

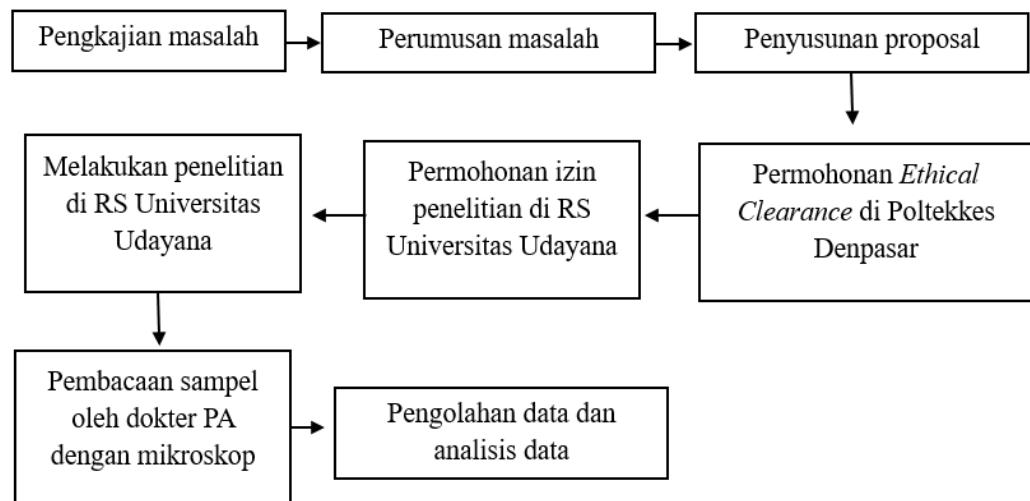
## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

Penelitian ini memanfaatkan jenis penelitian deskriptif analitik yang mempunyai tujuan mencari hubungan sebab-akibat dengan menggunakan desain rancangan *cross-sectional*. Dengan menggunakan rancangan *cross-sectional* ini kedua variabel akan diteliti dalam waktu bersamaan untuk mengetahui perbedaan hasil antara kedua variabel yaitu *embedding* lilin lebah dan lilin parafin (Sugiyono, 2017).

#### B. Alur Penelitian



**Gambar 8 Bagan Alur Prosedur Penelitian**

## **C. Tempat dan Waktu Penelitian**

### **1. Tempat penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Universitas Udayana, Kec. Kuta Selatan, Kabupaten Badung dan Laboratorium Pemeliharaan dan Pembiakan Hewan Percobaan *Bio Mice and Rat* Jalan Pulau Moyo, Gg Telkom II, Denpasar Selatan.

### **2. Waktu penelitian**

Penelitian ini akan dijalankan pada bulan September 2024 – April 2025.

## **D. Sampel Penelitian**

Sampel yang dipakai yaitu jaringan ginjal dari mencit putih (*Mus musculus*) dengan strain Balb/c dan jenis kelamin jantan. Memilih mencit berjenis kelamin jantan membantu mencegah faktor bias yang diakibatkan oleh hormon dan fakta bahwa mencit putih betina memiliki tingkatan stres yang lebih tinggi daripada mencit putih jantan (Djohari, Rahmawati dan Melati, 2021).

### **a. Unit analisis**

Penelitian ini menggunakan unit analisis yaitu, keseragaman pewarnaan ginjal mencit, kejernihan pewarnaan, pewarnaan sitoplasma, dan pewarnaan inti sel.

