

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

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

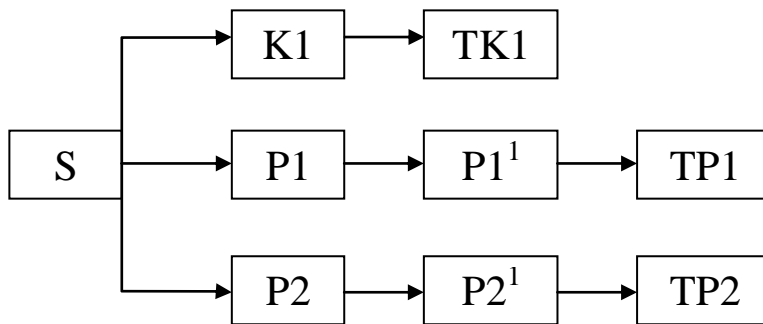
4.2 Tempat dan Waktu penelitian

Proses adaptasi tikus wistar , pemberian paparan dengan boraks per oral dosis 300 dan 600 mg/kgBB/ hari yang di berikan dengan cara di sonde selama 4 minggu di lanjutkan 2 minggu tanpa paparan, dan pembuatan blok paraffin sampai pengecatan jaringan di lakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Sedangkan interpretasi hasil makroskopis dan mikroskopis sample gaster di lakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Penelitian ini di laksanakan selama 42 hari , yaitu pada bulan maret 2013 hingga april 2013.

4.3 Jenis dan Rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba tikus wistar sebagai objek percobaan.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Gambar 6. Skema rancangan penelitian

Keterangan :

S : Kelompok sampel

K1 : Kelompok kontrol 1

P1 : Kelompok perlakuan 1 (boraks peroral 300 mg/kgBB)

P2 : Kelompok perlakuan 2 (boraks peroral 600 mg/kgBB)

TK1 : Tes kelompok kontrol 1

P1¹ : Stop pemberian boraks pada kelompok perlakuan 1

P2¹ : Stop pemberian boraks pada kelompok perlakuan 2

TP1 : Tes kelompok perlakuan 1

TP2 : Tes kelompok perlakuan 2

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah tikus wistar.

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah tikus wistar galur murni, umur 3 bulan , berat badan 150-200 gram, sehat, dan tidak ada abnormalitas anatomi, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES).

4.4.3 Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

- Tikus wistar umur 2 — 3 bulan
- Berat 150-200 gram
- Anatomi normal
- Sehat

4.4.3.2 Kriteria eksklusi

- Tikus mati pada saat penelitian

4.4.4 Cara pengambilan sampel

Sampel diambil dengan menggunakan cara simple random sampling. Randomisasi dilakukan pada tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta telah diadaptasi pakan selama satu minggu.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah boraks.

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah perubahan makroskopis dan mikroskopis organ garter tikus wistar.

4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi operasional variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala
Bebas	Bebas	Boraks yang digunakan adalah boraks berbentuk serbuk Ordinal yang umumnya beredar di masyarakat. Boraks diberikan per oral, untuk kelompok kontrol tidak diberikan boraks.. Boraks dosis 300 mg/kgBB/hari 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 minum tikus. Kemudian air minum tersebut dimasukkan ke traktus digestivus dengan cara sonde. Boraks diberikan selama 4 minggu, kemudian 2 minggu hnya diberikan pakan standart ,setelah dilakukan terminasi dislokasi leher pada tikus wistar kemudian diambil gasternya lalu dilakukan pemeriksaan makroskopis dan mikroskopis kemudian dilihat perbedaannya.	Ordinal

