

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini tercakup dalam bidang kesehatan gigi dan mulut. Penelitian ini dilakukan di kota Jogjakarta karena penambahan kendaraan bermotor tercatat sangat signifikan. Setiap bulannya sekitar 8.900 kendaraan bertambah di jalanan Kota Yogyakarta. Terdiri dari 8.000 unit sepeda motor dan 900 kendaraan roda empat.

4.2 Desain Penelitian

Desain penelitian adalah *cross-sectional*

4.3 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Lama masa kerja

2. Variabel Tergantung

Frekuensi mikronukleus sel epitel rongga mulut

3. Variabel Perancu

- a. Rokok
- b. Jenis kelamin
- c. Usia
- d. Kebersihan rongga mulut

4.4 Populasi dan Sampel

1. Populasi target

Meliputi pedagang kaki lima usia 25-40 tahun

2. Populasi terjangkau

Meliputi pedagang kaki lima di Kota Jogjakarta yang berusia 25-40 tahun

3. Sampel penelitian

a. Perkiraan jumlah sampel

Besar sampel minimal dihitung dengan rumus :

$$n1 = n2 = 2x \left[\frac{(z\alpha + z\beta)xs}{x1 - x2} \right]^2$$

Berdasarkan rumus di atas apabila diinginkan tingkat kepercayaan

95% maka didapatkan angka $Z_{\alpha} = 1,96$ dan $Z_{\beta} = 0,0842$ nilai s

didapatkan 2,05 dan $\chi_1 - \chi_2$ adalah 1,5 maka didapatkan sampel

minimal 29 orang. Untuk menghindari sampel yang *drop out* maka

jumlah sampel yang diperoleh ditambah 10% populasi sehingga

didapatkan jumlah sampel 32 orang perempuan pedagang kaki lima

yang memenuhi kriteria inklusi dan kontrol 32 orang laki-laki bekerja

sebagai pedagang kaki lima yang memenuhi kriteria inklusi.

Pemilihan sampel penelitian dengan *consecutive sampling*.

b. Kriteria inklusi sampel :

1) Wanita berumur 25-40 tahun.

2) Individu dewasa dengan kriteria OHI-S minimal cukup. Kriteria

cukup dipilih karena merupakan rata-rata nilai OHI-s masyarakat

Indonesia

- 3) Hadir saat penelitian.
- 4) Telah bekerja selama minimal 1 tahun.
- 5) Tidak merokok.

c. Kriteria eksklusi:

- Tidak bersedia mengikuti prosedur penelitian

d. Kriteria inklusi kontrol :

- 1) Laki-laki berumur 25-40 tahun.
- 2) Individu dewasa dengan kriteria OHI-S minimal cukup. Kriteria cukup dipilih karena merupakan rata-rata nilai OHI-s masyarakat Indonesia
- 3) Hadir saat penelitian.
- 4) Telah bekerja selama minimal 1 tahun.
- 5) Tidak merokok.

e. Kriteria eksklusi:

- Tidak bersedia mengikuti prosedur penelitian

4.5 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

No	Variabel	Unit	Skala
1	Kelompok	1 : Pedagang kaki lima 2 : kontrol	Nominal
2	Jumlah mikronukleus	Per 1000 sel	Rasio
3	Usia	Tahun	Rasio
4	Lama masa kerja	Tahun	Rasio

Mikronukleus : merupakan inti sel tambahan yang memiliki diameter sepertiga dari diameter nukleus utama dan tampak setelah dilakukan pengecatan Feulgen- Rossenback.

4.6 Cara Kerja Penelitian

4.6.1 Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat dan bahan untuk pengambilan spesimen sel epitel bukal subyek

- 1) Sikat sel



Gambar 6 . Sikat Sel

- 2) Air

b. Alat dan bahan untuk pembuatan preparat dan pengecatan

- 1) Gelas obyek
- 2) NaCl 0,09%
- 3) Metanol-asam asetat (3:1)
- 4) 5M HCl
- 5) Aquades
- 6) Reagen Schiff's
- 7) Counterstained Fast Green 1%
- 8) Glass cover slip

c. Alat dan bahan untuk penghitungan sel

- 1) Mikroskop cahaya (400x)
- 2) Handy counter

4.6.2 Jalannya Penelitian

a. Pengisian informed consent

- 1) Wawancara dilakukan untuk menanyakan kesediaan diri menjadi subjek penelitian dan data pribadi.
- 2) Subjek penelitian diminta untuk mengisi formulir informed consent setelah subyek diberi penjelasan mengenai penelitian secara lisan.

