

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Ruang Lingkup Penelitian

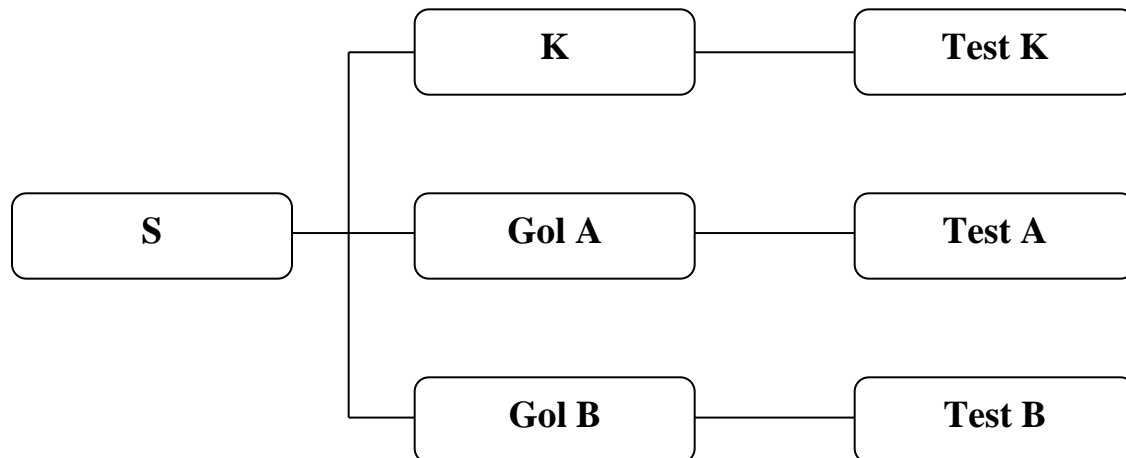
Penelitian ini merupakan penelitian pada ilmu kedokteran bidang forensik dan bidang patologi anatomi.

#### 4.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang dan laboratorium WASPADA. Penelitian sampeldilakukan mulai Juni 2015. Pada bulan Juni 2015 minggu kedua dilakukan analisis data dan penyusunan laporan hasil penelitian.

#### 4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan pendekatan post test only control group design.



#### Keterangan

S	: Kelompok sampel
K	: Kelompok control ( tidak diberikan brodifakum)
Gol A	: Kelompok perlakuan 1 (LD <sub>50</sub> )
Gol B	: Kelompok perlakuan 2(LD <sub>100</sub> )
Test K	: Test kelompok kontrol
Test A	: Test kelompok golongan 1
Test B	: Test kelompok golongan 2

### **4.4 Populasi dan Subject Penelitian**

#### **4.4.1 Populasi Target**

Populasi target adalah tikus wistar

#### **4.4.2 Populasi terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah tikus wistar yang terdapat pada laboraorium Biologi Universitas Negri Semarang

#### **4.4.3 Subyek Penelitian**

Subyek penelitian ini adalah tikus wistar yang memenuhi criteria inklusi dan setelah itu dilakukan berupa pemberian brodifakum dosis tertentu

#### **4.4.3.1 Kriteria Inklusi**

1. Tikus yang telah memiliki umur sekitar 1 bulan
2. Tikus yang memiliki jenis kelamin jantan
3. Tikus yang memiliki berat badan  $200 \pm 50$  gram

#### **4.4.3.2 Kriteria Eksklusi**

1. Tikus yang memiliki kelainan anatomi maupun gangguan pada organ – organ dalamnya.

#### **4.4.3.3 Kriteria *drop out***

1. Tikus yang mati sebelum mendapatkan perlakuan.
2. Gaster tikus yang diambil setelah melewati waktu 24 jam pada waktu kematian tikus