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala												
Terikat	Gambaran makroskopis gaster tikus wistar	Gambaran makroskopis mukosa gaster yang dilihat menggunakan kaca pembesar. Dinilai dengan menggunakan skor morfologi kerusakan mukosa.	Ordinal												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Skor</th> <th>Kerusakan Mukosa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>Normal</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>Kerusakan 1-25%</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Kerusakan 26-50%</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Kerusakan 51-75%</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Kerusakan 76-100%</td> </tr> </tbody> </table>				Skor	Kerusakan Mukosa	0	Normal	1	Kerusakan 1-25%	2	Kerusakan 26-50%	3	Kerusakan 51-75%	4	Kerusakan 76-100%
Skor	Kerusakan Mukosa														
0	Normal														
1	Kerusakan 1-25%														
2	Kerusakan 26-50%														
3	Kerusakan 51-75%														
4	Kerusakan 76-100%														
Terikat	Gambaran mikroskopis gaster tikus wistar	Untuk memeriksa gambaran mikroskopis gaster tikus mikrosko wistar pada penelitian ini, diperoleh dengan cara membuat preparat gaster dengan menggunakan tikus pengecatan Hematosilin Eosin (HE). Preparat tersebut diamati dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x dalam 5 lapangan pandang, di periksa integritas mukosa. Tingkat kerusakan untuk satu tikus di dapat dari rerata lima lapangan pandang dengan skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja skor tingkat kerusakan yang diamati sebagai berikut :	Numerik												
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Skor</th> <th>Integritas Epitel Mukosa</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>Tidak ada perubahan patologis</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>Deskuamasi epitel</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Erosi permukaan Epitel</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Ulserasi epitel</td> </tr> </tbody> </table>				Skor	Integritas Epitel Mukosa	1	Tidak ada perubahan patologis	2	Deskuamasi epitel	3	Erosi permukaan Epitel	4	Ulserasi epitel		
Skor	Integritas Epitel Mukosa														
1	Tidak ada perubahan patologis														
2	Deskuamasi epitel														
3	Erosi permukaan Epitel														
4	Ulserasi epitel														

1.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Bahan

1. Tikus wistar
2. Boraks
3. Asam pikrat
4. Air
5. Bahan-bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan :
 - a) Larutan Bouin
 - b) Larutan buffer formaliin 10%
 - c) Albumin
 - d) Paraffin
 - e) Hematosilin eosin
 - f) Larutan Xylol
 - g) Asam asetat
 - h) Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 70%, 80%, 90% 96%
 - i) 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 Otopsi

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

4.7.2.3 Alat untuk pemeriksaan mikroskopis

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

4.7.2.4 Alat pemeriksaan makroskopis

- 1) Kaca pembesar
- 2) Kamera digital

4.7.3 Jenis data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer, yang diperoleh dari penelitian terhadap perubahan makroskopis dan mikroskopis gaster tikus wistar yang termasuk dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan paparan boraks peroral dengan dosis bertingkat.

