

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

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

Ruang lingkup penelitian ini tercakup dalam bidang kesehatan gigi dan mulut.

#### **4.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian telah dilakukan pada bulan Juni-Juli 2013 di kota Yogyakarta karena terdapat suatu daerah industri yang menggunakan cat semprot (bengkel pengecatan mobil, industri mebel) dengan jarak satu dan lainnya tidak terlalu jauh sehingga dapat memudahkan proses pengambilan sampel.

#### **4.3 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *cross-sectional*.

#### **4.4 Populasi dan Sampel**

##### **4.4.1 Populasi Target**

Meliputi seluruh pekerja yang menggunakan cat semprot.

##### **4.4.2 Populasi Terjangkau**

Meliputi pekerja yang menggunakan cat semprot di Kota Yogyakarta.

### **4.4.3 Sampel**

#### **4.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Sampel tukang cat semprot :

- a. Pekerja laki-laki yang menggunakan cat semprot berumur 20-40 tahun.
- b. Pekerja yang menggunakan cat semprot dengan kriteria OHI-S “cukup”. Kriteria “cukup” dipilih karena merupakan rata-rata nilai OHI-S masyarakat Indonesia.
- c. Pekerja pengguna cat semprot yang hadir saat penelitian.
- d. Lama masa kerja sebagai pekerja yang menggunakan cat semprot lebih dari 3 tahun.

Sampel kontrol :

- a. Laki-laki
- b. Usia 20-40 tahun
- c. Tidak terpapar aerosol cat semprot dalam kehidupan sehari-harinya.

#### **4.4.3.2 Kriteria Eksklusi**

Pekerja yang tidak mau diperiksa saat penelitian dilakukan

### **4.4.4 Cara Sampling**

Pemilihan sampel penelitian dengan *consecutive sampling*.

#### 4.4.5 Besar Sampel

Besar sampel minimal dihitung dengan rumus<sup>38</sup> :

$$n_1 = n_2 = 2x \left[ \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta}) x s}{x_1 - x_2} \right]^2$$

Berdasarkan rumus di atas apabila diinginkan tingkat kepercayaan 95% maka didapatkan angka  $Z_{\alpha} = 1,96$  dan  $Z_{\beta} = 0,842$  nilai  $s$  didapatkan 2,05 dan  $x_1 - x_2$  adalah 1,5 maka didapatkan sampel minimal adalah 29 orang.

Sampel penelitian ini adalah 35 orang pekerja yang menggunakan cat semprot yang memenuhi kriteria inklusi dan kontrol 35 orang yang tidak terpapar aerosol cat semprot dalam pekerjaannya

### 4.5 Variabel Penelitian

#### 4.5.1 Variabel Bebas

Paparan aerosol cat semprot.

#### 4.5.2 Variabel Terikat

Frekuensi mikronukleus sel epitel rongga mulut.

#### 4.5.3 Variabel Terkendali

- a. Usia : 20 – 40 tahun
- b. Jenis Kelamin : Laki-laki
- c. Lama Masa Kerja : minimal 3 tahun
- d. Perlindungan diri : penggunaan masker minimal

#### 4.5.4 Variabel Tidak Terkendali

Sifat genetik subyek

#### 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4. Tabel Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Kelompok	1 : pengecat 2 : kontrol	Nominal
2.	Jumlah Mikronukleus	per 1000 sel	Rasio
3.	Usia	Tahun	Rasio
4.	Lama Paparan	Tahun	Rasio

- a. Mikronukleus : merupakan inti sel tambahan berdiameter sepertiga dari diameter nukleus utama dan tampak setelah dilakukan pengecatan Feulgen-Rossenback.
- b. Usia : usia sampel dipilih antara 20-40 tahun. Sampel dengan usia kurang dari 20 tahun tidak termasuk karena diperkirakan belum mendapat paparan substansi genotoksik yang cukup untuk menimbulkan perubahan genetik, sedangkan sampel dengan usia lebih dari 40 tahun dikhawatirkan telah mengalami perubahan sel akibat penuaan dan degenerasi.
- c. Lama paparan : merupakan lama waktu sampel terpapar aerosol cat semprot.

#### 4.7 Cara Pengumpulan Data

##### 4.7.1 Alat dan Bahan Penelitian

- a. Alat dan bahan untuk pengambilan spesimen sel epitel bukal subyek
  1. Sikat sel (*cytobrush*)
  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. HCl 5M
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*

#### **4.7.2 Cara Kerja**

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 sikat sel (*cytobrush*) 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 HCl 5M 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 (400x).
  2. Dalam satu preparat setidaknya didapat hasil apusan 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 di sebelahnya.
    - c. Nukleus normal dan utuh, perimeter nuklear halus, dan berbatas jelas.
    - d. Preparat mengandung sedikit atau tidak ada debris sama sekali.

