

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup ilmu dalam penelitian ini adalah ilmu kedokteran forensik, farmakologi dan ilmu patologi anatomi.

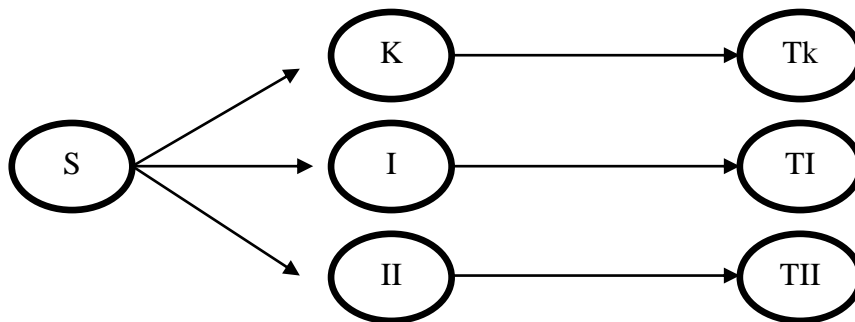
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Adaptasi tikus wistar, perlakuan paparan dengan memberikan boraks dosis 0 mg/kgBB/hari, 300 mg/kgBB/hari dan 600 mg/kgBB/hari yang dicampur dengan air minum, pembuatan blok paraffin sampai pewarnaan/engecatan jaringan dilakukan di Laboratorium Fakultas dan Ilmu Pengetahuan Alam (F-MIPA) Universitas Negeri Semarang, sedangkan interpretasi hasil patologi anatomi sampel gaster dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Penelitian dilakukan selama 4 minggu, yaitu mulai Maret 2013 hingga April 2013.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian only post tes control group design yang menggunakan hewan coba sebagai obyek percobaan.



Gambar 4. Rancangan Penelitian

Keterangan:

S = Kelompok Sampel

K = Kelompok Kontrol (Boraks peroral 0 mg/kgBB/hari)

I = Kelompok Perlakuan 1 (Boraks peroral 300 mg/kgBB/hari)

II = Kelompok Perlakuan 2 (Boraks peroral 600 mg/kgBB/hari)

Tk = Test Kelompok Kontrol

TI = Test Kelompok Perlakuan 1

TII = Test Kelompok Perlakuan 2

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi target

Adalah tikus Wistar jantan.

4.4.2 Populasi terjangkau

Adalah tikus Wistar jantan keturunan murni, umur 3 bulan, berat badan 150 – 200 gram, sehat, tidak ada kelainan anatomi, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

4.4.3 Sempel penelitian

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

- 1) Tikus jenis Wistar jantan
- 2) Berat badan : 150 – 200 gram
- 3) Umur 3 bulan
- 4) Anatomi tampak normal
- 5) Tikus tampak sehat dan aktif

4.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus mati sewaktu mendapat perlakuan

4.4.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Untuk menghindari bias karena faktor variasi umum dan berat badan maka pengambilan sampel dilakukan secara acak sederhana (simple random sampling). Randomisasi langsung dapat dilakukan karena sampel diambil dari tikus Wistar jantan 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.

4.4.3.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus WHO (1993), jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tiap kelompok. Pada penelitian kali ini ditambahkan 2 tikus cadangan pada masing – masing perlakuan, oleh karena itu maka dibutuhkan total 21 ekor tikus.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah boraks peroral dosis bertingkat.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah gambaran histopatologi gaster tikus wistar.

4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Nilai	Skala
Bebas	Boraks	Boraks digunakan boraks yang beredar di masyarakat. Dilakukan percobaan tanpa paparan boraks sebagai kelompok kontrol, dosis 300 mg/kgBB/hari dipilih sebagai acuan dari penelitian sebelumnya (Silvia,2004) sebagai kelompok perlakuan	yang 1)K = 0 adalah mg/kgBB/hari 2)P1 = 300 mg/kgBB/hari 3)P2 = 600 mg/kgBB/hari	Rasio

1, dan dosis 600
mg/kgBB/hari sebagai
kelompok perlakuan

2.

Cara memasukkan
boraks peroral adalah
dengan cara
mencampurkan dosis
boraks tersebut
dengan air sebanyak 3
ml. Kemudian air
minum tersebut
dimasukkan ke traktus
digestivus dengan cara
disonde.

Takaran boraks yang
akan disonde pada
kelompok perlakuan 1
yaitu sebanyak
100mg/cc
(300mg/3cc), dan
pada kelompok
perlakuan 2 sebanyak

200mg/cc

(600mg/3cc).

Untuk dosis lethal pada boraks pada tikus sebesar 5,66 g/kg berdasarkan U.S National Institute of Health.

