

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang lingkup penelitian

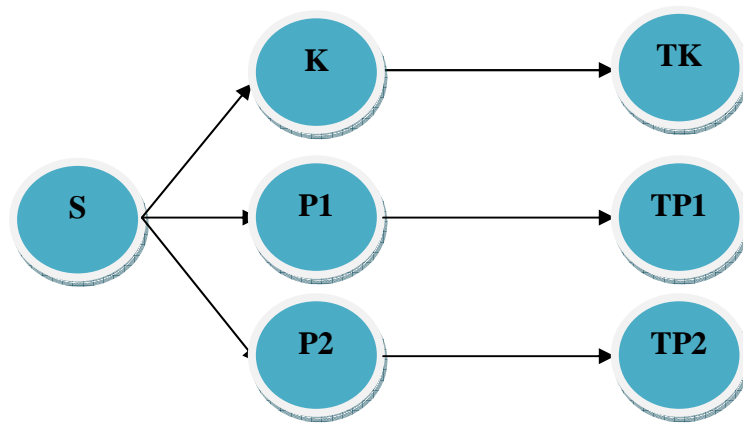
Ruang lingkup penelitian ini adalah ilmu biokimia, ilmu kedokteran forensik, ilmu farmakologi dan ilmu patologi anatomi.

4.2 Tempat dan waktu penelitian

Adaptasi tikus wistar, perlakuan paparan dengan boraks peroral dosis 300 dan 600 mg/kgBB/ hari yang diberikan dengan cara di sonde selama 4 minggu dilanjutkan 2 minggu tanpa paparan boraks, dan pembuatan blok paraffin sampai pengecatan jaringan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Sedangkan interpretasi hasil makroskopis dan mikroskopis sampel ginjal dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penelitian ini dilaksanakan selama 4 minggu dilanjutkan 2 minggu tanpa paparan boraks, yaitu mulai Maret 2013 hingga Mei 2013.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian experimental laboratorik dengan rancangan *Post test only control group design* yang menggunakan hewan coba berupa hewan coba tikus wistar sebagai objek penelitian.



Gambar 6. Rancangan Penelitian

Keterangan :

S = Kelompok sampel

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

P1 = Kelompok perlakuan 1 (Boraks peroral 300mg/kgBB/hari)

P2 = Kelompok perlakuan 2 (Boraks peroral 600mg/kgBB/hari)

Tk = Test kelompok kontrol

T1 = Test kelompok perlakuan 1

T2 = 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 galur murni, umur 3-4 bulan, berat badan 150 – 200gram, sehat, tidak ada kelainan anatomi, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.

4.4.3. Sampel

4.4.3.1. Kriteria inklusi

- a) Tikus jenis wistar jantan
- b) Berat badan : 150 – 200 gram
- c) Umur 3 – 4 bulan
- d) Anatomi tampak normal

4.4.3.2. Kriteria eksklusi

- a) Tikus mati sewaktu mendapat perlakuan

4.4.4 Cara Pengambilan sampel

Cara pengambilan sample adalah dengan menggunakan *simple random sampling*. Randomisasi dilakukan pada tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta telah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

4.4.5. Besar sample

Berdasarkan WHO, maka besar sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 tikus. Karena akan dilakukan percobaan terhadap 3 kelompok dan untuk tiap kelompok ditambahkan 2 ekor tikus sebagai cadangan, maka total tikus yang dibutuhkan adalah 21 ekor.

4.5 Variabel penelitian

4.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah boraks.

4.5.2. Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah perubahan makroskopis dan mikroskopis ginjal tikus wistar.