b. Pengambilan sel epitel mukosa bukal

- 1) Sebelum memulai pengambilan sampel, subyek diminta untuk berkumur dengan air putih satu gelas 250cc untuk menghilangkan debris di rongga mulut.
- 2) Tiap subjek diambil sediaan dengan metode smear menggunakan cytobrush (sikat sel) yang sudah dibasahi dengan air. Pengusapan dilakukan di mukosa bukal kanan dengan cara memutar sikat sel sekurang-kurangnya 360°.
- 3) Sikat sel lalu diusapkan pada gelas obyek agar sel menempel di gelas obyek tersebut. Pengusapan dilakukan dengan cara memutar sikat sel berlawanan dengan arah putaran pengusapan yang sebelumnya dilakukan pada mukosa bukal kanan.
- 4) Proses pengusapan mukosa dan pemindahan sel pada gelas obyek juga dilakukan pada mukosa bukal sebelah kiri.
- 5) Sel yang sudah diusap di gelas obyek diberi dua tetes NaCL 0,09% dan dibiarkan sampai kering.

- 6) Fiksasi dilakukan dengan merendam gelas obyek tersebut dalam larutan metanol-asetat (3:1).

c. Pengecatan preparat

- 1) Pengecatan dilakukan dengan metode modifikasi reaksi Feulgen-Rossenback.
- 2) Spesimen direndam dalam larutan 5M HCl pada suhu ruang selama 15 menit lalu dicuci dengan aquades selama 10-15 menit.
- 3) Selanjutnya spesimen diwarnai dengan reagen Schiff selama 90 menit dilanjutkan dengan pewarnaan Fast Green 1% selama 1 menit.

d. Interpretasi sel dan penghitungan sel

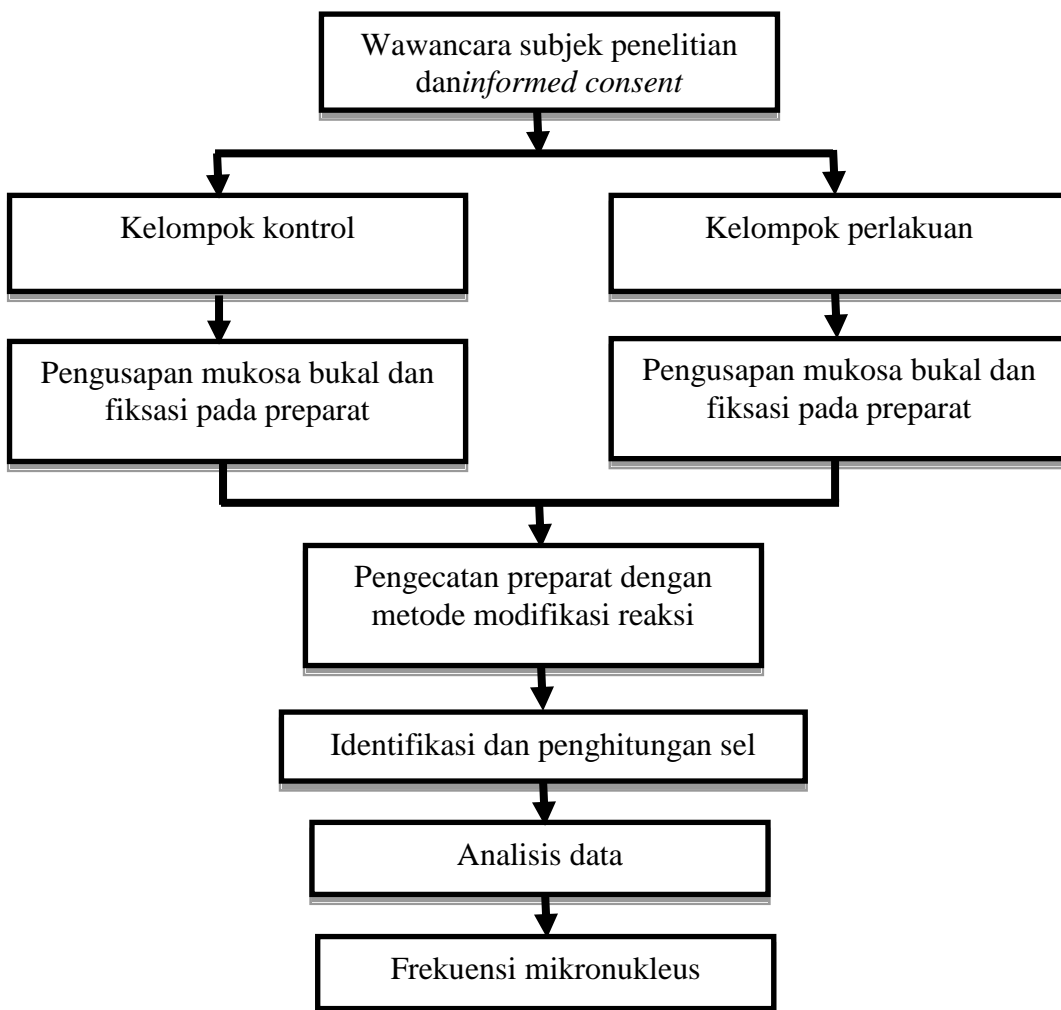
- 1) Spesimen kemudian diidentifikasi dengan menggunakan mikroskop cahaya (200x).
- 2) Dalam satu preparat setidaknya didapat hasil swab sejumlah 1000 sel setiap individu.
- 3) Sebelum menginterpretasi mikronukleus, sel yang dimasukkan dalam kriteria perhitungan harus memiliki parameter tertentu untuk bisa dilakukan skoring.
- 4) Parameter yang harus terpenuhi yaitu :
 - a) Sitoplasma sel masih utuh dan posisi sel dalam preparat relatif datar.
 - b) Sel yang diamati sedikit atau tidak bertumpukan dengan sel disebelahnya