Tergantung	Gambaran	Gambaran	1	Normal	Interval
	mikroskopis	mikroskopis	gaster	2	Deskuamasi
	gaster tikus	yang dimaksud adalah			epitel
	wistar	menilai	tingkat	3	Erosi mukosa
		kerusakan	gaster	4	Ulserasi
		dengan mikroskop			
		cahaya menggunakan			
		pembesaran 400 kali			
		pada 100 sel dengan			
		lima pandang.			
		Penilaian tingkat			
		kerusakan sel gaster			
		dengan sistem skor			
		berdasarkan			
		modifikasi Barthel			

Manja²⁰ sebagai

berikut:

- 1) Normal : tidak ada perubahan patologis
 - 2) Deskuamasi epitel berupa kerusakan ringan epitel tanda adanya celah.
 - 3) Erosi permukaan epitel berupa celah pada satu sampai sepuluh epitel per lesi.
 - 4) Ulserasi : ditandai dengan adanya celah lebih dari sepuluh epitel per lesi. Pada stadium ini biasanya terdapat jaringan granulasi dibawah epitel.
-

Gambaran	Gambaran	0. Normal	Interval
makroskopis	makroskopis gaster	1. Kerusakan	
gaster tikus	dapat dilihat dengan	1 – 25%	
wistar	menggunakan kaca	2. Kerusakan	
	pembesar. Di nilai	26 – 50%	
	dengan menggunakan	3. Kerusakan	
	skor morfologi	51 – 75%	
	kerusakan mukosa	4. Kerusakan	
	gaster	76 – 100%	

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1. Bahan

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Boraks
- 3) Asam pikrat
- 4) Air
- 5) *Object glass* dan *deck glass*
- 6) Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan :
 - a) Larutan buffer formalin 10%
 - b) Paraffin
 - c) Albumin
 - d) *Hematoksilin Eosin*

- e) Asam asetat
- f) Larutan *Xylol*
- g) Alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 96%
- h) Aquades

4.7.2. Alat

4.7.2.1. Alat Pemberi Perlakuan

- 1) Kandang tikus
- 2) Sonde
- 3) Spuit 5cc

4.7.2.2. Alat Autopsi

- 1) Scalpel
- 2) Pinset
- 3) Gunting
- 4) Botol untuk menyimpan organ

4.7.2.3. Alat Pemeriksaan Mikroskopis

- 1) Mikroskop cahaya
- 2) Kamera digital

4.7.2.4. Alat Pemeriksaan Makroskopis

- 1) Kaca pembesar

4.7.3. Jenis Data

Data yang dikumpulkan merupakan data primer, yaitu data berasal dari penelitian perubahan makroskopis dan mikroskopis gaster tikus wistar dari kelompok control dan kelompok perlakuan yang diberi paparan boraks peroral dosis bertingkat.

