

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian

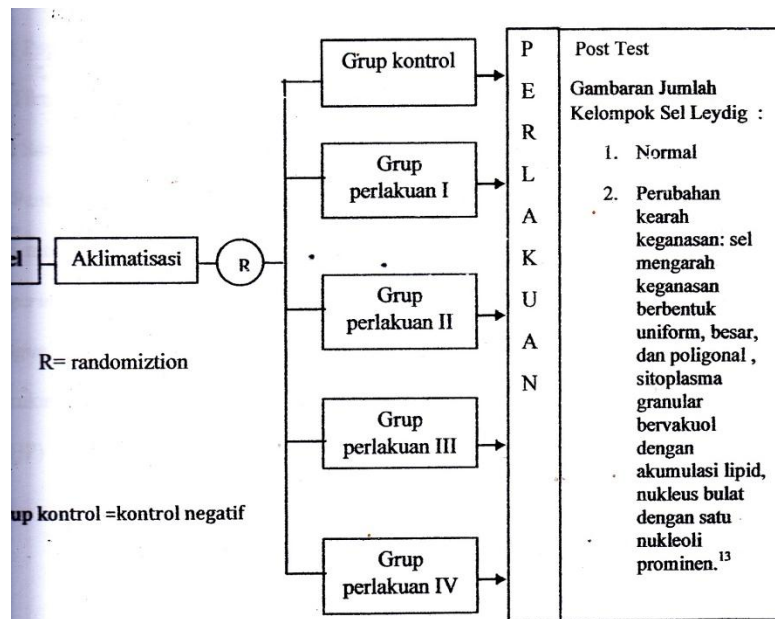
Penelitian ini mencakup bidang ilmu Anatomi, dan Patologi Anatomi

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai bulan Juni 2015 di Laboratorium Kering Gedung A Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit dr. Kariadi Semarang

4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah true experimental dengan rancangan parallel control group post test only design.



Grup perlakuan I	Injeksi 25 µgβ estradiol 3-benzoat secara subkutan dilarutkan dalam 0.02 ml minyak wijendengan dosis tunggal disuntikkan 2 hari sekali selama 2 minggu
Grup perlakuan II	Dipaparkan insektisida bakar tiap 8 jam sehari selama 20 hari

29

Grup perlakuan IV	Dipaparkan 4 ml isektisida cair yang diuapkan setiap hari selama 1 menit diatur menggunakan timer selama 20 hari
-------------------	--

4.4. Populasi dan Sampel

4.4.1. Populasi

Tikus jantan Sprague Dawley (SD) yang didapat dari Balai POM Jakarta.

4.4.2. Sampel

Penelitian ini menggunakan sampel blok paraffin testis tikus Sprague Dawley yang merupakan penelitian sebelumnya oleh Fariz Eka Setiawan dengan judul Pengaruh Paparan Obat Nyamuk Terhadap Gambaran Histologi Sel Leydig Tikus Sprague Dawley dimana tikus postnatal hari ke-3, berat badan 6-8 gram dan dilakukan pemeliharaan hewan coba di Unit Pemeliharaan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada di Yogyakarta.

4.4.2.1. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus Jantan
- 2) Usia 3 hari post natal
- 3) Berat 6-8 gram

4.4.2.2. Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus dengan kelainan anatomi.

4.4.2.3. Dropout

52

- 1) Tikus mati sebelum 100 hari.

4.4.3. Cara Sampling

Semua tikus dibagi dalam 5 group dengan teknik simple random sampling

4.4.4. Besar Sampel

Jumlah sampel minimal yang digunakan dalam penelitian dihitung menggunakan rumus besar sampel dari Federer :

$t = \text{Jumlah Kelompok}$

$n = \text{Jumlah tikus pada setiap kelompok}$

penelitian ini menggunakan kelompok control dan 4 kelompok perlakuan, maka

$t = 5 \rightarrow 5(n-1) > 15 \rightarrow n > 4$ untuk setiap kelompok.

4.5. Variabel Penelitian

4.5.1. Variable Bebas

1. β estradiol 3-benzoat 25 μg dalam 0.02 sesame oil s.c single dose
2. Insektisida bakar bentuk lingkt yang mengandung transfluhtrin 0.03%
3. Insektisida cair yang mengandung transfluthrin 0.486 mg dan propoxur 12.15 mg dalam bentuk aerosol
4. Insektisida cair yang mengandung transfluthrin 0.648 mg dan propoxur 16.20 mg dalam bentuk aerosol.