#### **4.4.4 Cara Sampling**

Cara pengambilan sampel adalah dengan pengambilan sampel acak sederhana (simple randomized sampling). Sampel penelitian ini adalah gaster yang diambil dari tikus wistar yang memenuhi criteria inklusi dan eksklusi. Gaster kemudian diawetkan dengan formalin 10%

#### 4.4.5 Besar Sampel

Pada penelitian eksperimental dengan rancangan diatas bisa digunakan rumus Feder

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = banyak kelompok perlakuan

r = jumlah besar sampel

Menggunakan rumus diatas dapat ditemukan bahwa jumlah besar sampel per kelompok

$$r \geq 9$$

Sehingga pada penelitian akan digunakan:

Jumlah tikus perkelompok: **9**

Jumlah tikus 3 kelompok :**27**

Jumlah tikus cadangan perkelompok ; **5**

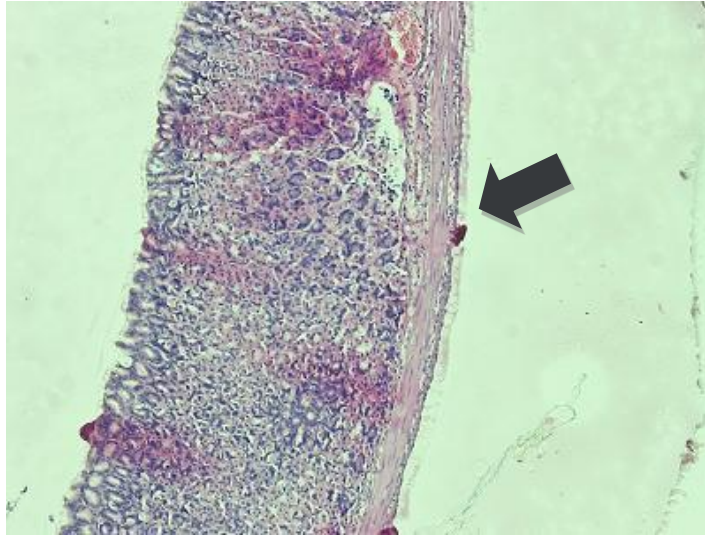
#### 4.5 Variabel Penelitian

- Variabel bebas : Dosis brodifakum
- Variabel tergantung : Gambaran patologi anatomi tikus wistar
- Variabel pengganggu : Metabolisme tubuh tikus wistar

