BAB III
METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental quasi dengan menggunakan rancangan *post test only control group design*.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan berlangsung selama 1 minggu pada tanggal 21 desember hingga 27 desember, berlangsung di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta

3.3. Subyek Penelitian

Penelitian ini menggunakan blok biologis tersimpan. Blok berasal dari tikus (*Rattus norvegicus*) galur Wistar, yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi penelitian sebelumnya adalah tikus berusia 3-4 bulan, berat badan 175-250 gr, sehat. Kriteria eksklusi adalah tikus yang mati selama penelitian.

Blok biologis yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 10 blok dengan perincian sebagai berikut:

1. Kelompok A adalah blok yang berasal dari tikus yang mendapatkan perlakuan BCCAO 20 menit, *reperfusion* 2 jam (lima ekor).
2. Kelompok B adalah tikus *sham operated* (lima ekor).

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel Tergantung

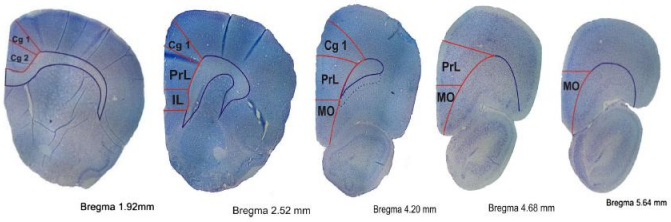
Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah jumlah neuroglia *cortex prefrontal* tikus

3.4.2. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah BCCAO durasi 20 menit dengan *reperfusion* 2 jam

3.5. Definisi Operasional

1. *Cortex prefrontalis* adalah salah satu bagian dari anterior otak yang terletak pada bagian Lobus Frontal otak, serta berada di depan daerah motor dan premotor. Terdiri dari Superior Frontal Gyrus Inferior Frontal Gyrus dan Middle Frontal Gyrus (Gambar. 9)



Gambar. 9 Cortex Prefrontalis (Pulungan *et al.*, 2016)

2. Jumlah Neuroglia adalah jumlah neuroglia yang dihitung pada cortex prefrontalis dengan pewarnaan Toluidin Blue. Neuroglia terbagi menjadi beberapa diantaranya adalah mikroglia, astrosit, oligodendroglia. *Toluidin Blue* (TB) (Tolonium klorida) adalah zat warna metachromatic acidophilic yang selektif terhadap noda komponen jaringan asam (sulfat, karboksilat, dan radikal fosfat), Pewarnaan TB terhadap neuroglia akan memberikan warna biru.
3. BCCAO adalah penginduksian hipotensi dalam rentang waktu tertentu pada *arteria cerotis communis bilateral* atau di sebut juga sebagai *Bilateral common carotid arteries occlusion* (BCCAO durasi 20 menit dengan *reperfusion* 2 jam)

3.6. Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1. Alat Penelitian

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah mikrotom, alat pewarnaan TB, mikroskop cahaya CX 21 yang terhubung dengan kamera optilab dan perangkat computer yang memiliki softwere Optilab Viewer dan Image J.

3.6.2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah bahan pewarnaan TB.

3.7. Jalannya Penelitian

3.7.1. Pewarnaan TB dan Pengamatan Jumlah Neuroglia

Penelitian ini menggunakan pewarnaan Toulidine Blue. Masing-masing blok biologis dipotong 1 irisan kemudian dilakukan pewarnaan TB. Neuroglia diamati pada semua lapang pandang Cortex Prefrontalis.

3.8. Analisis Data

Uji normalitas adalah pengujian untuk mengukur perbandingan dari data empirik dengan data yang berdistribusi normal teoritik dan memiliki mean serta standar deviasi yang sama dengan data empirik. Data terdistribusi normal adalah salah satu syarat dari data parametrik sehingga data yang di dapatkan akan memiliki karakteristik empirik yang mewakili populasi yang di teliti.

Uji beda mean dengan t tes pada penggujian ini tikus akan di lakukan pengujian pertama dan kedua yang dimana tujuannya adalah untuk membandingkan perbedaan atau kesamaan hasil dari rata-rata jumlah neuroglia. Pengujian ini nanti akan menggunakan t-test untuk mengetahui apakah perbedaan rata-rata dari hasil pemeriksaan dua kelompok berpasangan atau berhubungan antara satu sama lain.

3.9. Etika Penelitian

Uji kelayakan etik diajukan ke Komite Etik FK UII