4.5.2. variable Terikat

1. Sel Leydig dilihat secara histopatologis

53

4.6. Definisi Operasional

Table 3 Definisi Operasional

Variable	Definisi operasional	Unit	Skala
B estradiol 3-bezoat	Estrogen poten yang diinjeksi s.c pada tikus SD	µg	Nominal
Obat nyamuk bakar bentuk lingkaran	Obat nyamuk mengandung tranfluthrin 0.03% dipaparkan 8 jam perhari selama 20 hari	MI	Nominal
Obat nyamuk cair 3 ml	Obat nyamuk yang mengandung tranfultrin 0.486 mg dan propoxir 12.15% diuapkan dengan nebulizer setiap hari yang diatur dengan timer setiap selang 1 menit selama 20 hari	MI	Nominal
Obat nyamuk cair 4 ml	Obat nyamuk yang mengandung tranfultrin 0.648 mg dan propoxur 16.20% diuapkan dengan nebulizer setiap hari yang diatur dengan timer setiap selang 1 menit selama 20 hari.	MI	Nominal
Jumlah kelompok Sel Leydig	Menghitung jumlah kelompok sel Leydig di seluruh lapangan pandang testis di komponen interstitial, dengan cirri-ciri sel dengan sel berbagai uniform, besar, dan polygonal, sitoplasma granular bervakuol dengan akumulasi lipid nucleus bulat dengan satu nucleoli prominen ¹³ . Dilihat dengan pembesaran 100x	Kelompok sel per lapangan pandang	Numeric

4.7. Cara Pengumpulan Data

4.7.1. Alat

- 1) Kandang tikus yang didesain khusus

- 2) Pinset
- 3) Alat tulis
- 4) Nebulizer
- 5) Scalpel
- 6) Wadah berukuran sedang
- 7) Gunting
- 8) Beaker glas
- 9) Autoclave
- 10) Mikrotom
- 11) Objek glas
- 12) Mikroskop Olympus CX.211.

4.7.2. Bahan

1. Testis tikus Sprague Dawley
2. Pakan Tikus
3. B estradiol 3-benzoate
4. Insektisida cair (mengandung transfluhtrin 0.162 g/L dan Propoxur 4.05 g/L)
5. Obat bakar bentuk lingkaran
6. Larutan Buffer formal dehidat 10%
7. Larutan Albumin
8. Blok paraffin
9. Aquadest
10. 'ethanol 70%

11. Minyak emersi

55

12. Haematoxyllin dan Eosin

4.7.3. Jenis data

Penelitian ini menggunakan jenis data primer yang diperoleh dari perubahan sel pada gambaran mikroskopik.

4.7.4. Cara kerja

Ini menggunakan sampel blok parafin testis tikus Sprague Dawley penelitian sebelumnya oleh Fariz Eka Setiawan dengan judul "Pengaruh Obat Nyamuk Terhadap Gambaran Histologi Sel Leydig Tikus Burnley dimana tikus postnatal hari ke-3, berat badan 6-8 gram dan pemeliharaan hewan Percobaan (UPH Universitas Gadjh Mada di Yogyakarta

Persiapan yang dilakukan adalah memilih Tikus Sprague Dawley jantan berjumlah 50 ekor berumur 1 hari postnatal. Kemudian di aklimatisasi dalam kondisi selama 2 hari. Setelah di aklimatisasi tikus SD dikelompokkan menjadi 5kelompok dengan metode simple random sampling. Selama perlakuan 1 SD mendapat breast-feeding dari induk tikus sampai hari ke 22 postnatal

Paparan obat nyamuk diberikan selama 20 hari pada tikus. Pemaparan tersebut merupakan hasil konversi dari penghitungan dan apabila dipaparkan pada manusia setara dengan paparan selama 2 tahun atau sejak bayi sampai anak dapat Paparan obat nyamuk cair merupakan hasil konversi' dari dosis penggunaan rata-rata pada manusia. Intervensi pada setiap kelompok perlakuan :

a. Grup 1 (Grup Kontrol)

Tikus pada grup ini mendapatkan breast-feeding sampai hari ke-22 kemudian diikuti dengan pemberian makanan dan air ad libitum sampai usia 100 hari.

b. Grup II (Grup Perlakuan I)

Semua tikus pada grup ini diberikan suntikan dosis tunggal melalui subkutis 25 μg β estradiol 3-benzoat yang dilarutkan dalam 0.02 ml minyak wijen dengan BD non-traumatic needle 2 hari sekali selama 20 hari dan dijaga dalam kondisi standar di UPHP Yogyakarta sampai usia 100 hari. Perlakuan diberikan mulai hari ketiga postnatal,

c. Grup III (Grup Perlakuan II)

Semua tikus dipapar insektisida bakar bentuk lingkaran yang mengandung transfluthrin 0.03% setiap 8 jam sehari. selama 20 hari dan dijaga dalam kondisi standar di UPHP Yogyakarta sampai usia 100 hari.

