

## **BAB 4**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang kesehatan gigi dan mulut. Penelitian ini dilakukan di DIY Yogyakarta yang mempunyai pengguna sepeda motor sebanyak 256.224 dengan kepadatan 7.883 sepeda motor per kilometer persegi. Jumlah ini lebih banyak dibandingkan dengan jumlah pengguna sepeda motor di Kota Semarang sebanyak 216.916 dengan kepadatan sebesar 580,5 sepeda motor perkilo meter persegi.<sup>28</sup>

#### **4.2 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah cross-sectional. Dalam hal ini, peneliti akan meneliti dalam satu waktu pengamatan.

#### **4.3 Identifikasi Variabel**

1. Variabel Bebas
  - a. Paparan emisi gas buang kendaraan bermotor
  - b. Usia
  - c. Masa kerja
  - d. Status merokok
  - e. Konsumsi rokok per hari
  - f. Status kebersihan mulut menggunakan kriteria Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S)

2. Variabel Terikat

Pembentukan mikronukleus sel epitel rongga mulut

3. Variabel Tidak Terkendali

Variasi biologis sebagai ekspresi sifat genetik

#### 4.4 Populasi dan Sampel

##### 1. Populasi Target

Meliputi petugas parkir di wilayah padat lalu lintas.

##### 2. Populasi Terjangkau

Meliputi petugas parkir yang berusia 20 – 40 tahun di kota Yogyakarta.

##### 3. Sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti.<sup>30</sup> Sampel penelitian ini diambil dengan menggunakan rumus:

$$n_1 = n_2 = 2x \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)xs}{X_1 - X_2} \right]^2$$

Dengan menggunakan rumus di atas, bila tingkat kepercayaan diambil 95%, maka menurut tabel Z besarnya  $z_{\alpha} = 1,96$  dan  $z_{\beta} = 0,842$ , serta  $s = 2,05$ . Adapun besarnya  $x_1 - x_2 = 1,5$ . Berdasarkan data tersebut diperoleh sampel minimal adalah 29 orang.

Sampel penelitian ini, baik kelompok eksperimen maupun kelompok kontrol diambil secara proposional, yaitu 50% dari populasi, sehingga diperoleh sampel sebanyak 32 orang, terdiri dari kelompok eksperimen 32 orang dan kelompok kontrol 32 orang. Bila dirujuk dengan sampel minimal di atas, maka pengambilan sampel memenuhi syarat.

#### 4. Kriteria Inklusi

##### a. Kriteria Inklusi Sampel

- 1) Petugas parkir yang terpapar emisi gas buang kendaraan bermotor
- 2) Usia : 20 – 40 tahun
- 3) Masa kerja : minimal 3 tahun
- 4) Konsumsi rokok per hari : > 5 batang per hari
- 5) Status kebersihan mulut menggunakan kriteria *Simplified Oral Hygiene Index (OHI-S)*

##### b. Kriteria inklusi kontrol :

- 1) Laki-laki berumur 20 – 40 tahun
- 2) Hadir saat penelitian.
- 3) Telah bekerja selama minimal 1 tahun.
- 4) Tidak merokok.

#### 5. Kriteria eksklusi

Subyek mengundurkan diri selama penelitian berlangsung.

#### 4.5 Definisi Operasional

**Tabel 2.** Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1	Kelompok	1. Petugas parkir yang bekerja di tempat parkir padat kendaraan bermotor 2. Kontrol : Orang yang tidak terpapar	Nominal
2	Jumlah Mikronukleus	Mikronukleus merupakan sel tambahan berdiameter sepertiga dari diameter nukleus utama dan tampak setelah dilakukan pengecatan Feulgen Rossenback, ditentukan per 1000 sel	Rasio
3	Usia	Usia petugas parkir yang dapat dipandang sebagai usia efektif, antara 20 - 40 tahun	Rasio

No	Variabel	Unit	Skala
4	Masa Kerja	Lama kerja sebagai petugas parkir, > 3 tahun	Rasio
5	Merokok	1. Lama merokok minimal 3 tahun 2. konsumsi rokok > 5 batang per hari	Rasio
6	Oral Hygiene	Nilai kebersihan mulut yang didapat dari hasil penjumlahan Indeks Kalkulus dan Indeks Debris	Rasio

#### 4.6 Bahan dan Alat

Bahan dan alat yang digunakan untuk penelitian terdiri dari tiga kelompok, yaitu:

1. Bahan dan alat untuk pengambilan spesimen sel epitel bukal subyek:
  - a. Sikat sel;
  - b. Air.
2. Bahan dan alat untuk pembuatan preparat dan pengecatan:
  - a. Gelas obyek;
  - b. NaCl 10,09%;
  - c. Methanol Asam Asetat (3:1);
  - d. 5 M HCl;
  - e. Aquades;
  - f. Reagen Schiff's;
  - g. *Counterstained Fast Green* 1%.
  - h. *Glass cover slip*
3. Bahan dan alat untuk penghitung sel:
  - a. Mikroskop cahaya (400 X);
  - b. *Handy counter*.

