

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

4.1.1 Lingkup tempat

Tikus wistar diadaptasi di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Universitas Semarang. Perlakuan pada tikus, proses pengambilan jaringan dan pengukuran salinitas air dilakukan di Fakultas Tehnik Elektro Undip. Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Universitas Semarang. Pembacaan preparat dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran UNDIP. Pemeriksaan kadar kreati kinase-MB dilakukan di Laboratorium CITO Jl Indraparsta no. 81 Semarang.

4.1.2 Lingkup Waktu

Penelitian ini dilaksanakan selama 5 bulan (Oktober 2009 – Februari 2010)

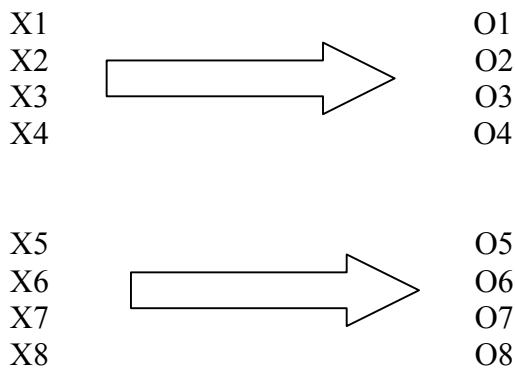
4.1.3 Lingkup Ilmu

Ilmu kedokteran Forensik, Ilmu Patologi Anatomi, Ilmu Patologi Klinik, Ilmu Histologi, Ilmu Fisika

4.2. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *Posttest Only design* yang menggunakan binatang coba sebagai obyek percobaan.

Skema rancangan penelitian untuk menganalisis efek variasi dosis *prelethal* dan *lethal* paparan arus listrik secara langsung (X1,X2,X3,X4) dan melalui medium air (X5,X6,X7,X8) terhadap kerusakan otot jantung dan kadar kreatin kinase-MB serum tikus wistar. Kelompok kontrol (X0) tidak mendapatkan paparan arus listrik.



Keterangan :

- X1 : paparan arus listrik 1-30 mA secara langsung
- X2 : paparan arus listrik 31-60 mA secara langsung
- X3 : paparan arus listrik 61-90 mA secara langsung
- X4 : paparan arus listrik 91-120 mA secara langsung

- X5 : paparan arus listrik 1-30 mA melalui medium air
- X6 : paparan arus listrik 31-60 mA melalui medium air
- X7 : paparan arus listrik 61-90 mA melalui medium air
- X8 : paparan arus listrik 91-120 mA melalui medium air

Gambar 5 Skema rancangan penelitian paparan arus listrik pada tikus wistar

4.3 Populasi dan sampel

4.3.1 Populasi

Populasi yang diteliti adalah tikus *Wistar* yang mendapat paparan listrik

4.3.2 Sampel

4.3.2.1 Kriteria inklusi

- a) Tikus jenis *Wistar* jantan
- b) Berat badan : 150– 250 gram
- c) Umur 3 – 4 bulan
- d) Anatomi tampak normal

4.3.2.2 Kriteria eksklusi

Tikus sakit/mati sebelum mendapat perlakuan

4.3.2.3 Kriteria *drop out*

Tikus lepas, mati ,sakit selama perlakuan

4.3.2.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus WHO dimana setiap kelompok perlakuan berjumlah 6 ekor tikus . Karena pada penelitian ini terdiri dari delapan

kelompok perlakuan maka pada penelitian ini diperlukan 48 ekor tikus wistar dan 6 ekor tikus wistar untuk kontrol.