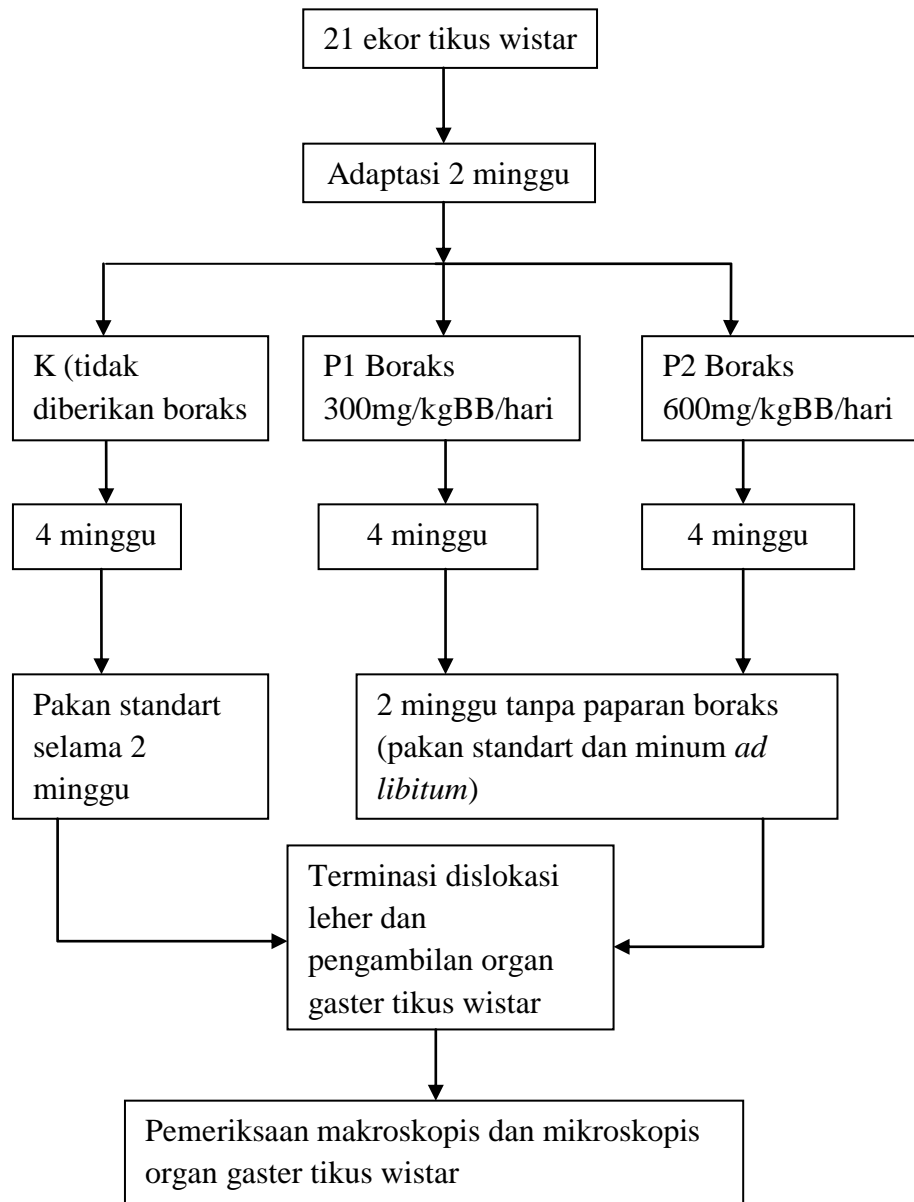
4.7.4 Cara Kerja

- a. Melakukan proses adaptasi terhadap 21 ekor tikus wistar jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal dan diberi pakan standart serta minum *ad libitum*
- b. Pada minggu pertamamembagi tikus wistar menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 7 ekor tikus wistar yang dipilih secara acak. Kemudian memberi tanda dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala dan punggung.
- c. Menimbang berat badan masing masing tikus wistar
- d. Mulai minggu pertama sampai ke-4 pada kelompok kontrol (K) diberikan pakan standart dan air minum *ad libitum* tanpa diberi paparan boraks. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan boraks dengan dosis 300 mg/kgBB/hari (100 mg/ml) yang dicampur dalam air minum sampai 3 ml diberikan perponde sekali sehari,pakan standart dan air minum ad libitum. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan boraks dengan dosis 600 mg/kgBB/hari (200mg/m1) yang di campur dalam air minum sampai 3 ml diberikan perponde sekali sehari, pakan standart dan minum ad libitum.
- e. Pada minggu ke 4 , menghentikan paparan boraks pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2. Kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 diberikan pakan

standart dan minum ad libitum. Kelompok kontrol 2 dan kontrol 3 diterminasi pada minggu ke 4

- f. Setelah 2 minggu tanpa paparan boraks, mematikan seluruh hewan coba dengan cara dislokasi leher.
- g. Melakukan otopsi pada masing-masing tikus dan mengambil organ gaster kemudian menimbang berat masing-masing organ gaster Kelompok kontrol (K), Kelompok perlakuan 1 (P 1), dan kelompok perlakuan 2 (P2), kemudian mencatat hasilnya dan membandingkan hasil antara kelompok perlakuan yang diberikan paparan boraks peroral dengan kelompok kontrol.
- h. Meletakkan sample gaster tersebut pada tabung yang berisi cairan pengawet buffer formalin 10% dengan perbandingan satu bagian gaster dan 9 bagian buffer formalin 10%.
- i. Meletakkan tabung yang berisi sample gaster tikus wistar ke rak tabung, kemudian menyerahkan ke malls guna mengolahnya mengikuti metoded baku histologi dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Dari setiap sample Gaster dibuat preparat dengan potongan longitudinal. Preparat tersebut akan diukur tingkat kerusakan sel gaster dengan rerata dari sistem skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja. Tiap preparat dibaca dalam lima lapangan pandang yaitu dari keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 400x. Pembacaan preparat dari lima lapangan pandang dicari rerata skor untuk penilaian satu tikus.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer SPSS 19 kemudian karena data yang diperoleh merupakan data dengan skala kateogikal (Numerik) maka dilakukan uji normalitas menggunakan *Saphiro Wilk*. Apabila sebaran data normal digunakan uji analisis *one way anova*.

4.10 Etika Penelitian

Sebelum penelitian ini dilaksanakan dimintakan *Ethical Clearence* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Tikus wistar yang digunakan akan dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri semarang (F-MIPA UNNES). Hewan coba diberi makanan dan minuman *ad libitum*. Untuk pemberian boraks peroral dosis bertingkat dilarutkan dengan air hingga 3 ml, kemudian diberikan peroral dengan menggunakan sonde.

Proses terminasi hewan coba dilakukan dengan cara dislokasi leher. Pembuatan preparat sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya selama penelitian ditanggung oleh peneliti.