## 4.7 Jalannya Penelitian

1. Pengisian *informed consent*
  - a. Wawancara dilakukan untuk menanyakan kesediaan diri menjadi subyek penelitian dan data pribadinya.
  - b. Subyek penelitian diminta untuk mengisi formulir *informed consent* setelah subyek diberi penjelasan mengenai penelitian secara lisan.
2. Pengambilan sel epitel mukosa bukal
  - a. Sebelum memulai pengambilan sampel, subyek diminta untuk berkumur dengan air putih satu gelas 250cc untuk menghilangkan debris di rongga mulut.
  - b. Tiap subyek 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°.
  - c. 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.
  - d. Proses pengusapan mukosa dan pemindahan sel pada gelas obyek juga dilakukan pada mukosa bukal sebelah kiri.
  - e. Sel yang sudah diusap di gelas obyek diberi dua tetes NaCL 0,09% dan dibiarkan sampai kering.
  - f. Fiksasi dilakukan dengan merendam gelas obyek tersebut dalam larutan metanol-asetat (3:1).

3. Pengecatan preparat
  - a. Pengecatan dilakukan dengan metode modifikasi reaksi Feulgen-Rossenback.
  - b. Spesimen direndam dalam larutan 5M HCl pada suhu ruang selama 15 menit lalu dicuci dengan aquades selama 10-15 menit.
  - c. Selanjutnya spesimen diwarnai dengan reagen schiff selama 90 menit dilanjutkan dengan pewarnaan Fast Green 1% selama 1 menit.
4. Interpretasi sel dan penghitungan sel
  - a. Spesimen kemudian diidentifikasi dengan menggunakan mikroskop cahaya (200x).
  - b. Dalam satu preparat setidaknya didapat hasil swab sejumlah 1000 sel individu.
  - c. Sebelum menginterpretasi mikronukleus, sel yang dimasukkan dalam kriteria perhitungan harus memiliki parameter tertentu untuk bisa dilakukan skoring.
  - d. Parameter yang harus terpenuhi yaitu :
    - 1) Sitoplasma sel masih utuh dan posisi sel dalam preparat relatif datar.
    - 2) Sel yang diamati sedikit atau tidak bertumpukan dengan sel di sebelahnya.
    - 3) Nukleus normal dan utuh, perimeter nuklear halus dan berbatas jelas.
    - 4) Preparat mengandung sedikit atau tidak ada debris sama sekali.

- e. Kriteria yang digunakan untuk mengidentifikasi mikronukleus pada sel antara lain:
  - 1) Perimeter nukleus bulat dan halus.
  - 2) Ukurannya kurang dari sepertiga diameter nukleus tetapi cukup besar untuk bisa dilihat baik bentuk maupun warnanya.
  - 3) Pewarnaan Feulgen positif (nukleus berwarna merah muda dengan sedikit iluminasi)
  - 4) Intensitas warna dan teksturnya dengan nukleus
  - 5) Inti sel tidak bertumpukan dan seolah memiliki jembatan dengan nukleus
- f. Mikronukleus yang teridentifikasi dan sesuai kriteria diatas dihitung dengan menggunakan *handy counter*. Frekuensi mikronukleus ditulis dalam satuan per 1000 sel yang dihitung.
- g. Anomali nukleus yang lain selain mikronukleus seperti nukleus piktonik, karyolisis, karyoreksis, *nuclear bud (broken eggs)*, dan *binucleated* tidak dihitung.

#### **4.8 Analisis Data**

- 1. Untuk mengetahui perbedaan rerata mikronukleus antara petugas parkir yang terpapar gas buang kendaraan bermotor dan asap rokok dengan kelompok kontrol yang tidak terpapar gas buang kendaraan bermotor dan asap rokok digunakan uji beda rerata, sebagai berikut:
  - a. Bila data terdistribusi normal dan homogen digunakan Uji T.
  - b. Bila data tidak terdistribusi normal dan homogen digunakan uji Mann Whitney.