### **b. Teknik pengulangan sampel**

Rumus Federer dapat digunakan untuk menghitung ukuran sampel dengan menentukan jumlah sampel minimum. Dalam penelitian ini akan dilakukan 2 kelompok perlakuan, sehingga besar sampel yang dibutuhkan ditentukan dengan rumus Federer sebagai berikut (Sugiyono, 2017) :

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

Dimana :

$n$  = jumlah sampel

$t$  = jumlah kelompok perlakuan

Maka dapat dihitung :

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

$$(2 - 1)(n - 1) \geq 15$$

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

$$n \geq 16$$

jadi nilai ( $n$ ) yang diperoleh dari rumus adalah 16 sampel.

c. Teknik pengambilan sampel

Teknik pengambilan sampel penelitiannya yaitu *purposive sampling*. *purposive sampling* adalah metode pengambilan sampel non-probabilitas yang mana peneliti secara sengaja memilih sampel didasarkan standar atau penilaian yang telah ditentukan sebelumnya yang berkaitan dengan tujuan penelitian (Sugiyono, 2017).

1) Kriteria inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini yaitu memiliki kriteria sampel baik meliputi strain mencit yang tepat yaitu strain Balb/c, rambut mencit berwarna putih, usia mencit mulai dari umur 30-120 hari, berat badan mencit 20-40 gram, mencit berjenis kelamin jantan, pergerakan mencit yang aktif.

## 2) Kriteria eksklusi

Kriteria eksklusi pada penelitian ini yaitu rambut mencit yang tidak tumbuh secara merata, pergerakan mencit yang tidak aktif, penurunan nafsu makan pada mencit, terdapat cacat fisik, mencit berperilaku agresif menyerang mencit lainnya dan konsistensi feses yang cair.

### d. Alat dan bahan

#### a) Alat penelitian

Terdapat beberapa alat penelitian yang dipakai pada masing-masing tahap sebagai berikut (Saputro dkk, 2024):

##### (1) Alat pembedah mencit

Alat yang digunakan saat pembedahan mencit meliputi, sarung tangan (*hand gloves*), gunting bedah, pinset bedah, underpad, meja bedah, lampu, dan pot wadah organ.

##### (2) Alat pemrosesan jaringan

Alat yang digunakan saat pemrosesan jaringan meliputi, label dan alat tulis permanen, kaset *embedding*, pinset, mikrotom, *tissue processing*, *water bath*, *basemold*, *cover glass*, slide kaca mikroskop, dan *hot plate*.

##### (3) Alat pengamatan

Alat yang digunakan saat pengamatan meliputi, mikroskop cahaya dan *camera olympus EP 50*.

## 2) Bahan penelitian

Bahan penelitian yang dipakai yakni cairan larutan pengawet (*neutral buffer formalin 10%*), etanol absolut, etanol 95%, etanol 80%, dan 70%, *clearing agent*

(*xylene*), lilin parafin, lilin lebah, larutan pewarnaan hematoksin, larutan eosin, dan ketamin sebagai anestesi.

e. Prosedur kerja

1) Pra-analitik

a) Persiapan alat dan bahan/cairan

Berikut alat-alat yang perlu disiapkan untuk mengambil bagian tubuh mencit meliputi, sarung tangan (*hand gloves*), gunting bedah, pinset bedah, underpad, pot wadah organ, meja operasi, lampu, keperluan anestesi (*disposable syringe*) dan obat anestesi (ketamin) serta keperluan untuk mengawetkan jaringan (NBF 10%) seperti wadah untuk fiksasi cairan.

b) Persiapan sampel

Sampel yang diperoleh dari hewan harus disiapkan lebih dulu. Pemilihan hewan yang digunakan didasarkan pada tujuan penelitiannya. Mencit putih berjenis kelamin jantan merupakan hewan yang memiliki susunan ginjal yang serupa dengan manusia.

2) Analitik

a) Pembiusan

Ada dua cara pemberian bius pada hewan yang bagian tubuhnya akan diangkat: (Saputro dkk, 2024) :

(1) Pembiusan inhalasi dengan menggunakan eter. Pembiusan dengan menghirup uap atau gas anestesi melalui pernapasan untuk menginduksi keadaan tidak sadar.

(2) Campuran yaitu anestesi melalui inhalasi dan kemudian anestesi melalui suntikan dengan menyuntikan zat anestesi seperti ketamin.