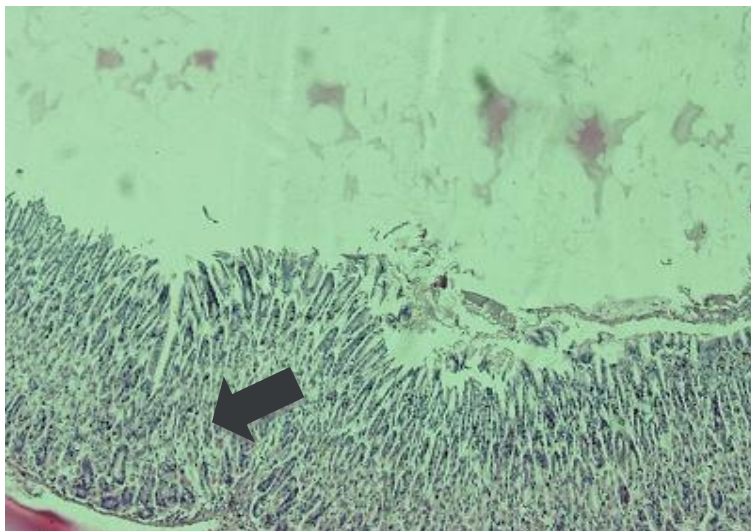
#### 4.6 Definisi Operasional

Jenis variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Nilai	Skala
Bebas	<b>Brodifakum</b>	<p>Brodifakum yang digunakan adalah brodifakum murni. Brodifakum kemudian dibentuk menjadi agar – agar untuk mempermudah melakukan <i>force feeding</i>. Brodifakum diberikan hanya pada hari pertama penelitian dan tikus dibiarkan selama 7 hari sesuai dengan dosis yang telah ditentukan. Makan dan minum tikus diberikan secara ad libitum. Perlakuan dibagi menjadi 3 kelompok, kelompok kontrol, kelompok dengan LD<sub>50</sub> sebesar 0,27mg/kg BB, dan LD<sub>100</sub> sebesar 1,08mg/kg BB</p>	<p>1. LD<sub>50</sub>= 0,27mg/kg BB 2. LD<sub>100</sub>= 1,08 mg/kg BB</p>	Ordinal
Tergantung	<b>Gambaran mikroskopis gaster tikus</b>	Gambaran mikroskopis gaster yang dimaksud adalah menilai tingkat	<p>1. Normal (Gambar 4.1) 2. Deskuamasi epitel</p>	Ordinal

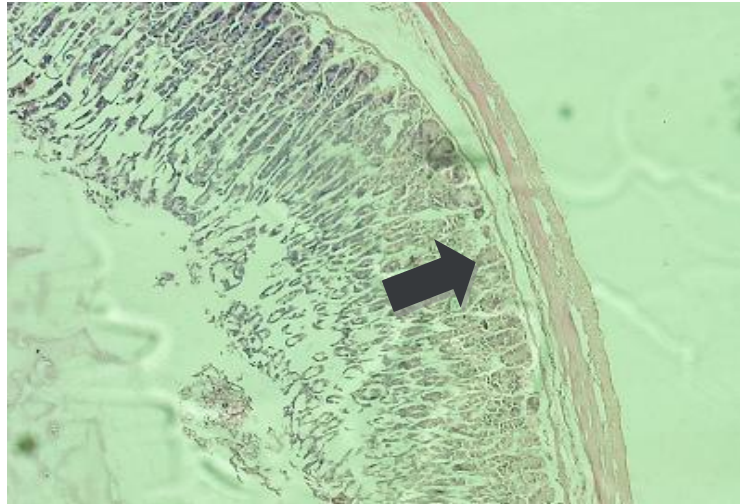
	<b>wistar</b>	<p>kerusakan gaster dengan mikroskop cahaya menggunakan pembesaran 400x pada 100 sel dengan lima lapangan pandang. Penilaian tingkat kerusakan sel gaster dengan sistem skor berdasarkan modifikasi Barthel Manja sebagai berikut: 1.Normal :tidak ada perubahan patologis 2. Deskuamasi epitel 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.</p>	<p>(Gambar 4.2)</p> <p>3. Erosi epitel (Gambar 4.3)</p> <p>4. Ulserasi epitel (Gambar 4.4)</p>	
--	---------------	---	--	--



