

### **III. MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian akan dilaksanakan pada 25 Januari 2024.

#### **3.2 Materi Penelitian**

##### **3.2.1 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel urin Tikus *spague Dawley*, pakan hewan coba, air mineral, *ketamine*, *xylazine*, spuit 1 cc, *penicillin*, *streptomycin*, povidone iodine 5%, kertas indikator pH, strip test, masker dan glove.

##### **3.2.2 Alat Penelitian**

Tempat pakan dan minum, jarum, pinset anatomis, *needle holder*, gunting bedah, benang silk 6.0, benang monofilament non absorbable 4.0, pot urin dan tabung reaksi.

##### **3.2.3 Subjek Penelitian**

Penelitian ini menggunakan tikus putih *Sprague Dawley* jantan sehat yang berumur 6 bulan dengan berat 250 gram sebanyak 18 ekor.

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorik menggunakan tikus putih *Sprague Dawley* yang dipilih secara random lalu dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan dan 9 ulangan.

#### 3.3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan 3 variabel yang meliputi variabel kendali yaitu tikus *Sprague Dawley* dan lama dan letak ligasi ureter. Variabel terikat yaitu pH urin dan glukosa urin. Variabel bebas yaitu tikus *Sprague Dawley* jantan berumur 6 bulan berat 250 gram dan menggunakan benang silk 6.0.

#### 3.3.3 Parameter Penelitian

Parameter pada penelitian ini meliputi pH urin dan glukosa tikus *Sprague Dawley* setelah obstruksi ureter.

#### 3.3.4 Teknik pengambilan sampel

Perhitungan ulangan menggunakan rumus Federer yaitu  $(n-1) k \geq 16$ . Keterangan, n adalah jumlah ulangan dan k adalah jumlah kelompok. Hasil perhitungan rumus Federer adalah sebagai berikut ;  $(n-1) k \geq 16 = (n - 1) 2 \geq 16 = 2n-2 \geq 16 = 2n \geq 18 = n = 9$  (ulangan).

### **3.4 Prosedur Penelitian**

#### **3.4.1 Persiapan Hewan Coba**

Penelitian ini menggunakan 18 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan yang berumur 6 bulan dengan berat 250 gram yang dibagi ke dalam 2 kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus. Pembelian tikus dengan memperhatikan keadaan fisik tikus seperti bulu yang bersih, mata yang jernih, hidung dan telinga yang bersih serta keaktifan anggota gerak. Tikus ditempatkan di dalam kandang dengan alas sekam kayu dan diadaptasi selama 7 hari dan diberi makan 2 kali sehari, pada pagi dan sore hari dan air minum secara *ad libitum*.

#### **3.4.2 Kelompok Perlakuan**

Tikus dibagi kedalam dua kelompok perlakuan. Perlakuan pertama (K1) adalah kelompok tikus yang tidak dilakukan ligasi ureter dan perlakuan dua (K2) adalah kelompok yang dilakukan ligasi ureter.

#### **3.4.3 Prosedur Sham Operated**

Pembedahan menggunakan *ketamine* 50 mg/kg BB dan *Xylazine* 4 mg/kg BB. Injeksi secara intraperitoneal. Tikus rebah dorsal, melakukan pencukuran pada abdomen, di insisi bagian midline lapisan kulit abdomen, subkutan dan muskulus di linea alba. Retaksi saluran cerna, kemudian saluran pencernaan direposisi kembali dan diberikan NaCl fisiologis dan antibiotik *penicillin* 23 mg/kg BB, *streptomycin* 38 mg/kg BB. Ditutup dengan menggunakan jahitan terputus sederhana dengan benang silk 6.0 dan didesinfeksi dengan povidone iodine 5%.

#### **3.4.4 Prosedur Ligasi Ureter**

Pembedahan menggunakan *ketamine* 50 mg/kg BB dan *Xylazine* 4 mg/kg BB. Injeksi secara intraperitoneal. Tikus rebah dorsal, melakukan pencukuran pada abdomen, di insisi bagian midline lapisan kulit abdomen, subkutan dan muskulus di linea alba. Retaksi saluran cerna untuk melihat ureter kanan. Ureter kanan diligasi pada lapisan luar fibrosa, lapisan otot tengah dan lapisan dalam epitel transisional. Saluran pencernaan direposisi kembali dan diberikan NaCl fisiologis dan antibiotik *penicillin* 23 mg/kg BB, *streptomycin* 38 mg/kg BB. Ditutup dengan menggunakan jahitan terputus sederhana dengan benang silk 6.0 dan didesinfeksi dengan povidone iodine 5%.

