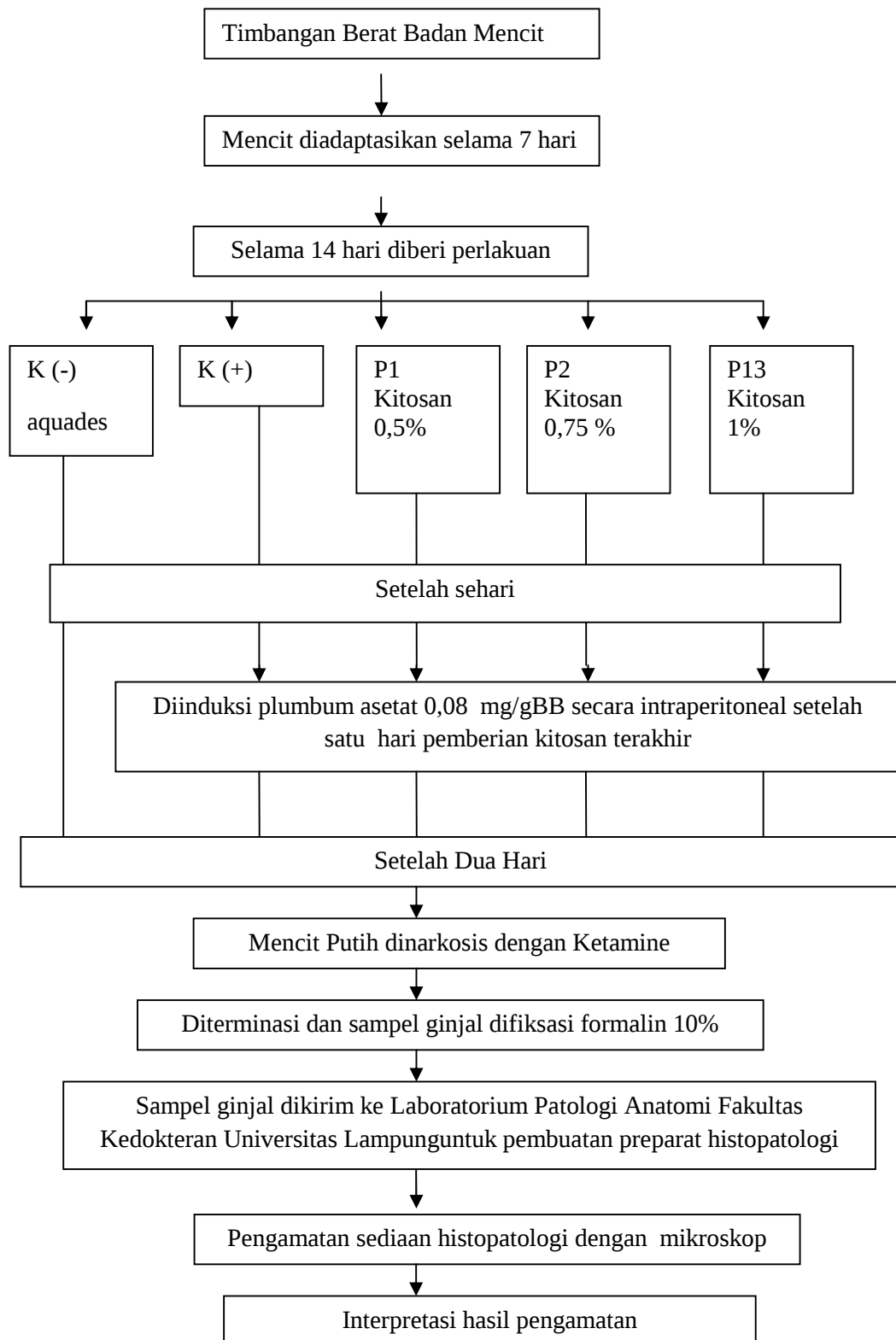
Tabel 4. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	Kitosan Cair	Sebagai adsorben plumbum dalam plumbum asetat dengan dosis bertingkat intraperitoneal	Spuir 1 cc/m	Neraca Analitik	1. Dosis 0,5% 2. Dosis 0,75% 3. Dosis 1%	Ordinal
2.	Plumbum Asetat	Bahan kimia beracun yang diberikan pada mencit jantan secara intraperitoneal	Spuir 1 cc/ml l	Neraca Analitik	Dosis 80 mg/kgBB atau 0,08 mg/gBB	Rasio
3.	Gambaran histopatolgi ginjal mencit	Keadaan ginjal mencit setelah diinduksi plumbum asetat dan diberi kitosan	Sediaan mikroskopis diamati dibawah mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x dalam 5 lapangan pandang	Sesudah Perlakuan	Kriteria normal bila tidak ditemukan : a. Pelebaran lumen tubulus b. Kerusakan dan pelebaran ruang bowman c. Vakuolisasi lumen tubulus d. Akumulasi jaringan di lumen tubulus e. Degenerasi f. Hiperplasia g. Perdarahan h. benda-benda inklusi. Derajat kerusakan ginjal : 0 = tidak terjadi kerusakan ginjal 1 = bila ditemukan 1-2 kriteria diatas 2 = bila ditemukan 3-5 kriteria diatas 3 = bila ditemukan 6-8 kriteria diatas (Anggraini, 2008)	Ordinal

