

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian pada bidang Ilmu Kedokteran Toksikologi Forensik.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada laboratorium terpadu Universitas Diponegoro Semarang dan pada laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang. Penelitian dilakukan pada bulan Juni 2015.

4.3 Jenis dan Rancangan penelitian

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

4.1 Populasi

- a. Populasi target adalah tikus wistar.
- b. Populasi terjangkau adalah tikus wistar yang terdapat pada laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar yang memenuhi kriteria inklusi dan setelah itu diberikan perlakuan berupa pemberian brodifakum dengan dosis tertentu.

4.3 Kriteria Inklusi

1. Tikus yang telah memiliki umur sekitar 1 bulan.
2. Tikus yang berjenis kelamin jantan.
3. Tikus yang memiliki berat 200 (± 50) gram.
4. Tidak cacat anatomi.

4.4 Kriteria Eksklusi.

1. Tikus yang mengalami stres sebelum perlakuan.
2. Tikus yang mengalami kecacatan sebelum perlakuan.

4.5 Kriteria *Drop Out*

1. Hepar tikus yang telah melebihi waktu selama 96 jam sejak pengambilan sampel.
2. Hepar tikus yang diambil 24 jam setelah kematian tikus.
3. Tikus yang mati sebelum perlakuan.

4.6 Besar Sampel Penelitian

Sampel adalah bagian dari jumlah dan karakteristik yang dimiliki oleh populasi. Dalam penelitian ini sampel menggunakan rumus federer sebagai berikut:

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

t = Jumlah perlakuan

n = Jumlah perkelompok

Dengan rumus diatas maka besar sampel pada penelitian ini adalah

$$(3 - 1)(n - 1) \geq 15$$

$$2(n - 1) \geq 15$$

$$n \geq \frac{17}{2}$$

$$n \geq 8,5$$

Dengan pembulatan ke atas maka besar sampel tiap grup pada penelitian ini adalah 9. Maka jumlah tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah 27. Dan ditambahkan dengan jumlah sampel cadangan menjadi 42.

4.7 Variabel Penelitian

Variabel adalah segala sesuatu yang berbentuk apa saja yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari sehingga diperoleh informasi tentang hal tersebut, kemudian ditarik kesimpulannya.

Adapun dalam penelitian ini variabel penelitian terdiri dari:

- Variabel tergantung : Residu brodifakum yang terdapat pada hepar tikus.
- Variabel bebas : Dosis brodifakum.
- Variabel pengganggu : Bahan kimia lain dalam produk brodifakum

4.8 Definisi Operasional

Tabel 3. Definisi Operasional Variabel

| No. | Variabel | Definisi Operasional | Unit | Skala |
|-----|------------------------------|---|--|---------|
| 1 | Dosis Brodifakum | Brodifakum yang diberikan kepada hewan coba dengan besar dosis untuk LD ₅₀ adalah 0,27 mg/KgBB dan untuk LD ₁₀₀ adalah 1,08mg/KgBB. Brodifakum diberikan sebanyak 1 kali yaitu pada awal perlakuan dengan cara disondekan dalam bentuk agar. Brodifakum yang digunakan pada penelitian ini adalah brodifakum murni. | LD ₅₀ dan LD ₁₀₀ | Ordinal |
| 2 | Residu brodifakum pada hepar | Residu brodifakum yang terakumulasi pada hepar hewan uji. Jumlah dinilai berdasarkan data yang terkumpul setelah dilakukan tes menggunakan HPLC. | Positif dan negatif | Nominal |

4.9 Cara Pengumpulan Data

4.9.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Hepar tikus wistar
- Brodifakum

- Dry Ice
- Acetone
- Sekam

4.9.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- | | |
|--|------------------|
| • High performance liquid chromatography | • Mortir |
| • Wadah untuk sampel | • Tabung reaksi |
| • Kandang | • Centifuge |
| • Scalpel | • Sduit |
| • Pinset | • Pipet |
| • Sonde | • Coolbox |
| | • Lampu spiritus |
| | • Handscoon |
| | • Masker |

4.9.3 Cara Kerja

Penelitian dilakukan pada laboratorium terpadu Universitas Diponegoro dan Laboratorium FMIPA Universitas Negeri Semarang. Tikus dipilih berdasarkan umur, berat dan jenis kelamin yang kemudian dipisahkan dari tikus lain. Kemudian tikus yang telah terpilih dibagi menjadi 3 tipe grup. Grup I adalah grup kontrol pada grup ini tidak diberikan perlakuan apapun. Grup II adalah grup LD₅₀, pada grup ini diberikan brodifakum secara peroral dengan dosis 0,27 mg/kg. Dan pada grup III yaitu grup LD₁₀₀ tikus diberikan brodifakum secara peroral dengan dosis LD₁₀₀ yaitu 1,08 mg/kg.