4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

| Jenis | Nama | | | |
|----------|----------|--|--|---------|
| Variabel | Variabel | Definisi Operasional | Nilai | Skala |
| Bebas | Boraks | Boraks yang digunakan peroral dosis bertingkat umumnya beredar di masyarakat | K = 0 mg/hari P1=300mg/kgB B/hari yang P2=600mg/kgB | Ordinal |

berbentuk serbuk. B/hari

Dosis 0mg/kgBB/hari

sebagai kelompok

kontrol yang tidak

diberikan boraks, dosis

300 mg/kgBB/hari

dipilih sebagai acuan dari

penelitian sebelumnya

(Silvia,2004) sebagai

kelompok perlakuan 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 Institutes of Health*.

| Tergantung | Gambaran | Perubahan makroskopis | Interval |
|------------|---------------------------------|--|----------|
| | Makroskopis ginjal tikus wistar | pada penelitian kali ini diidentifikasi melalui perbedaan antara berat organ ginjal tikus wistar pada kelompok kontrol dibandingkan dengan berat organ ginjal tikus wistar pada kelompok | |

coba.

| Gambaran | Gambaran | histopatologi | Perhitungan | Interval |
|-------------|----------|---------------------------|--------------|----------------|
| Mikroskopis | ginjal | tikus | wistar | kerusakan |
| ginjal | tikus | didapatkan | dengan | tubulus ginjal |
| wistar | | menghitung | kerusakan | dihitung per |
| | | tubulus pada | ginjal tikus | lapangan |
| | | wistar yang telah | dicat | pandang. 1 |
| | | <i>PAS-Jones</i> , | kemudian | sampel tikus |
| | | diamati | menggunakan | dilihat per 5 |
| | | mikroskop cahaya | dengan | lapangan |
| | | perbesaran 400 kali | dalam | pandang. |
| | | ± 5 lapangan | pandang. | |
| | | Penilaian | gambaran | |
| | | histopatologi ginjal | sesuai | |
| | | dengan perubahan | struktur | |
| | | histopatologi | sebagai | |
| | | berikut: | | |
| | | 1) Lumen menyempit | | |
| | | 2) Hilangnya brush border | | |
| | | 3) Protein cast | | |
| | | 4) Radang | | |

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Boraks
- 3) Asam pikrat
- 4) Air
- 5) 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% dan 96%
 - h) Aquades