Plumbum asetat diberikan kepada mencit dalam penelitian ini dalam bentuk serbuk yang dilarutkan didalam 0,5 ml aquades. Dimana dosis plumbum asetat yang diberikan adalah 80 mg/kgBB atau 0,08 mg/gBB (Suprijono *et al.*, 2011).

Kitosan yang diberikan ke tikus putih dalam bentuk larutan dengan pelarut 100ml asam asetat 1% dengan konsentrasi yang berbeda-beda yaitu kitosan 0,5%, kitosan 0,75% dan kitosan 1% (Purwoningsih, 2008). Dosis bertingkat ini untuk melihat efektivitas kitosan sebagai protektif dalam mengikat logam berat khususnya plumbum, untuk upaya pencegahan kerusakan ginjal akibat plumbum.

3.6 Alur Penelitian



Gambar 5. Diagram Alur Penelitian

Sebelum dilakukan penelitian mencit diaklimatisasi selama seminggu. Mencit dipelihara dalam kandang dan diberi alas sekam dan anyaman kawat sebagai penutup. Pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari. Pakan diberikan berupa pelet dan minum air ledeng. Kemudian secara acak mencit dimasukkan kedalam kandang secara terpisah dan setiap kandang diberitanda sesuai kelompok perlakuan. Kitosan dan plumbum didapatkan dari Institut Pertanian Bogor. Hari ke-8 pada kelompok kontrol hanya diberikan aquades sedangkan kelompok perlakuan (P1, P2, P3) diberikan kitosan sesuai dosis bertingkat dengan cara injeksi intraperitoneal. Pada hari ke-9 kelompok kontrol negatif beserta kelompok P1, P2 dan P3 diberikan plumbum asetat dengan dosis yang sama yaitu 0,08 mg/gBB sesuai dengan uji pendahuluan yang telah dilakukan secara intramuskular. Kemudian setelah dua hari mencit dinarkosis dengan ketamine, lalu sample ginjal difiksasi dengan formalin 10% ditunggu hingga dua hari sampai organ matang dan dibawa ke laboratorium Patologi Anatomi untuk dilakukan pembuatan preparat histopatologi. Kemudian pembacaan dengan mikroskop dan interpretasi hasil penelitian.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan histopatologi di bawah mikroskop diuji analisis statistik menggunakan program statistik. Hasil penelitian dianalisis secara statistik dengan uji *Kruskal-Wallis* dan selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney*.