4.3.2.5 Cara Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (*simple random sampling*), dimaksudkan untuk menghindari bias karena faktor variasi umur dan berat badan. Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus *Wistar* yang sudah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sehingga dianggap cukup homogen. Semuanya diambil secara acak dari kelompok tikus yang sudah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

- 1) Arus listrik bertingkat secara langsung

Skala : Ordinal

- 2) Arus listrik bertingkat melalui medium air

Skala : Ordinal

4.4.2 Variabel Antara

- 1) Nekrosis sel otot jantung

Skala : rasio

- 2) Titik hiperkontraksi serabut otot jantung
Skala : rasio

4.4.3. Variabel Tergantung :

Kreatinin kinase - MB

Skala : ratio

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Arus listrik bertingkat

Arus listrik bertingkat adalah besar arus listrik dosis *prelethal* dan dosis *lethal* yang digunakan untuk perlakuan paparan listrik, yaitu: 1-30 mA, 31-60 mA, 61-90 mA, dan 91-120 mA.

Skala : ordinal

Satuan : miliampere (mA).

4.5.2. Nekrosis otot jantung

Nekrosis otot adalah jumlah sel otot jantung yang mengalami piknosis, karioreksis atau kariolisis inti sel yang tampak dari lima lapangan pandang dalam satu preparat di bawah mikroskop cahaya Olympus BX 41 dengan pembesaran 400x.

Skala : rasio

Satuan jumlah nekrosis : buah

4.5.3 Titik hiperkontraksi serabut otot jantung

Titik hiperkontraksi serabut otot jantung adalah jumlah puncak gelombang hiperkontraksi serabut otot yang dibentuk oleh sekelompok sarkomer yang memendek tampak dari lima lapangan pandang dalam satu preparat di bawah mikroskop cahaya Olympus BX 41 dengan pembesaran 400x.

Skala : rasio

Satuan jumlah titik hiperkontraksi : buah

4.5.4 Kadar kreatin fosfokinase –MB (CK-MB)

Kadar CK-MB dalam darah tikus wistar yang diperiksa dengan COBAS Integral 400 *Plus-Roche*

Skala : ratio

Satuan : U/L

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat

4.6.1.1 Alat untuk paparan listrik

- a) Rangkaian listrik Perusahaan Listrik Negara (PLN) yang dihubungkan dengan suplai (regulator)

- b) Wadah dari kaca

4.6.1.2 Alat untuk pemeriksaan histopatologis

- a) Pisau skalpel
- b) Pinset bedah
- c) Gunting
- d) Mikroskop
- e) Object glass
- f) Kamera digital

4.6.1.3 Alat untuk mengukur kadar kreatin kinase-MB serum

COBAS Integral 400 *Plus-Roche*

4.6.1.4 Alat untuk menimbang tikus

4.6.2 Bahan

Bahan-bahan untuk percobaan ini :

- 1) Air sumur artesis
- 2) Tikus Wistar
- 3) Asam Pikrat
- 4) Spidol
- 5) Bahan-bahan untuk pembuatan blok parafin:

- a) Larutan bufer formalin 10%
- b) Parafin
- c) Larutan *Xylol*
- d) Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90%, 96%

