

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah observational deskriptif dengan menggunakan desain penelitian potong lintang (*cross sectional*).

B. Populasi dan Sampel Penelitian

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah semua tikus yang ada di Kota Yogyakarta.

Kriteria inklusi kasus :

- a. Tikus liar yang berada di Kota Yogyakarta
- b. Tikus yang ditangkap dalam keadaan hidup

Kriteria eksklusi kasus :

- a. Tikus yang mati ketika akan diambil sampel darah atau ginjalnya
- b. Tikus peliharaan atau tikus untuk percobaan

2. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah semua tikus yang tertangkap di wilayah Kota Yogyakarta yang pernah dilaporkan terjadi kasus leptospirosis antara tahun 2011-2014. Berikut daerah yang pernah dilaporkan adanya kejadian leptospirosis pada tahun 2011-2014 antara lain : Kraton, Kota Gede, Gedong Tengen,

Umbulharjo, Tegal Rejo, Danurejan, Mantrirejon, Jetis, Mergangsan,
Pakualam, Gondomanan, Ngampilan.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian : Kelurahan yang tercatat di Dinas Kesehatan Kota
Yogyakarta yang pernah dilaporkan ada kasus
leptospirosis tahun 2011-2014

Waktu penelitian : Agustus 2016 – Agustus 2017

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

Dalam penelitian ini variabel yang akan dikaji adalah sebagai berikut:

Variabel bebas / independen : tikus

Variabel terikat/ dependen : serovar bakteri *Leptospira*

berdasarkan pemeriksaan MAT

2. Definisi Operasional

1. Tikus didalam penelitian ini adalah tikus liar yang berhasil ditangkap dan diambil ginjal dan serumnya di kelurahan yang tercatat di Dinas Kesehatan Kota Yogyakarta pernah dilaporkan terdapat kejadian leptospirosis pada tahun 2011-20114.

2. Serovar bakteri *Leptospira* adalah unit terkecil bakteri leptospira yang terdapat pada tikus berdasarkan pemeriksaan dengan metode MAT.

E. Instrumen Penelitian

1. Alat yang digunakan adalah alat perangkap, label, umpan tikus, gunting, tabung reaksi, pisau, tabel indentifikasi, alkohol dan *handscoon*.
2. Bahan yang digunakan adalah antigen untuk pemeriksaan MAT. Antigen yang terdapat di Balai Besar Veteriner Bogor antara lain : *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira javanica*, *Leptospira celledoni*, *Leptospira canicola*, *Leptospira ballum*, *Leptospira pyrogenes*, *Leptospira cynopteri*, *Leptospira rachmati*, *Leptospira australis*, *Leptospira pomona*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira hardjo*, *Leptospira bataviae*, dan *Leptospira tarassovi*.
3. Pemeriksaan laboratorium PCR (*Polymerase Chain Reaction*) untuk membedakan tikus positif atau negatif leptospirosis di Balai Penelitian dan Pengembangan Penyakit Bersumber Binatang (Balai Litbang P2B2) Banjarnegara.
4. Pemeriksaan serum tikus positif leptospirosis untuk mengidentifikasi serovar patogenik dengan metode MAT (*Microscopic Agglutination Test*) di Balai Besar Veteriner Bogor.

F. Cara Pengumpulan Data

A. Penangkapan Tikus

Penangkapan tikus dilakukan dengan menggunakan perangkap tikus (*live trap*). Penangkapan tikus dilakukan dengan memasang perangkap pada pagi hingga sore hari mulai pukul 10.00 -17.00 waktu

setempat dan diambil keesokan harinya antara pukul 06.00 - 12.00 waktu setempat. Penangkapan tikus menggunakan 1 hingga 2 buah perangkap yang diletakkan di tempat yang diperkirakan sering terdapat tikus. Umpan yang dipakai adalah makanan (kelapa, kue basah dan sebagainya). Perangkap dibiarkan ditempat selama 3 hari tetapi setiap hari perangkap harus diperiksa. Tikus yang tertangkap dibawa ke laboratorium mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

B. Identifikasi Tikus Menggunakan Tabel

Tikus yang berhasil ditangkap lalu diidentifikasi dengan memperhatikan karakteristik tikus antara lain : alamat asal tikus, berat tikus, panjang tubuh dari ujung kepala sampai ekor, panjang ekor, panjang telapak kaki ekor belakang, jumlah pasang susu, panjang badan, warna bulu badan, asal tikus (rumah/kebun/got/sawah), dan jenis tikus. Tujuan dari identifikasi ini adalah untuk menyajikan data tikus yang digunakan sebagai sampel penelitian.

C. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah darah dan ginjal tikus.

Cara pengambilannya :

- a. Gunakan handscoon
- b. Tikus dilumpuhkan sebelum diambil sampelnya dengan cara memukul bagian kepala
- c. Gunting sedikit bagian leher tikus