Cara membius (Saputro dkk, 2024) :

- (a) persiapkan alat dan bahan yang dibutuhkan.
- (b) suntikan anestesi ketamin pada bagian intramuskular mencit (*Mus musculus*), setelah itu ditunggu beberapa saat hingga mencit terbius.
- (c) ketika mencit sudah terbius, patahkan leher mencit hingga mencit tidak bernyawa.

b) Pembedahan dan isolasi jaringan tubuh

Langkah selanjutnya adalah melakukan pembedahan dan mengangkat jaringan tubuh yang dibutuhkan setelah hewan tersebut terbius sepenuhnya.

Cara membedah (Saputro dkk, 2024):

- (1) Siapkan alat dan bahan.
- (2) Letakkan mencit ke atas papan bedah.
- (3) Pembedahan bagian dada hingga perut dari hewan coba mencit.
- (4) Dilakukan pengamatan dan diambil satu per satu organ mencit, dan diambil jaringan yang diperlukan yaitu ginjal mencit.

Jaringan ginjal mencit lalu dimasukan ke dalam cairan fisiologis (NBF 10%). Hal tersebut diperlukan untuk memastikan bahwa larutan pengikat memasuki jaringan secara efisien dan mudah. Setelah itu, potongan jaringan tersebut dimasukkan ke dalam wadah kecil yang diberi label atau keterangan. Setelah itu, wadah jaringan dan cairan fiksasi disimpan pada tempatnya. sampai pemrosesan jaringan tambahan selesai(Saputro dkk, 2024).

### 3). Pemrosesan jaringan

#### a) Fiksasi

Menurut (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2025) prosedur fiksasi sebagai berikut :

- (1) Iris sampel jaringan atau organ hingga berukuran sekitar 4 mm.
- (2) Rendam dengan larutan fiksasi, seperti *neutral buffer formalin* 10%, berdasarkan komponen target atau tujuan pewarnaannya.
- (3) Tunggu sampai tahap fiksasi terselesaikan.
- (4) Lakukan tahap selanjutnya.

Suhu ruangan 20°C merupakan suhu fiksasi yang baik, tetapi dalam keadaan tertentu, suhu dapat dinaikkan hingga 45°C. Tetapi, harus berhati-hati dengan durasi fiksasi sehingga tidak merusak jaringan (Khristian dan Inderiati, 2017). Durasi fiksasi jaringan kecil : 6 jam, sedangkan fiksasi jaringan besar: 24 jam (Saputro dkk, 2024).

#### b) Dehidrasi

Proses penghilangan air dan zat fiksasi dari komponen jaringannya dikenal sebagai dehidrasi. Sesudah fiksasi, jaringan dipindah ke alkohol dan diperlakukan seperti berikut: alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 96%, alkohol 100%, alkohol 100%, dan alkohol 100% dilakukan pada 6 chamber. Spesimen diproses menggunakan reagen dengan konsentrasi meningkat (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2025).

#### c) *Clearing*

Reagen pembeningan memiliki fungsi sebagai perantara antara larutan dehidrasi dan infiltrasi. Jaringan direndam dalam xylol I selama satu jam sesudah

dikeluarkan dari cairan dehidrasi (alkohol). Perlu diperhatikan bahwa jaringan akan berubah bening. Agar memastikan bahwa semua alkohol sudah dihilangkan, jaringan selanjutnya ditempatkan dalam larutan xylol II dan xylol III masing-masing lamanya satu setengah jam. Besar kecilnya jaringan menentukan berapa lama jaringan tersebut harus diinkubasi dalam xylol, pada xylol menggunakan 3 chamber (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2025).