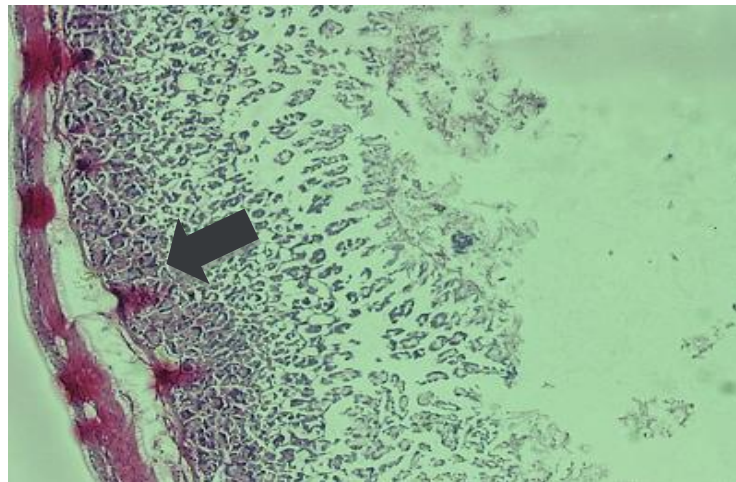
Gambar 4.1. Epitel normal



Gambar 4.2. Deskuamasi epitel



Gambar 4.3. Erosi Epitel



Gambar 4.4. Ulserasi Epitel



## 4.7 Cara Pengumpulan Data

### 4.7.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Gaster tikus wistar
- Brodifakum
- Formalin
- Bahan – bahan untuk metode baku histology pemeriksaan jaringan:
  1. Larutan buffer formalin 10%
  2. Paraffin
  3. Albumin
  4. Hematoksilin Eosin
  5. Asam asetat
  6. Larutan xylol
  7. Alkohol bertingkat 70%, 80%, 90%, 96%
  8. Aquades

### 4.7.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Sonde
- Scalpel
- Pinset
- Gunting
- Tempat untuk menyimpan organ sampel
- Label untuk tikus
- Mikroskop
- Kamera

### 4.7.3 Cara Kerja

Penelitian dilakukan pada laboratorium biologi Universitas Negeri Semarang.<sup>42</sup> Tikus yang telah dipilih berdasarkan kriteria inklusi dan kriteria eksklusi, kemudian dilakukan proses adaptasi selama 7 hari. Setelah itu dibagi menjadi 3 kelompok. Kontrol, LD<sub>50</sub> dan LD<sub>100</sub>. Setiap tikus diberi tanda khas sesuai kelompoknya. Kemudian kelompok tikus LD<sub>50</sub> diberikan dosis brodifakum sebesar 0,27mg/kg BB dan kelompok tikus LD<sub>100</sub> sebesar 1,08mg/kg BB.

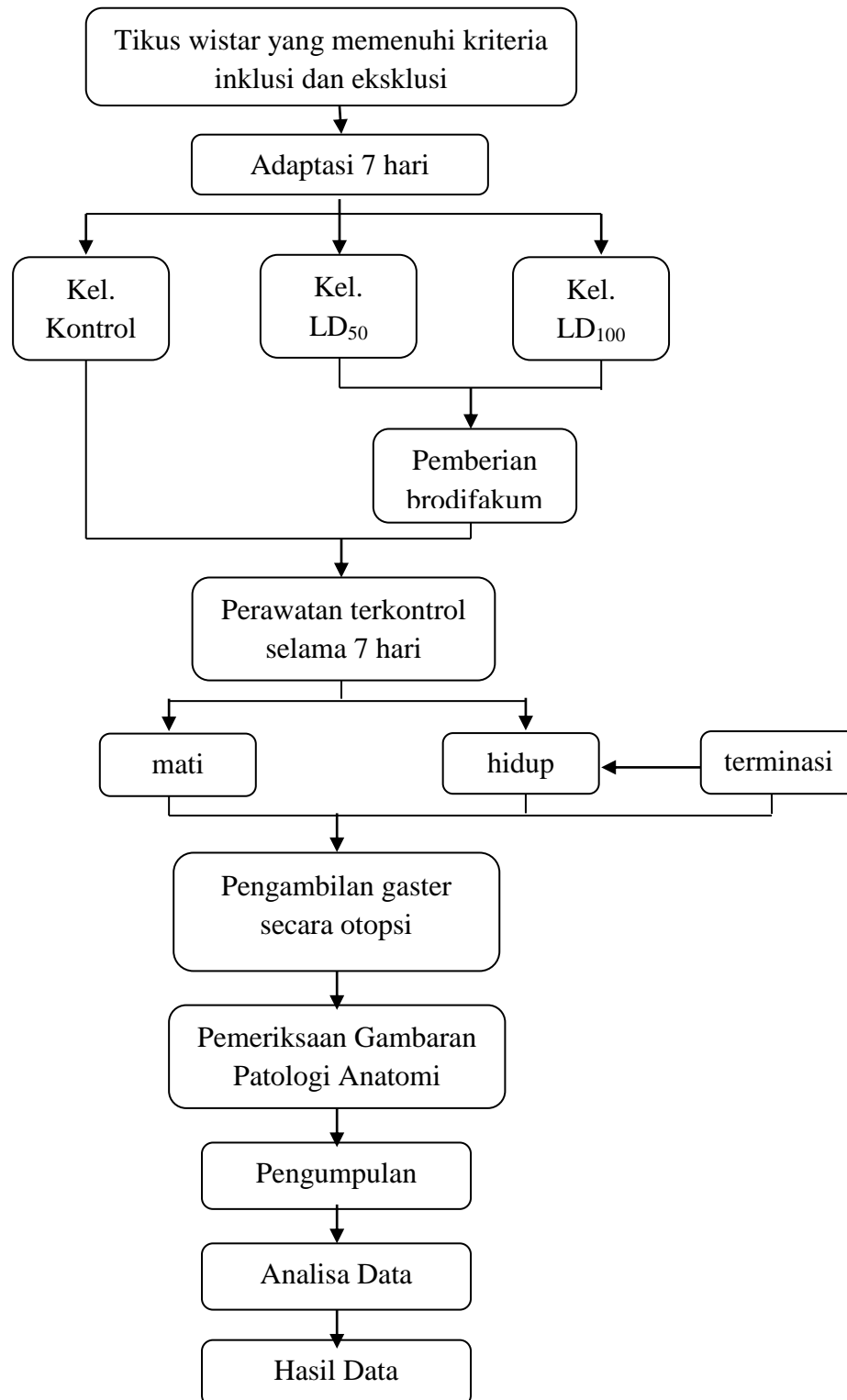
Setelah tikus dikelompokkan berdasarkan dosis brodifakum, tikus akan diberikan dosis brodifakum dalam bentuk agar - agar per oral secara force feeding pada hari pertama. Kemudian tikus akan dibiarkan hidup dalam jangka waktu 7 hari pada lingkungan yang telah dikontrol. Pemberian makan dan minum dilakukan secara ad libitum.