#### **3.4.5 Prosedur Pengambilan Sampel Urin**

Tikus yang sudah dioperasi dan dirawat selama 24 jam disedasi dengan *xylazine* 2 mg/kg BB. Tikus direbahkan posisi rebah dorsal dan vesica urinaria dibiopsi dengan menggunakan jarum 1 mL (27 G). Urin diambil dan dimasukkan ke dalam pot urin dan disimpan pada suhu 4°C. Urin dibawa Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidorajo untuk dilakukan proses pengujian pH urin dan glukosa urin.

### **3.4.6 Metode Pengukuran Sampel**

#### **3.4.6.1 pH Urin**

Sampel urin yang diambil setelah 24 jam perlakuan dimasukkan ke dalam pot. Urin dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kertas pH dicelupkan ke dalam sampel urin hingga kertas indikator terbenam dengan baik. Hasil perubahan warna kertas dicocokkan dengan indikator lakmus. Warna merah menunjukkan pH asam, warna biru menunjukkan pH basa (Yuliana, 2019).

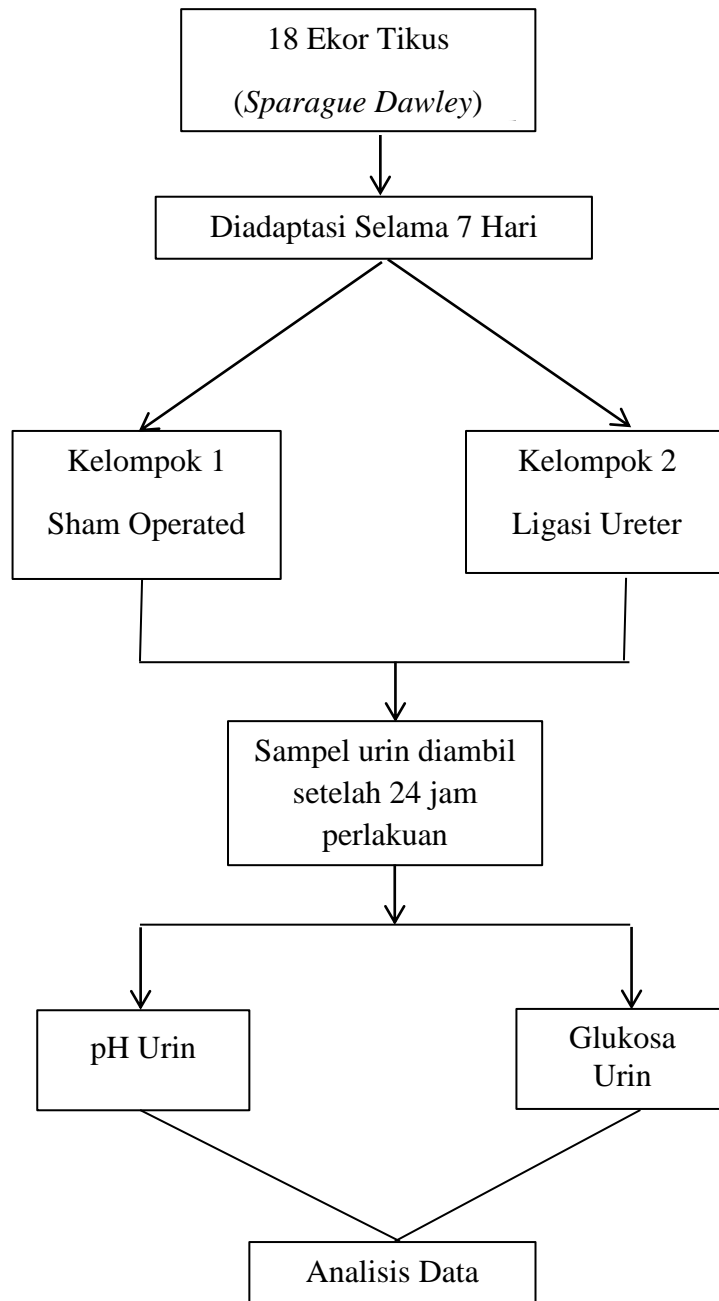
#### **3.4.6.2 Glukosa Urin**

Sampel urin diambil setelah 24 jam perlakuan, sampel urin dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masukkan batang strip dan tunggu selama 15 detik lalu diangkat. Perubahan warna pada kertas tes strip dibandingkan dengan parameter pada wadah test strip, perubahan warna coklat menunjukkan bahwa urin mengandung glukosa (Purwoko, 2017).

### **3.5 Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji T-test sampel bebas. Uji T-test menggunakan tingkat kepercayaan 95%, dengan  $P \leq 0,05$  uji T-test dianalisis menggunakan SPSS versi 26.

### 3.6 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 **Kerangka Penelitian.**