#### d) Infiltrasi

Proses infiltrasi jaringan melibatkan pemasukan bahan atau filtrat, yang memungkinkan jaringan itu mengeras pada suhu kamar. Pada tahap infiltrasi ini terjadi perendaman jaringan dalam parafin cair di dalam oven. Jaringan tersebut kemudian disiapkan untuk dimasukkan ke dalam blok parafin. Filtrat ini masuk ke dalam sel dengan menggantikan tingkat kelarutannya dengan cairan pembersih. Pada tahap infiltrasi menggunakan 2 chamber yaitu parafin I lamanya 2 jam, parafin II lamanya 2 jam, dan parafinn III lamanya 2 jam (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2025).

**Tabel 3**  
**Prosedur Pada *Tissue Processing***

| No Chamber | Tahap           | Larutan         | Waktu   |
|------------|-----------------|-----------------|---------|
| 1          | 2               | 3               | 4       |
| 1          | Fiksasi         | Buffer Formalin | 2 jam   |
| 2          | Dehidrasi       | Alkohol 70%     | 1,5 jam |
| 3          | Dehidrasi       | Alkohol 80%     | 1,5 jam |
| 4          | Dehidrasi       | Alkohol 96%     | 1,5 jam |
| 5          | Dehidrasi       | Alkohol Absolut | 1 jam   |
| 6          | Dehidrasi       | Alkohol Absolut | 1,5 jam |
| 7          | Dehidrasi       | Alkohol Absolut | 2 jam   |
| 8          | <i>Clearing</i> | <i>Xylol</i>    | 1 jam   |
| 9          | <i>Clearing</i> | <i>Xylol</i>    | 1,5 jam |
| 10         | <i>Clearing</i> | <i>Xylol</i>    | 1,5 jam |
| 11         | Infiltrasi      | Parafin         | 2 jam   |

|    |            |         |       |
|----|------------|---------|-------|
| 12 | Infiltrasi | Parafin | 2 jam |
| 13 | Infiltrasi | Parafin | 2 jam |

(Sumber : Khristian dan Inderiati, 2017).

#### e) *Embedding*

Pada tahap *embedding* ini dilakukan perbandingan kualitas jaringan menggunakan lilin parafin dan lilin lebah.

Berikut ini adalah fase ideal pembedan jaringan (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2025):

- (1) Tuangkan lilin parafin dan lilin lebah secukupnya ke dalam *basemold* yang berbeda antara lilin parafin dan lilin lebah.
- (2) Siapkan jaringan sebagaimana mestinya.
- (3) Agar posisinya tidak berubah, dinginkan bagian dasar *basemold*.
- (4) Tutup dengan kaset jaringan yang sudah berisikan identitas atau kode.
- (5) Tuangkan parafin cair lagi sampai batas maksimum.
- (6) Dinginkan dengan keadaan alas *basemold* dingin.

#### f) Pemotongan blok

- (1) Pasang kaset jaringan dan jepitkan, pastikan roda putar terkunci
- (2) Pasang pisau, sesuaikan sudut kemiringannya, dan kencangkan.
- 1) Potong kasar:
  - (1) Sesuaikan tuas pemotong kasar untuk memposisikan blok jaringan dengan benar.
  - (2) Putar tuas pemutar hingga tidak terkunci.
  - (3) Putar roda secara perlahan hingga blok jaringan hampir menyentuh permukaan pisau.
  - (4) Tekan tuas untuk pemotongan kasar

(5) Putar roda putar searah jarum jam untuk memulai proses pemotongan.

(6) Ketebalan yang digunakan pada pemotongan kasar yaitu 15-30 $\mu$ m.

(7) Jika permukaan jaringan sudah terlihat, hentikan pemotongan.

(8) Lepaskan tuas pemotong kasar.

## 2) Potong halus

(1) Sesuaikan knop pengatur ketebalan dengan ketebalan jaringan yang dibutuhkan sambil tetap mengamati skala ketebalannya. Ketebalan yang digunakan yaitu 3-4 $\mu$ m.