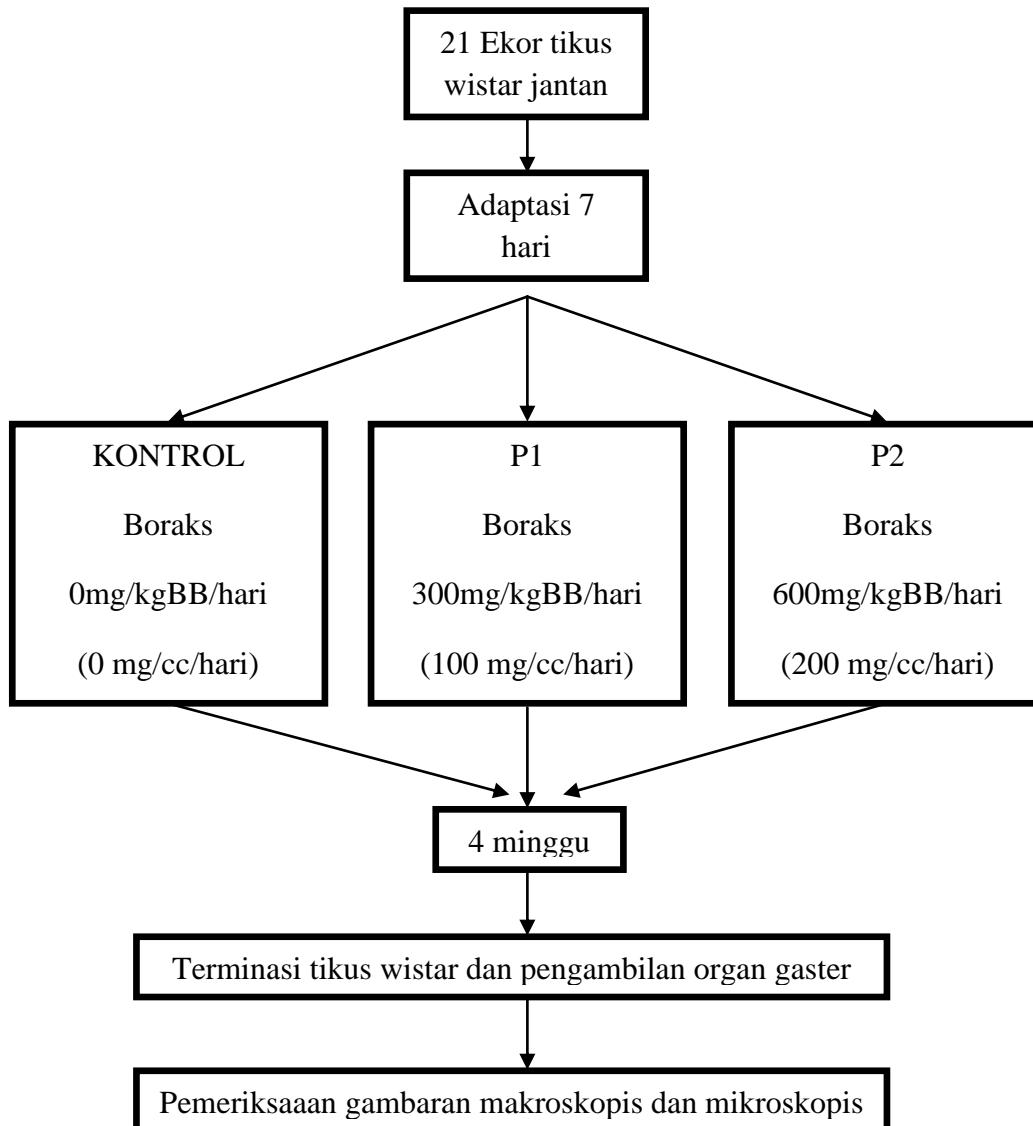
4.7.4. Cara Kerja

- 1) Melakukan adaptasi terhadap 21 ekor tikus wistar jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*.
- 2) Pada hari ke-8, membagi tikus wistar menjadi 3 kelompok yang masing–masing terdiri dari 7 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak. Kemudian memberi tanda dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala dan punggung.
- 3) Menimbang berat badan masing-masing tikus.
- 4) Mulai hari ke-8 sampai hari ke-28 pada kelompok kontrol (K) diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* tanpa diberi boraks. Kelompok Perlakuan 1 (P1) diberikan boraks dengan dosis 300 mg/kgBB/hari (100mg/cc) yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan perorale sekali sehari , pakan standar dan minum *ad libitum*. Kelompok Perlakuan 2 (P2) diberikan boraks dengan dosis 600 mg/kgBB/hari (200mg/cc)

yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan peronde sekali sehari , pakan standar dan minum *ad libitum*

- 5) Pada hari ke-28 mematikan tikus wistar dengan cara dislokasi leher.
- 6) Melakukan otopsi pada masing – masing tikus dan mengambil organ gaster kemudian menimbang berat masing-masing organ gaster Kelompok Kontrol (K), Kelompok Perlakuan 1 (P1), dan Kelompok Perlakuan 2 (P2) kemudian dicatat hasilnya dan dibandingkan hasilnya antara kelompok perlakuan yang diberikan paparan boraks peroral dengan kelompok kontrol.
- 7) Meletakkan tabung berisi sampel gaster tikus wistar ke rak tabung kemudian diserahkan ke analis guna mengolahnya mengikuti metode baku histologi dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Dari setiap sampel gaster dibuat preparat dengan potongan longitudinal. Preparat tersebut akan dibaca dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x dengan menggunakan mikroskopop cahaya. Sasaran yang dibaca adalah adanya deskuamasi epitel, erosi permukaan epitel dan ulserasi epitel.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 17.0 dan dilihat kurva distribusi datanya dengan uji Shapiro Wilk. Bila kurva distribusi datanya normal, dilakukan uji beda dengan One Way Anova lalu dilanjutkan dengan uji analisis Post Hoc. Apabila kurva distribusi datanya tidak normal, dilakukan uji beda dengan menggunakan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis, lalu dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik non parametrik Mann-Whitney. Ada perbedaan bermakna apabila $p < 0,05$.

4.10. Etika Penelitian

Sebelum penelitian dilakukan akan dimintakan *Ethical Clearence* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Tikus wistar dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Hewan diberi makan dan minum *ad libitum*. Untuk perlakuan, boraks dosis bertingkat dicampur dengan air hingga 3 ml kemudian dimasukkan peroral dengan cara disondekan. Hewan diterminasi dengan cara dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian akan ditanggung oleh peneliti.