4.7 Prosedur Pengumpulan Data

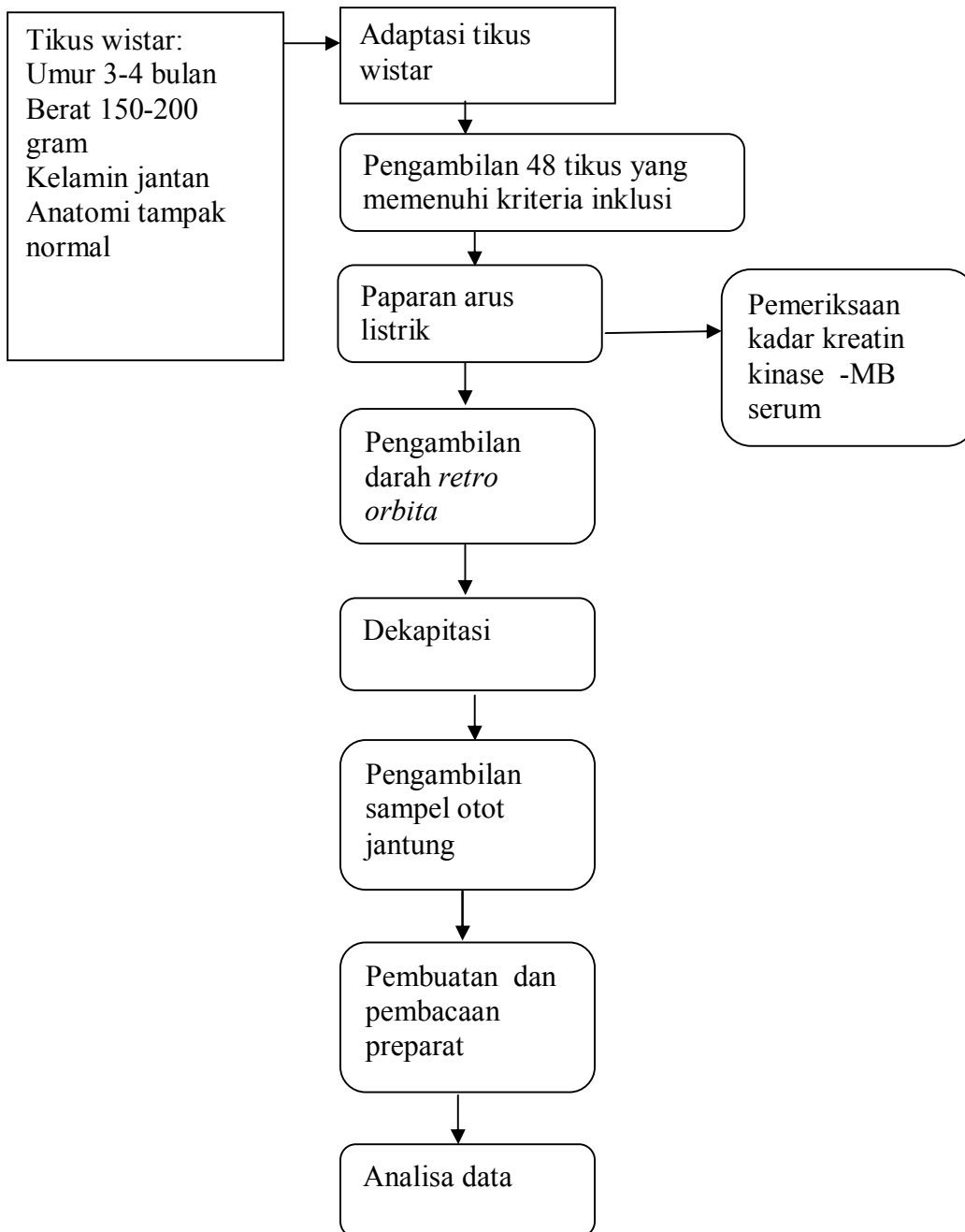
1. Melakukan adaptasi terhadap 54 ekor tikus wistar jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum secukupnya.
2. Pada hari ke-8, mengambil 54 tikus wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eklusi dan membagi tikus wistar menjadi 9 kelompok yang masing – masing terdiri dari 6 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak. Setiap kelompok tikus wistar diberi tanda dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala, punggung, ekor, dan kaki. Selanjutnya menimbang berat badan masing - masing tikus.
3. Memberikan paparan arus listrik secara langsung selama 60 detik pada kelompok 1, 2, 3, dan 4 dengan cara menjepitkan ujung konduktor (listrik masuk) pada telapak kaki kiri depan tikus wistar dan ujung konduktor lainnya (listrik keluar) di telapak kaki kanan belakang tikus wistar. Kelompok 1 mendapatkan paparan arus listrik 1-30 mA, kelompok 2 mendapatkan paparan arus listrik 31-60 mA, kelompok 3 mendapatkan

paparan arus listrik 61-90 mA, kelompok 4 mendapatkan paparan arus listrik 91-120 mA.