(2) Dengan mengubah posisi pisaunya, sehingga bisa menggunakan berbagai sisinya untuk memotong dengan kasar dan halus sambil memastikan pisau terpasang aman.

(3) Putar roda searah jarum jam untuk memulai proses pemotongannya.

(4) Dengan menggunakan pinset, lepaskan pita jaringan yang dihasilkan dan pindahkan ke bagian atas *waterbath*, agar pita tersebut akan menempel pada objek kaca

(5) Ubah posisi blok jaringan di belakang pisau dan kencangkan tuas pemutarnya.

(6) Setelah blok jaringan dikeluarkan dari penjepitnya, dan ganti dengan blok yang akan diiris.

Sampai bagian yang berisi sediaan jaringan diperoleh, buang pita parafin pertama yang tidak termasuk jaringan. Dengan menggunakan kuas, pita parafin yang mengandung jaringan dipindah dengan cermat ke dalam *waterbath*. Suhu air harus sekitar 10°C lebih dingin dari titik leleh parafin. Air yang dipergunakan wajib bersih dan tidak ada gelembungnya.

Setelah pita parafin telah tumbuh sempurna, gerakkan kaca objek dalam *waterbath* searah dengan pita parafin untuk menempelkannya pada kaca objek. Pita parafin diaplikasikan pada objek kaca dengan menggunakan kuas. Setelah dipasang, benda kaca dikeluarkan dengan cermat dari *waterbath* untuk mencegah pita parafin terlipat.

Disarankan juga agar jaringan yang berbeda dikeringkan semalaman pada suhu 37°C. Tergantung pada kebutuhan masing-masing orang, sediaan yang benar-benar kering bisa diwarnai lebih lanjut (Khristian dan Inderiati, 2017).

g) Teknik pewarnaan

Pewarnaan yang digunakan yaitu pewarnaan hematoksilin-eosin. Prosedur pewarnaan HE sebagai berikut (Rumah Sakit Universitas Udayana, 2022):

**Tabel 4**  
**Prosedur Pewarnaan Hematoksilin-Eosin**

| No | Tahap                                                                                                      | Zat                                                 | Waktu       |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-------------|
| 1  | 2                                                                                                          | 3                                                   | 4           |
| 1  | Deparafinisasi<br>(penghilangan parafin)                                                                   | Xylol I<br>Xylol II<br>Xylol III<br>Xylol IIII      | 5 menit     |
| 2  | Rehidrasi (memasukan air)                                                                                  | Alkohol 96%<br>Alkohol 96%<br>Alkohol 96% - Aquades | 3 menit     |
| 3  | Pewarnaan hematoksilin                                                                                     | Hematoksilin Alum                                   | 3-5 menit   |
| 4  | Pencucian                                                                                                  | Dicuci dengan air mengalir hingga warnanya biru     | 3-5 menit   |
| 5  | Diferensiasi dekolorisasi (proses pada sitoplasma)                                                         | Asam asetat                                         | 10-20 celup |
| 6  | Pencucian                                                                                                  | Air mengalir                                        | 3-5 menit   |
| 7  | <i>Blueing</i> (cara agar warna biru pada inti sel terlihat jelas) lalu gunakan air mengalir untuk mencuci | Lithium Carbonat                                    | 3 menit     |

|    |                                                                                               |                                                                                 |           |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 8  | pencucian                                                                                     | Air mengalir                                                                    | 3-5 menit |
| 9  | Pewarnaan eosin                                                                               | Eosin 1%                                                                        | 3 menit   |
| 10 | Dehidrasi<br>(penghilangan air)                                                               | Alkohol 96%<br>Alkohol 96%<br>Alkohol 96%<br>Alkohol absolut<br>Alkohol absolut | 3-5 menit |
| 11 | <i>clearing</i>                                                                               | Xylol I<br>Xylol II<br>Xylol III<br>Xylol IIII                                  | 3-5 menit |
| 12 | <i>Mounting</i> (tahap menutup jaringan diantara cover glass dengan objek glass oleh entelan) | Entelan                                                                         | -         |
| 13 | Labeling                                                                                      | Sticker                                                                         | -         |

---

(Sumber : Rumah Sakit Universitas Udayana, 2022).