2. Untuk mengetahui faktor-faktor yang kemungkinan ikut berperan dalam pembentukan mikronukleus pada mukosa rongga mulut digunakan analisis multivariat yaitu uji regresi linear yang terdiri dari variabel:

X1 = paparan gas buang kendaraan bermotor

X2 = usia

X3 = masa kerja

X4 = status merokok

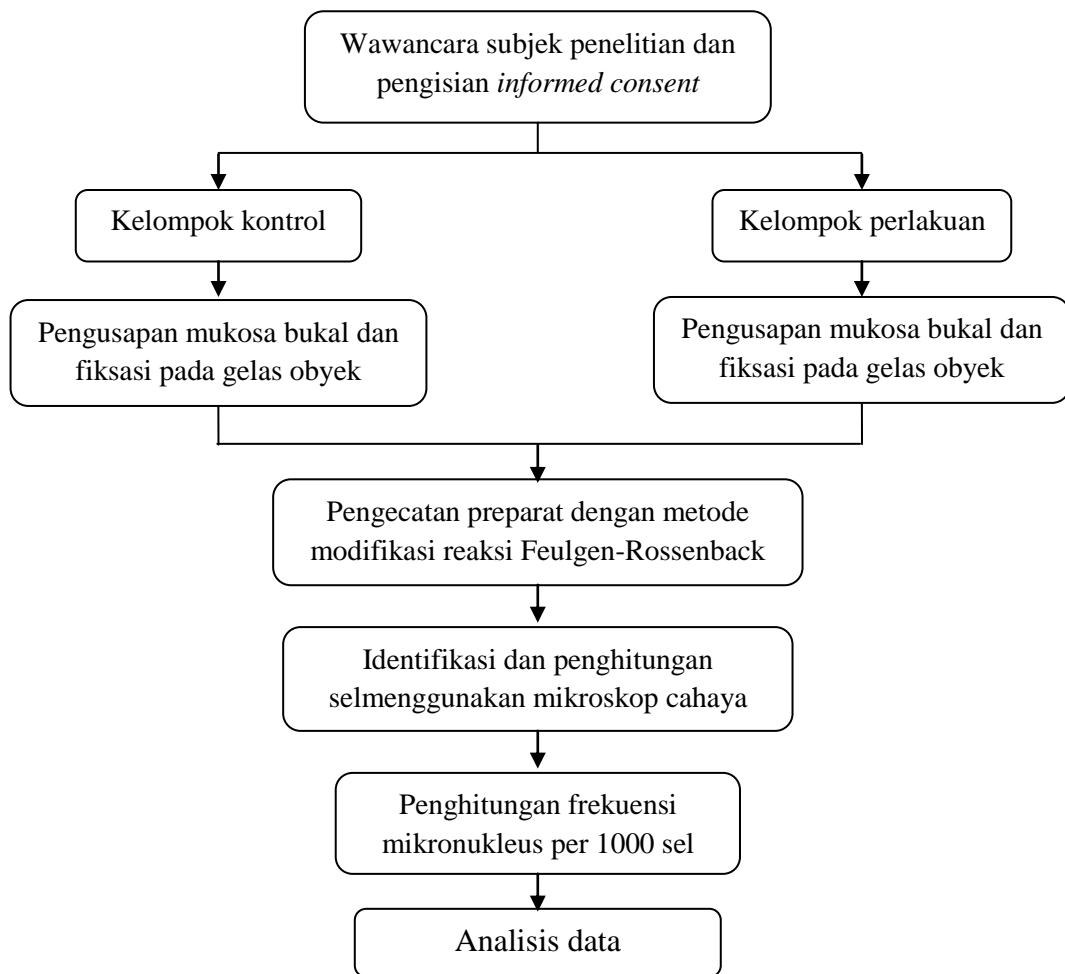
X5 = konsumsi rokok per hari

X6 = *Oral hygiene*

Analisis regresi maupun Uji T dalam penelitian ini menggunakan bantuan program SPSS.



#### 4.9 Alur Penelitian



**Gambar 8.** Alur Penelitian

#### 4.10 Etika Penelitian

Sebelum melakukan penelitian, peneliti mengajukan usulan penelitian kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP Dr. Kariadi Semarang untuk mendapat surat keterangan *ethical clearance*. Lalu peneliti meminta kepada petugas parkir yang memenuhi kriteria inklusi, dijelaskan bahwa mereka akan diikutkan dalam penelitian ini dan diminta kesediaannya untuk menjadi

subyek penelitian dengan menandatangani *informed consent*. Subyek penelitian akan dijelaskan tentang prosedur penelitian yang akan dilakukan. Semua biaya akan ditanggung peneliti.

#### 4.11 Jadwal Penelitian

**Tabel 3.** Tabel Jadwal Penyusunan Karya Tulis Ilmiah

	2012	2013							
	Des	Jan	Feb	Mar	April	Mei	Jun	Jul	Agus
Penyusunan proposal	√	√	√						
Ujian proposal			√						
Pengambilan sampel				√	√				
Pengolahan dan analisis data						√	√		
Penyusunan Karya Tulis Ilmiah							√	√	
Ujian hasil									√