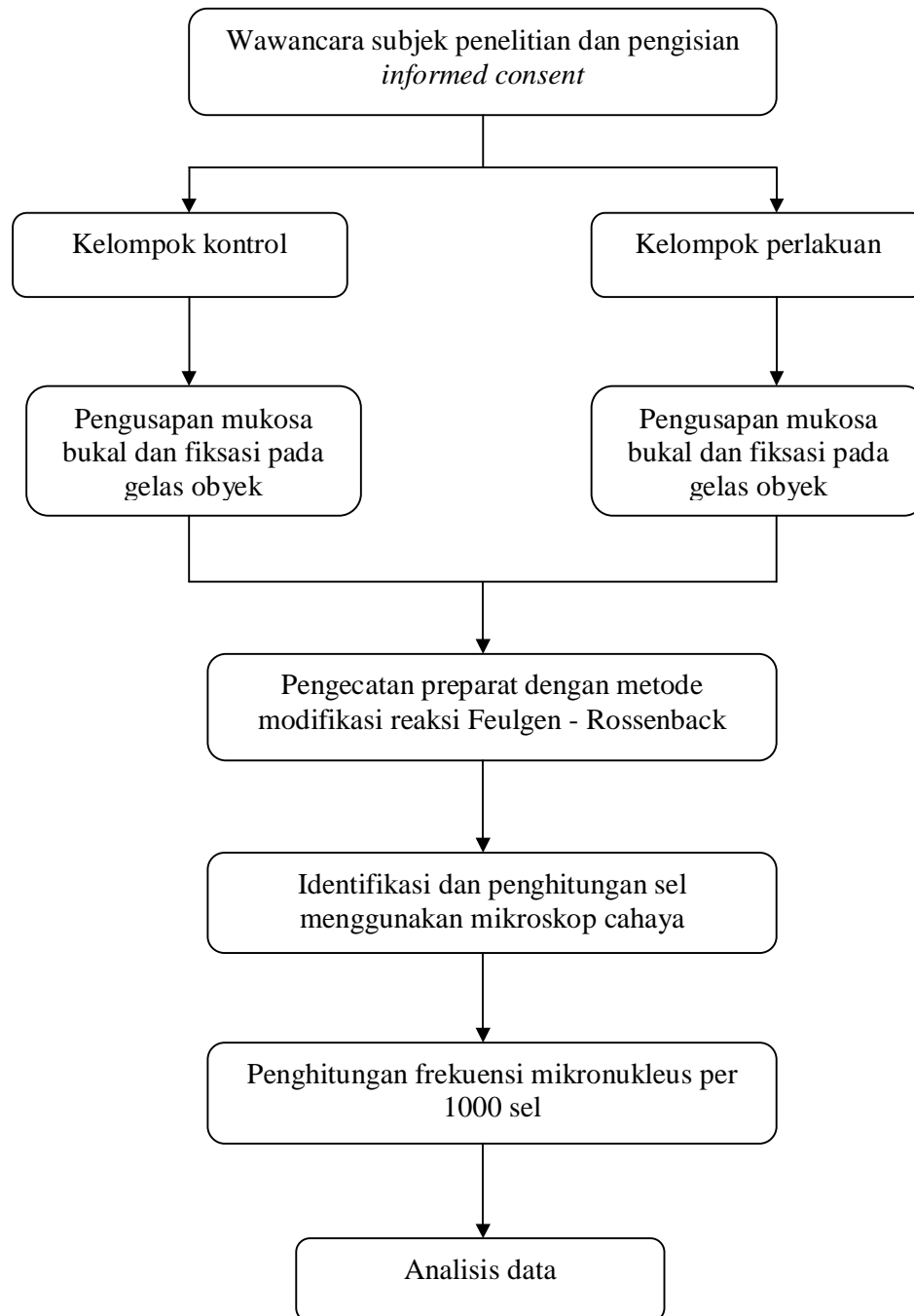
5. Kriteria yang digunakan untuk mengidentifikasi mikronukleus pada sel antara lain :
  - a. Perimeter nukleus bulat dan halus.
  - b. Ukurannya kurang dari sepertiga diameter nukleus tetapi cukup besar untuk bisa dilihat baik bentuk maupun warnanya.
  - c. Pewarnaan Feulgen positif (nukleus berwarna 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 nukelus yang lain selain mikronukleus seperti nukleus piknotik, karyolisis, karyoreksis, *nuclear bud (broken eggs)*, dan *binucleated cell* tidak dihitung.

e. Analisis data

Analisis data menggunakan uji t independen dengan program computer. Apabila terdapat perbedaan bermakna, dilanjutkan dengan uji korelasi antara masa kerja dan usia dengan frekuensi pembentukan mikronukleus pada kelompok pekerja yang menggunakan cat semprot, lalu dilakukan uji regresi.



#### 4.8 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

#### 4.9 Pengolahan dan Analisis Data

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

a. 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.

b. Tabulasi dan Pengelompokan data

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

c. Analisis Data

Data hasil penelitian adalah rerata jumlah sel mikronukleus kelompok terpapar dan kontrol yang dimasukkan kedalam data komputer dan disajikan dalam bentuk tabel. Data dari kelompok perlakuan tersebut dianalisis normalitasnya dengan Shapiro-Wilk. Bila distribusi datanya normal, dilakukan analisis statistik parametrik uji t independen, sedangkan bila distribusi datanya tidak normal, dilakukan analisis statistik nonparametrik Mann- whitney.

Selanjutnya, apabila terdapat perbedaan bermakna antara kelompok pekerja bengkel pengecatan mobil, dilakukan uji korelasi antara masa kerja dan usia dengan frekuensi pembentukan