### 3) Post-analitik

Penanganan limbah untuk zat-zat yang tidak diketahui bahayanya secara signifikan, paparan harus diminimalkan. Kecuali diketahui sebaliknya, asumsikan bahwa campuran apapun lebih beracun daripada komponen yang paling beracun dan semua zat yang tidak diketahui toksisitasnya adalah berbahaya. Hindari menyimpan makanan atau minuman di lemari penyimpanan, lemari es, barang pecah belah, atau peralatan yang digunakan untuk operasi laboratorium.

Selain bahan kimia yang berbahaya, slide dan blok parafin juga harus disimpan tanpa batas waktu jika fasilitas tersedia karena bersifat permanen dan dapat dievaluasi sesuai kebutuhan (Adyanthaya S and Jose M, 2015).

- a) Hasil pemeriksaan dinilai secara makroskopis dan dicatat pada lembar penilaian makroskopis
- b) Hasil pemeriksaan mikroskopis diamati menggunakan mikroskop dengan kamera olympus EP 50

- c) Dokter PA memvalidasi hasil yang telah dicatat dengan menandatangani formulir penilaian mikroskopis
- d) Pembuangan sampah medis yang telah selesai digunakan dengan cara sebagai berikut:
  - (1) Identifikasi dan klasifikasi jenis limbah, seperti limbah infeksius, limbah sisa jaringan lainnya, limbah kimia berbahaya (formalin dan xylene), limbah tajam (jarum, pisau mikrotom), dan limbah non-infeksius.
  - (2) Pengumpulan limbah ditempat yang sesuai, kumpulkan limbah dalam wadah yang ditentukan seperti, jaringan tubuh disimpan dalam wadah tertutup yang diberi label mengandung formalin, limbah tajam dibuang ke dalam *safety box*, limbah kimia berbahaya dibuang dalam wadah tahan bahan kimia yang ditutup rapat dan diberi label yang jelas, dan limbah infeksius dimasukan ke dalam kantong kuning (plastik khusus limbah B3).
  - (3) Penyimpanan sementara, limbah yang telah dikumpulkan disimpan di tempat penyimpanan sementara limbah medis yang tertutup, berventilasi baik, dan memiliki akses terbatas untuk mencegah paparan.
  - (4) Pengangkutan internal, limbah diangkut secara hati-hati dari laboratorium ke tempat penyimpanan sementara dengan troli atau wadah tertutup yang tidak mudah bocor dan mudah dibersihkan.
  - (5) Pengolahan dan pemusnahan, limbah jaringan dan limbah tajam dimusnahkan melalui inicerator oleh pihak ketiga berizin atau fasilitas rumah sakit yang memiliki iniserator sesuai regulasi. Limbah kimia melalui netralisasi, pengenceran, atau dikirim ke pengolahan limbah B3 berizin. Limbah infeksius disterilisasi dengan autoklaf sebelum dimusnahkan.

- (6) Pencatatan dan pelaporan, sebelum pembuangan limbah didokumentasikan secara tertulis sebagai bagian proses dari sistem manajemen limbah dan untuk keperluan audit lingkungan.

## **E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

#### **a. Data primer**

Data primer ialah data yang didapat secara langsung oleh peneliti (Sugiyono, 2017). Data primer lain yang didapatkan berupa hasil pengamatan pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, kejernihan pewarnaan, dan keseragaman pewarnaan.

#### **b. Data sekunder**

Data sekunder yakni data yang didapatkan peneliti dari beberapa sumber yang telah ada (Sujarweni, 2015). Jenis data sekunder didapatkan dari penelitian terdahulu, jurnal, artikel, dan buku yang diakses melalui laman pencarian internet.

