

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

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

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari-Februari

#### **3.2 Materi Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu *scalpel*, *blade*, pinset anatomis, *needle holder*, gunting benang, benang silk 6.0, tabung *Vaculab Etilenadiaminatetraasetat (EDTA)*, spuit, alat pakan dan minum.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu tikus *Sprague Dawley* jantan dengan berat 250 gram usia 6 bulan untuk diambil sampel darahnya, glove, masker, *ketamin*, *xylazine*, *penicillin*, *streptomycin*, *iodine povidone 5%*.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorik mengenai pengaruh obstruksi ureter terhadap kadar natrium dan kalium pada tikus *Sprague Dawley*. Tikus *Sprague Dawley* dipilih lalu dibagi menjadi 2 kelompok perlakuan.

##### **3.3.2. 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 dengan rumus Federer adalah sebagai berikut :  $(n-1)k \geq 16 = 2(n-1) \geq 16 = 2n-2 \geq 16 = 2n \geq 16+2 = 2n \geq 18 = n \geq 18 : 2 = n \geq 9$  (ulangan).

### **3.3.3 Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah variabel bebas, variabel kendali, variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis benang jahit yang digunakan yaitu benang silk 6.0 dan jenis tikus yaitu tikus *Sprague Dawley*, berat, umur. Variabel kendali adalah lama ligasi dan letak ligase ureter. Variabel terikat adalah natrium dan kalium.

### **3.3.4 Parameter Penelitian**

Parameter pada penelitian ini adalah kadar natrium dan kalium darah tikus *Sprague Dawley* setelah obstruksi ureter.

## **3.4 Prosedur Penelitian**

### **3.4.1 Pemilihan dan Persiapan Hewan Coba**

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Sprague Dawley* jantan sebanyak 18 ekor dengan berat badan 250 gram dan berumur 6 bulan yang dibagi dalam 2 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 9 ekor tikus *Sprague Dawley* jantan. Tikus *Sprague Dawley* jantan di adaptasi selama 7 hari dengan menggunakan alas sekam kayu kemudian diberi pakan secara terkontrol pagi dan sore serta air mineral secara *ad libitum*.

### **3.4.2 Kelompok Perlakuan**

Tikus dibagi ke dalam 2 kelompok perlakuan Perlakuan pertama (K1) adalah kelompok tikus yang tidak dilakukan ligasi ureter dan perlakuan kedua (K2) adalah kelompok yang dilakukan ligasi ureter.

### 3.4.3 Prosedur Ligasi Ureter

Tikus dianastesi dengan *ketamin* 50mg/kg BB dan *xylazine* 4mg/kg BB lalu diinjeksi secara *intraperitoneal*. Tikus direbahkan dengan posisi rebah dorsal dan rambut bagian abdomen dicukur. Insisi abdomen bagian midline lapisan kulit abdomen subkutan dan muskulus di linea alba hingga nampak *musculus rectus abdominis*, *internal oblique* dan *external oblique*. Saluran pencernaan diretraksi agar terlihat ureter kanan. Ureter kanan diligasi pada bagian lapisan luar yaitu fibrosa, lapisan otot tengah dan lapisan epitel transisional. Ligasi dilakukan pada ureter kanan menggunakan benang silk 6.0. Saluran cerna kemudian direposisi dan diberi larutan NaCl fisiologis dan antibiotik *penicillin* 23 mg/kg BB dan *streptomisin* 38 mg/kg BB. Luka ditutup dengan jahitan terputus sederhana menggunakan benang silk 6.0 dan disinfeksi luka dengan *povidone iodine* 5%

### 3.4.4 Koleksi Sampel Darah

Koleksi sampel darah diambil dengan cara tikus disedasi menggunakan *xylazine* dengan dosis 2 mg/kg BB. Tikus diambil darahnya sebanyak 1 mL melalui vena optalmika lewat bagian mata. Darah ditampung kedalam tabung *Vaculab etilenadiaminatetraasetat (EDTA)*. Selanjutnya tabung *Vaculab Etilenadiaminatetraasetat (EDTA)* dimasukkan ke dalam termos pendingin dengan suhu 4°C dan dibawa ke Laboratorium Patologi Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo untuk dilakukan proses pengujian selanjutnya.

### 3.4.5 Pengujian Sampel

#### a. Uji Kadar Natrium

Pengujian kadar natrium menggunakan metode *Ion Selective Electrode* (ISE). Alat dan bahan untuk pengukuran yaitu *probe*, pipet, larutan standar natrium dan tabung *Vaculab Etilenadaminatetraasetat (EDTA)* yang berisi sampel darah. Kalibrasi dilakukan menggunakan larutan standar sodium dan untuk persiapan sampel yaitu sampel darah ditambahkan dengan larutan natrium ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya pengukuran dilakukan menggunakan probe ISE sodium dan dilakukan pembacaan hasil. Hasil nilai pengukuran dicatat sebagai hasil nilai total kadar natrium dalam sampel darah (Garcia, 2018).

Untuk mengubah hasil dalam ppm (mg/L) menjadi mg sodium per sampel, yaitu menggunakan persamaan mg Natrium per sampel = hasil dalam mg/L x mL per ukuran sampel 1000 (Garcia, 2018).

#### b. Uji Kadar Kalium

Pengujian kadar kalium menggunakan metode *flame fotometri* dengan cara menambahkan larutan standar kalium sebanyak 1000 mg/L dan *aquadest* sebagai pengencer. Cara kerja pembuatan larutan standar yaitu larutan standar induk kalium 1000 mg/L diencerkan ke dalam beberapa konsentrasi menggunakan *aquadest* dalam konsentrasi 0, 1, 2, 4, 7 dan 10 mg/L. Masing – masing pengenceran dibuat sebanyak 100 ml dan dimasukkan ke dalam gelas ukur (Mohammed, 2006).

Pembacaan dilakukan dengan alat *flame fotometri*. *Flame fotometri* dihubungkan dengan api bunsen dan aliran listrik. Kemudian posisi standar

kalium dipasangkan pada monokromator pada filter kalium. Sampel dimasukkan ke dalam larutan standar kalium dari yang tertinggi sampai terendah sehingga didapatkan hasil pada indikator tepat pada skala 100. Kemudian dibuat kurva kalibrasi standar kalium, dengan bantuan kurva kalibrasi standar ini dapat ditentukan kadar kalium dari sampel dan sampel dilaporkan dalam satuan mg/L (Rasyid, 2011).

### **3.5 Analisis Data**

Data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan Uji T-test sampel bebas. Uji T-test menggunakan tingkat kepercayaan 95%, dengan  $P > 0,05$ . Uji T-test dianalisis menggunakan software SPSS versi 26

### 3.6 Rancangan Penelitian