- c) Nukleus normal dan utuh, perimeter nuklear halus, dan berbatas jelas
 - d) Preparat mengandung sedikit atau tidak ada debris sama sekali
- 5) Kriteria yang digunakan untuk mengidentifikasi mikronukleus pada sel antara lain :
- a) Perimeter nukleus bulat dan halus
 - b) Ukurannya kurang dari sepertiga diameter nukleus tetapi cukup besar untuk bisa dilihat baik bentuk maupun warnanya.
 - c) Pewarnaan Feulgen positif (nukleus berwarna merah muda dengan sedikit iluminasi)
 - d) Intensitas warna dan teksturnya mirip dengan nukleus
 - e) Inti sel tidak bertumpukan dan seolah memiliki jembatan dengan nukleus
- 6) Mikronukleus yang teridentifikasi dan sesuai kriteria di atas dihitung dengan menggunakan handy counter. Frekuensi mikronukleus ditulis dalam satuan per 1000 sel yang dihitung.
- 7) Anomali nukleus yang lain selain mikronukleus seperti nukleus piknotik, karyolisis, karyoreksis, nuclear bud (broken eggs), dan binucleated tidak dihitung.

e. Analisis data

Analisis data penelitian dengan menggunakan uji T independen dengan program SPSS dan apabila terdapat perbedaan bermakna, akan dilanjutkan dengan uji regresi untuk mengetahui sejauh apa pengaruh paparan mutagen dengan frekuensi pembentukan mikronukleus pada kelompok pedagang kaki lima.

4.7 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

4.8 Pengelolaan dan Analisis Data

Data yang diperoleh untuk masing-masing responden dalam formulir pencatatan data yang ada, ditabulasi kemudian dilakukan analisis statistik melalui proses :

1. Penyuntingan

Bertujuan untuk mengoreksi data, meliputi kebenaran dan kelengkapan pencatatan. Penyuntingan dilakukan di tempat pengumpulan data agar apabila terjadi kesalahan atau kekurangan dapat segera dilakukan perbaikan.

2. Tabulasi dan Pengelompokan data

Data yang terkumpul dipindahkan ke dalam tabel dan dikelompokkan sesuai variabel penelitian.

3. Analisis Data

Data hasil penelitian adalah rerata jumlah sel mikronukleus kelompok terpapar dan kontrol yang akan dimasukkan kedalam data komputer dan disajikan dalam bentuk tabel. Data dari kelompok perlakuan tersebut dianalisis normalitasnya dengan Kolmogorov smirnov. Bila distribusi datanya normal, dilakukan analisis statistik parametrik Uji T independen, sedangkan bila distribusi datanya tidak normal, dilakukan analisis statistik nonparametrik Mann-whitney. Nilai kemaknaan atau signifikansi uji ini apabila nilai $p < 0,05$ (tingkat kepercayaan 95%). Semua analisis statistik tersebut dilakukan dengan menggunakan program SPSS