4.7.2 Alat

4.7.2.1 Alat Pemberi Perlakuan

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

4.7.2.2 Alat Autopsi

- 1) Scalpel

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

4.7.2.4 Alat Pemeriksaan Mikroskopis

- 1) Mikroskop cahaya
- 2) *Object glass* dan *deck glass*
- 3) Kamera digital

4.7.2.5 Alat Pemeriksaan Makroskopis

- 1) Timbangan

4.7.3 Jenis Data

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

4.7.4 Cara Kerja

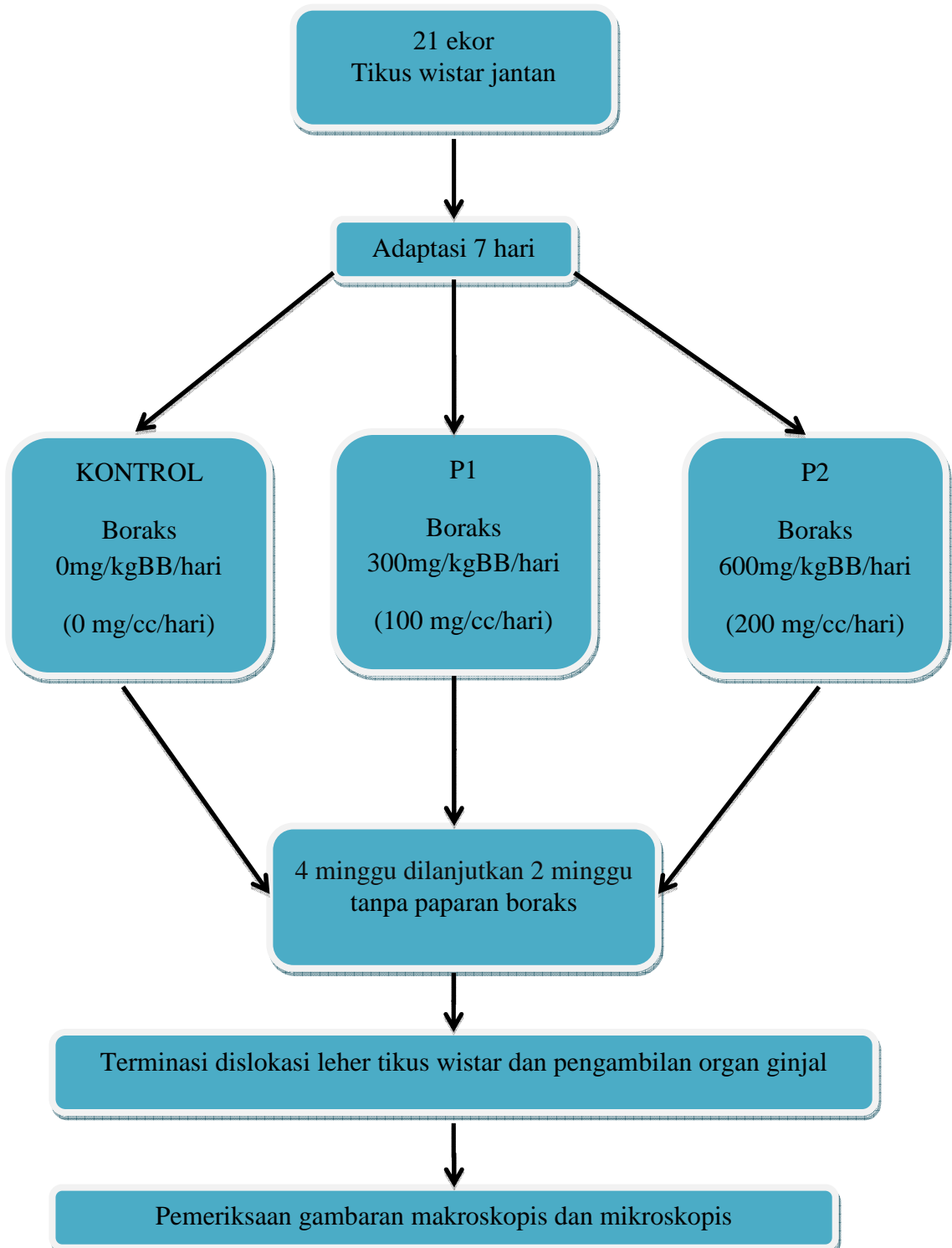
- 1) Melakukan adaptasi terhadap 21 ekor tikus wistar jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standar serta minum *ad libitum*.
- 2) Pada hari ke-8, membagi tikus wistar menjadi 3 kelompok yang masing-masing terdiri dari 7 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak. 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 4 minggu dilanjutkan 2 minggu tanpa paparan boraks 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 peronde 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-42 mematikan tikus wistar dengan cara dislokasi leher.
- 6) Melakukan otopsi pada masing – masing tikus dan mengambil organ ginjal kemudian menimbang berat masing-masing organ ginjal 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) Sampel ginjal tersebut kemudian diletakkan pada tabung berisi cairan pengawet bufer formalin 10% dengan perbandingan 1 bagian ginjal dan 9 bagian bufer formalin 10%
- 8) Tabung berisi sampel ginjal tikus wistar diletakkan ke rak tabung kemudian di serahkan ke analis untuk diolah mengikuti metode baku histologi dengan

pewarnaan *PAS-Jones* Dari setiap sampel ginjal dibuat preparat dengan potongan koronal. Preparat tersebut akan dibaca dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x. Dihitung pada 5 lapangan pandang tubulus proximal dengan kriteria 1. Lumen menyempit 2.Hilangnya brush border 3.Protein cast.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilihat kurva distribusi datanya dengan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis*, lalu dilanjutkan uji beda dengan menggunakan uji beda *Mann Whitney*.

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.