### **2. Teknik pengumpulan data**

#### **a. Observasi (Pengamatan)**

Mengamati pemrosesan jaringan untuk mendapatkan ginjal mencit yang kemudian diproses di media *embedding* dengan lilin parafin dan lilin lebah untuk mendapatkan perbandingan hasil dari kedua media *embedding*.

#### **b. Studi literatur**

Digunakan untuk mendukung literatur yang berkaitan dengan informasi konseptual tentang penelitian ini.

c. Pemeriksaan laboratorium

Melihat perbedaan kualitas jaringan ginjal menggunakan media *embedding* lilin parafin dan lilin lebah pada pewarnaan hematoksin-eosin. Penelitian ini dilakukan secara observasi mikroskopis terhadap pewarnaan inti sel, pewarnaan sitoplasma, kejernihan pewarnaan, dan keseragaman pewarnaan.

3. Instrumen pengumpulan data

- a. Mikroskop cahaya dilengkapi kamera, digunakan untuk mengamati hasil preparat jaringan histologi.
- b. Preparat histologi, digunakan untuk menampung sampel jaringan.
- c. Penilaian sediaan histologi, digunakan untuk memberikan penilaian numerik terhadap pemrosesan jaringan secara makroskopis.
- d. Skala penilaian kuantitatif, digunakan untuk memberikan penilaian numerik terhadap kualitas secara mikroskopis.

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik pengolahan data**

Setelah pengumpulan data, pengolahan data merupakan salah satu tahapan dalam rangkaian proses penelitian (Hastono, 2016). Teknik pengolahan data meliputi:

a. *Editing* (Pengolahan Data)

Data hasil pemeriksaan dikumpulkan dan dimasukkan sesuai syarat dan kebutuhan peneliti. Edit data dilakukan untuk memperbaiki kesalahan atau mengisi kekosongan dalam temuan data mentah yang telah dikumpulkan. Menghilangkan data yang tidak sesuai dengan kriteria analisis dapat mengakibatkan kesalahan data.

b. *Coding* (Pemberian Kode)

Proses pemberian kode tertentu pada setiap bagian data yang masuk dan mengkategorikan setiap bagian data setelah diberi kategori. Bergantung pada jenis data, kode dapat berupa huruf atau bilangan bulat. Kode yang diberikan harus logis dan secara akurat mencerminkan temuan penelitian.

c. *Entry* (Pemasukan Data)

Proses input data yang dilakukan untuk mengumpulkan data hasil lembar observasi dan dokumentasi penelitian.

d. *Cleaning* (Pembersihan Data)

Proses pembersihan data-data penelitian yang mengalami kekeliruan atau kesalahan saat pengecekan ulang.

e. *Saving* (Penyimpanan Data)

Proses penyimpanan data setelah proses input dan analisis yang telah dilakukan peneliti.

f. *Tabulating* (Penyajian Data)

memasukkan data ke dalam format tabel, mengisinya berdasarkan kebutuhan analisis, dan kemudian menggunakan perangkat lunak statistik untuk menganalisis.

## **2. Analisis data**

Karena analisis data memberikan arti atau makna pada data yang dapat diterapkan pada pemecahan masalah penelitian, maka analisis data merupakan proses penelitian yang penting (Hastono, 2016).

a. Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Bertujuan untuk mengetahui apakah distribusi data mengikuti distribusi normal. Salah satu metode untuk menguji normalitas adalah uji *Shapiro-Wilk*,

khususnya ketika jumlah sampel relatif kecil (kurang dari 50). Jika nilai Sig. lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ), maka data dianggap berdistribusi normal. Sebaliknya, jika nilai Sig. kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), maka data tidak berdistribusi normal. Hasil uji ini akan menentukan jenis uji hipotesis yang tepat digunakan (Nasrum, 2018).