Setelah jangka waktu 7 hari, tikus yang masih hidup akan diterminasi. Tikus yang masuk pada kategori drop out akan dipisahkan untuk tidak diteliti. Kemudian dilakukan otopsi untuk mengambil gaster tikus dari semua kelompok perlakuan. Gaster tikus dibedakan menurut kelompok control, kelompok LD<sub>50</sub>, dan Kelompok LD<sub>100</sub>

Gaster tikus wistar yang sudah diambil dengan cara diotopsi dimasukkan ke dalam larutan formalin 10% untuk mencegah terjadinya kerusakan sel – sel gaster. Kemudian sampel gaster dibawa ke laboratorium WASPADA dan diperiksa oleh dokter spesialis Patologi Anatomi.

Sampel gaster tikus wistar diproses menjadi preparat secara metode baku histology dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin. Dari setiap sampel gaster dibuat preparat dengan potongan longitudinal. Preparat tersebut akan dibaca dalam lima lapangan pandang dengan perbesaran 400x dengan menggunakan mikroskop. Sasaran pembacaan preparat adalah adanya deskuamasi epitel, erosi permukaan epitel dan ulserasi epitel.

#### 4.8 Alur Penelitian



#### **4.9 Analisa Data**

Data primer didapatkan dari hasil pengamatan gambaran patologi anatomi gaster yang didapatkan dengan cara pembuatan preparat dengan pewarnaan Hematoksilin Eosin. Setelah data pengamatan gambaran patologi anatomi gaster setiap tikus terkumpul, hasil tersebut akan di cek kembali. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan SPSS for windows 18.0 .Uji hipotesis yang dilakukan adalah Mann -Whitney.

#### **4.10 Etika Penelitian**

Penelitian telah mendapatkan ethical clearance dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KPEK) Fakultas Kedokteran UNDIP / RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan no surat no.382/EC/FK-RSDK/2015