d. Grup IV (Grup Perlakuan III)

Semua tikus dipaparkan 3 ml insektisida cair berbentuk aerosol yang diuapkan dengan nebulizer yang mengandung transfluthrin 0.486 mg dan propoxur 12.15 mg setiap selang waktu 1 menit setiap hari selama 20 hari dan dijaga dalam kondisi standar di UPHP Yogyakarta sampai usia 100 hari.

e. Grup V (Grup Perlakuan IV)

Semua tikus dipaparkan 4 ml obat nyamuk cair berbentuk aerosol yang diuapkan dengan nebulizer yang mengandung transfluthrin 0.648 mg dan propoxur 16.20 mg setiap selang waktu 1 menit setiap hari selama 20 hari dan dijaga dalam kondisi standar di K UPHP Yogyakarta sampai usia 100 hari.

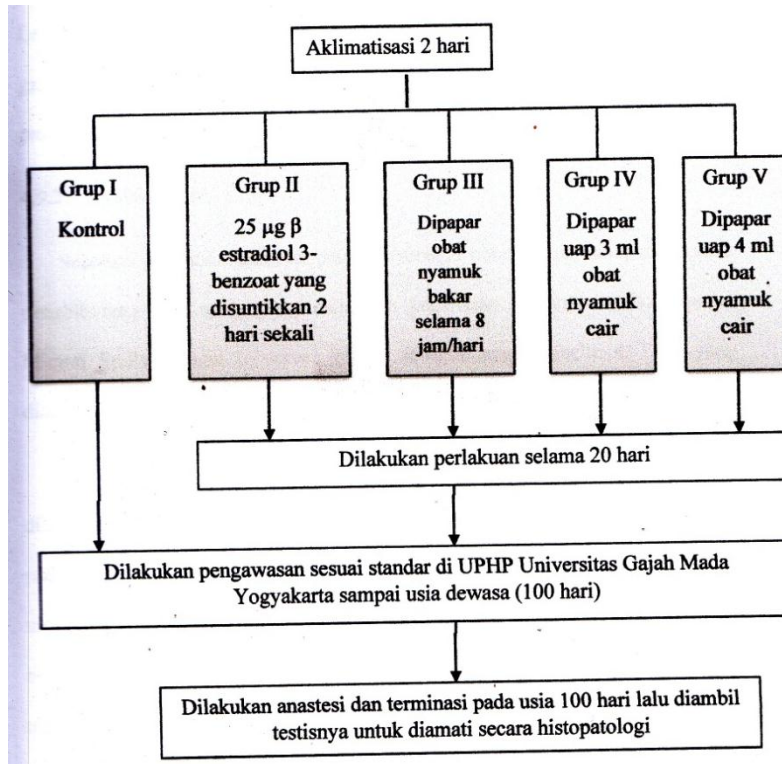
Pada umur 100 hari setelah semua tikus SD diberikan perlakuan, tikus ktesi dengan ether. Kemudian tikus SD diterminasi dengan cervical motion. Testis tikus diambil dan dipotong kemudian dikirim ke laboratorium Anatomi untuk dilakukan pembuatan blok paraffin. Blok paraffin dipotong dan dilakukan pengecatan menggunakan Haematoxylin Eosin (HE). **Boja** pembuatan prepat histopatologi terlampir.

Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop Olympus CX21 dengan ntung jumlah kelompok sel Leydig di seluruh lapangan pandang testis di amen interstitial, dengan ciri-ciri sel dengan sel berbentuk uniform, besar, poligonal, sitoplasma granular bervakuol dengan akumulasi lipid, nukleus I dengan satu nukleoli prominen, dengan pembesaran 100X.¹³

4.8. Alur Penelitian

Table 4. Alur Penelitian

Tikus spraque Dawley Jantan 1 haris post natal



4.9. Metode Pengukuran

4.9.1. Penentuan Jumlah Kelompok Sel Leydig yang Mengarah Keganasan

Penilaian jumlah kelompok sel Leydig yang mengarah keganasan pada sediaan **estis** tikus Sprague Dawley dengan menghitung jumlah kelompok sel **granules yang** memiliki sel berbentuk uniform, besar, dan poligonal, sitoplasma far bervakuol dengan akumulasi lipid, nukleus bulat dengan satu nukleoli pen.¹³ Dilihat dengan pembesaran 100x.

4.9.2. Analisis Data

Sebelum penelitian dimulai, peneliti (sebagai observer pertama) melakukan perhitungan sel Leydig yang mengarah keganasan bersama dr. Ika Pawitra Sp. Pa sebagai (observer kedua) sebagai acuan penelitian. Data yang