b. Uji Homogenitas *Levene Test*

Uji ini dipakai untuk memastikan apakah dua atau lebih kelompok data sampel asalnya dari populasi yang homogen (variasinya sama). Bila nilai signifikansi ( $p$ ) lebih kecil dari 0,05 ( $p < 0,05$ ) artinya kelompok datanya tidak homogen, bila signifikansi ( $p$ ) lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) artinya kelompok datanya homogen. Analisis data statistik untuk mencari perbandingan antara dua sampel yang normal yaitu uji *Independent T Test*, sedangkan data tidak normal maka pengujian statistiknya diubah menggunakan uji *Mann-Whitney U Test* (Tandi dkk, 2019).

c. Uji hipotesis

Uji hipotesis menggunakan uji *Mann-Whitney* merupakan uji statistik non-parametrik yang digunakan untuk membandingkan dua kelompok independent apabila data tidak berdistribusi normal atau tidak homogen, sedangkan uji *T Welch* untuk membandingkan dua kelompok independent apabila datanya tiidak homogen. Pengambilan keputusan dalam uji *Mann-Whitney* dilakukan untuk membandingkan nilai signifikansi (*Asymp. Sig*) dan pengambilan Keputusan dalam uji *T Welch* yaitu melihat nilai *welch* dengan taraf signifikansi yang digunakan (0,05). Jika nilai Sig. lebih kecil (*Asymp.Sig*  $< 0,05$ ), maka disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok. (Tandi dkk, 2019).

## G. Etika penelitian

Ada sejumlah faktor yang perlu diperhatikan peneliti dalam memanfaatkan hewan percobaan, terutama mencit. Menurut norma etika penelitian kesehatan, seorang peneliti harus mempertimbangkan etika bedah ketika mengembangkan pengobatan terbaik untuk hewan percobaan. Undang-Undang Nomor 36 Tahun 2009 mengenai Kesehatan, Pasal 44 Ayat 4 memuat pedoman etika penelitian kesehatan, khususnya penggunaan hewan coba. Pasal tersebut mengatakan bahwa untuk menjamin kelestarian hewan-hewan ini dan menghindari bahaya tidak langsung terhadap kesehatan manusianya, maka penelitian pada hewan harus terjamin (Putri, 2018).

Menerapkan prinsip 3R (*Replacement*/pemanfaatan maksimal, *reducement*/pengurangan pemanfaatan yang berlebihan, serta *refinement*/ketidaknyamanan) terhadap hewan uji terutama pada mencit dan perlindungan hak asasi hewan memerlukan kajian akan krusialnya etika kedokteran dalam bedah mencit, terutama dalam penelitian ini. Penelitian mengenai etika medis dalam bedah mencit akan mengarah pada pengembangan pedoman etika dalam penggunaan mencit dalam penelitian (Putri, 2018).

Komite Brambell awalnya mengusulkan gagasan kesejahteraan hewan, yang juga disebut sebagai *five freedom* (5F) atau lima kebebasan pada tahun 1965 yang mengacu pada *Farm Animal Welfare Council* yang merupakan penerapan kesejahteraan hewan pada hewan secara manusiawi yang meliputi: (Intan dan Khariri, 2020):

- a. *Freedom from hunger and thirst* yang berarti mencit terbebas dari kelaparan dan kehausan dengan memberi pakan dan minuman yang cukup.

- b. *Freedom from discomfort* yang berarti terbebas dari ketidaknyamanan dengan memberikan tempat tinggal yang nyaman dan terhindar dari rasa panas.
- c. *Freedom from pain, injury and diseases* yang berarti terbebas dari kesakitan, luka dan penyakit dengan memberikan perawatan yang sesuai dengan pengobatannya.
- d. *Freedom from fear and distress* yang berarti terbebas dari rasa takut dan stress.
- e. *Freedom to express natural behavior* yang berarti bebas bertindak secara alami dengan memberikan hewan ruang gerak yang cukup dan fasilitas yang mereka butuhkan.