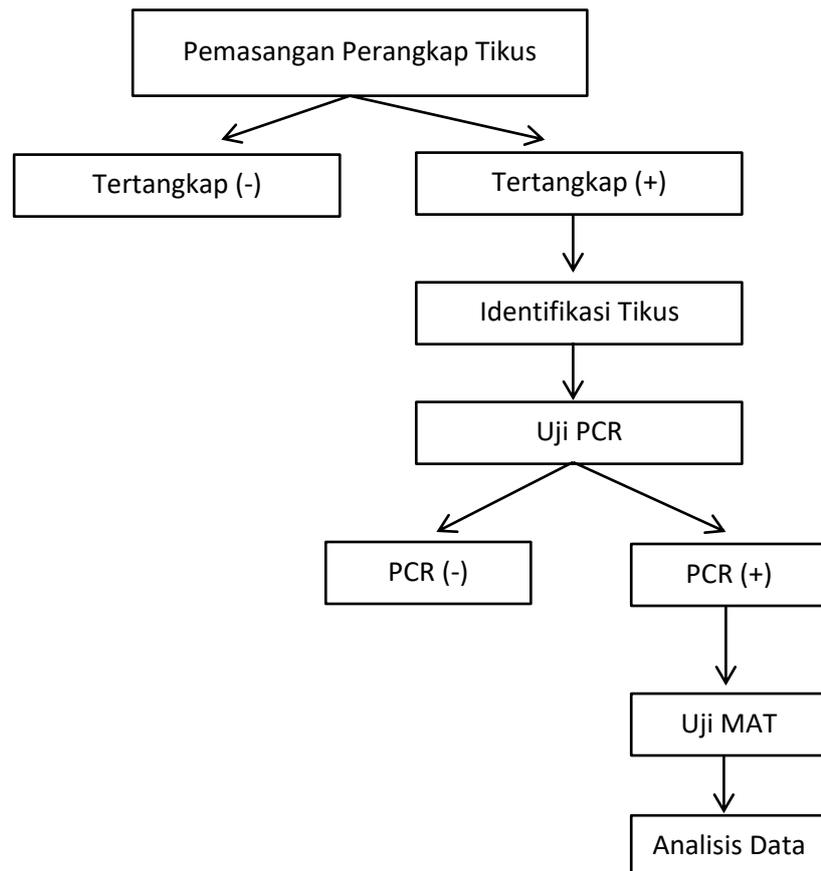
- d. Gunakan pisau untuk mendapatkan darahnya, bagian yang dibedah adalah otot leher
 - e. Setelah itu, masukan secara langsung aliran darah dari leher tikus kedalam tabung reaksi
 - f. Bedah bagian perut tikus untuk pengambilan ginjal tikus
 - g. Masukan kedalam kotak penyimpanan dan simpan di dalam lemari pendingin
 - h. Bagian tubuh tikus yang tidak dipergunakan dibakar lalu dikubur untuk menghindari adanya kontaminasi ke manusia dan lingkungan.
- D. Pengiriman sampel ginjal dan serum tikus ke Balai Penelitian dan Pengembangan Penyakit Bersumber Binatang (Balai Litbang P2B2) Banjarnegara.
- a. Sampel dimasukan ke dalam tabung
 - b. Lalu diletakkan didalam rak agar tidak tumpah
 - c. Dikemas menggunakan es untuk menghindari kerusakan sampel
- E. Pemeriksaan sampel dengan *PCR* di Balai Penelitian dan Pengembangan Penyakit Bersumber Binatang (Balai Litbang P2B2) Banjarnegara. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengetahui apakah tikus positif atau negatif terinfeksi leptospirosis.
- Tahapannya adalah sebagai berikut (Putro, 2016) :
- a. Isolasi DNA
 - b. Amplifikasi DNA

c. Elektroforesis

F. Pengiriman dan pemeriksaan sampel serum tikus positif leptospirosis dengan metode MAT di Balai Besar Veteriner Bogor. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mengidentifikasi serovar leptospira yang menginfeksi tikus. Tahapannya adalah sebagai berikut (BBalitvet, 2012 dalam Mulyani, dkk., 2016 ; Mutawadiah, 2015) :

- a. Sebanyak 0,05 ml enceran serum dengan *phosphate buffered saline* (PBS) dengan perbandingan 1:50 diisikan pada lubang *microtiter plate*, kemudian ditambahkan 0,05 ml antigen yang berupa kultur Leptospir dari berbagai serovar dan diinkubasi pada suhu 28-30°C selama 2 jam.
- b. Dengan menggunakan deluter campuran serum dan antigen dipindahkan ke kaca objek (tidak ditutup dengan kaca penutup) dibaca dengan mikroskop medan gelap pada pembesaran 100x. Serum yang menunjukkan reaksi 50% aglutinasi atau lebih dilakukan titrasi. Titrasi sebanyak 0,05 ml enceran serum 1:100, 1:200, 1:400 dan 1:1600 masing-masing diteteskan dalam lubang lubang *microtiter plate*, dan kemudian masing-masing enceran tersebut ditambahkan 0,05 ml antigen yang menunjukkan reaksi positif pada pemeriksaan pendahuluan, dan diinkubasi pada suhu 30°C selama 2 jam.
- c. Pembacaan dilakukan seperti pada pemeriksaan pendahuluan. Titik akhir pembacaan adalah 50% aglutinasi (atau 50% leptospira yang

tidak teraglutinasi) dan titer didefinisikan sebagai enceran akhir tertinggi serum dalam campuran serum dan antigen yang menunjukkan 50% aglutinasi atau lebih. Serum dengan titer 1:100 atau lebih terhadap salah satu serovar atau lebih dinyatakan positif.



Gambar 9. Cara Pengumpulan Data

G. Analisis Data

Pada penelitian data dianalisis secara deskriptif berdasarkan tabel identifikasi tikus yang telah dibuat.

H. Etika Penelitian

Pada penelitian ini, peneliti telah mempertimbangkan prosedur yang berkaitan dengan etika dalam penelitian dan mendapatkan

persetujuan dari Komite Etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta nomor : 206/EP-FKIK-UMY/IV/2018.