4. Memberikan paparan arus listrik melalui medium air selama 60 detik pada kelompok 5, 6, 7, dan 8 dengan cara mencelupkan ujung konduktor ke dalam wadah kaca/aquarium berukuran 20,5 x 19,5 x 14,5 sentimeter yang diisi air sumur artesis sebanyak 0,5 liter. Kelompok 5 mendapatkan paparan arus listrik 1-30 mA, kelompok 6 mendapatkan paparan arus listrik 31-60 mA, kelompok 7 mendapatkan paparan arus listrik 61-90 mA, kelompok 8 mendapatkan paparan arus listrik 91-120 mA.
5. Kelompok kontrol (kelompok 9) tidak mendapatkan paparan arus listrik.
6. Melakukan pengambilan darah sebanyak 2 mililiter dari pembuluh darah *retro orbita* tikus wistar yang telah mendapatkan paparan arus listrik maupun tikus wistar yang menjadi kontrol, kemudian darah tersebut dimasukkan ke dalam tabung dan selanjutnya dikirim ke Laboratorium CITO Jl. Indraprasta no.81 Semarang. Sampel darah diperiksa dengan menggunakan *COBAS integra 400 Plus-Roche*.
7. Mematikan hewan coba yang belum mati dengan cara *dislokasi* leher.
8. Membuat irisan pada kulit dada sampai perut tikus wistar dengan menggunakan pisau. Membuka rongga dada. Kemudian mengambil jantung. Sampel jantung tersebut diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet bufer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian otot dan 9 bagian bufer formalin 10 %.

9. Meletakkan tabung berisi sampel jantung tikus wistar ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis guna mengolahnya mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*. Dari setiap sampel otot dibuat preparat dengan potongan *longitudinal*. Preparat tersebut akan dibaca oleh seorang dokter spesialis patologi anatomi dan peneliti. Pembacaan preparat dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Sasaran yang dibaca adalah jumlah sel-sel otot jantung tikus wistar yang mengalami nekrosis dan jumlah titik-titik hiperkontraksi pada serabut-serabut otot jantung. Data pemeriksaan oleh pembimbing dan peneliti dicatat dalam formulir untuk kemudian dianalisa .

4.8 Alur kerja



4.9. Pengolahan dan Analisa Data

Setelah data terkumpul dilakukan *editing, coding, entry* untuk kemudian dianalisis secara deskriptif maupun analitik. Pengolahan dan analisis data dilakukan dengan menggunakan program komputer *Statistic Program Social Service (SPSS) 11.5 for windows*. Analisis data didahului dengan analisis deskriptif berupa rerata dan simpang baku kadar kreatin kinase-MB serum dan jumlah nekrosis sel otot jantung serta jumlah titik hiperkontraksi serabut otot jantung yang ditampilkan dalam bentuk tabel. *Uji korelasi Spearman* digunakan untuk menganalisis korelasi antara paparan arus listrik dosis bertingkat dengan jumlah nekrosis sel otot jantung dan jumlah titik hiperkontraksi serabut otot jantung. *Uji korelasi Spearman* digunakan juga untuk menganalisis korelasi antara paparan arus listrik dosis bertingkat dengan kadar kreatin kinase-MB serum. *Uji korelasi Pearson* digunakan untuk menganalisis korelasi antara jumlah nekrosis dan jumlah titik hiperkontraksi serabut otot jantung dengan kadar kreatin kinase- MB serum.^{43,44}

Uji t-tidak berpasangan (independent t-test) digunakan untuk menganalisis perbedaan jumlah nekrosis sel otot dan jumlah titik hiperkontraksi serabut otot jantung serta kadar kreatin kinase -MB serum tikus wistar antara kelompok yang terpapar arus listrik secara langsung dibandingkan dengan melalui medium air.⁴³⁻⁴

4.10. Etika Penelitian

Prosedur penelitian telah dimintakan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan FK Undip/RSUP Dr. Kariadi Semarang sebelum dilakukan penelitian. Seluruh biaya yang berhubungan dengan penelitian menjadi tanggung jawab peneliti.