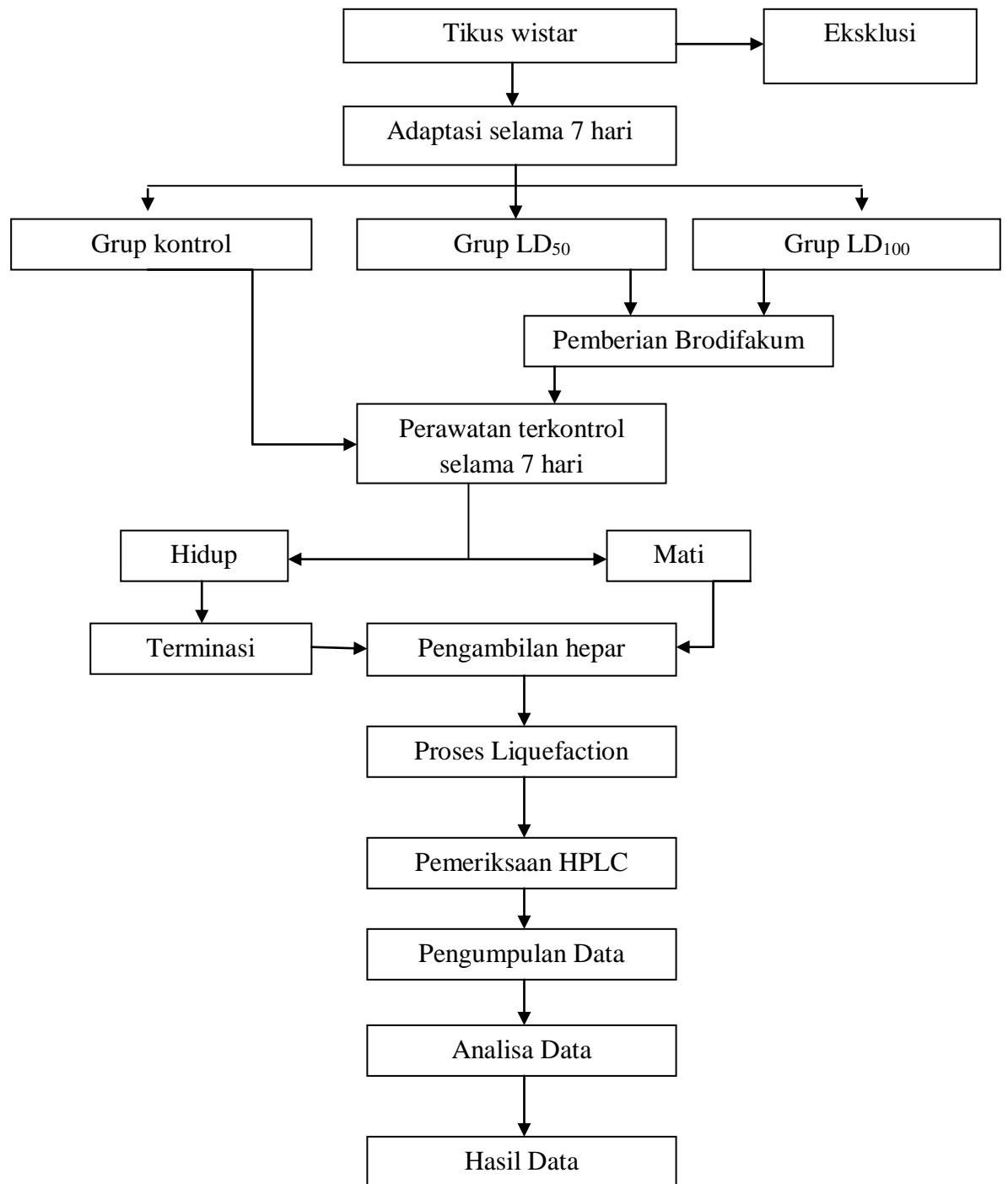
Setelah tikus di kelompokkan berdasarkan dosis brodifakum, tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Kemudian setelah adaptasi tikus diberikan brodifakum dengan cara disondekan. Pemberian brodifakum ini hanya diberikan sebanyak 1 kali yaitu pada awal perlakuan. Setelah itu tikus di biarkan hidup pada lingkungan yang dikontrol serta diberi makan dan

minum secara *ad libitum* dan ditunggu hingga tikus tersebut mati dalam waktu 7 hari. Tikus yang mati dalam waktu kurang dari 7 hari langsung diotopsi dan diambil hepar nya untuk pemeriksaan residu brodifakum. Setelah 7 hari tikus yang belum mati di terminasi dengan cara dislokasi tulang leher.

Hepar tikus kemudian diambil dan diawetkan dengan dry ice. Yang kemudian di lakukan proses *liquefaction* untuk melakukan sampling menggunakan HPLC. Proses liquefaction dilakukan dengan cara hepar yang sudah diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan di homogen kan. Setelah itu ditetaskan acetone sebanyak 5 ml yang kemudian di centrifuge selama 15 menit. Setelah itu ambil supernatan dari tabung reaksi kemudian pisahkan. Acetone ditetaskan kembali pada hepar tikus sebanyak 5 ml kemudian dicentrifuge kembali selama 10 menit. Setelah itu supernatan diambil kembali dan digabungkan dengan supernatan yang sebelumnya.

Proses penggunaan HPLC dilakukan dengan memasukkan cairan sampel tersebut pada sample injector pada HPLC. Setelah melewati proses pada *column* HPLC hasil nampak pada layar HPLC yang kemudian dimasukkan kedalam data.

4.10 Alur Penelitian



Gambar 4. Alur Penelitian

4.11 Analisa Data

Data primer didapatkan dari hasil residu brodifakum yang didapatkan melalui proses penelitian menggunakan HPLC. Setelah data residu brodifakum dari setiap tikus terkumpul, hasil tersebut di cek kembali kelengkapan datanya dan di tabulasi yang selanjutnya dientry kedalam komputer. Penelitian ini dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas Saphiro-Wilk dan uji non parametrik Mann-Whitney.

4.12 Etika Penelitian

Penelitian mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran UNDIP/RSUP Dr. Kariadi Semarang No.377 /EC/FK-RSDK/2015