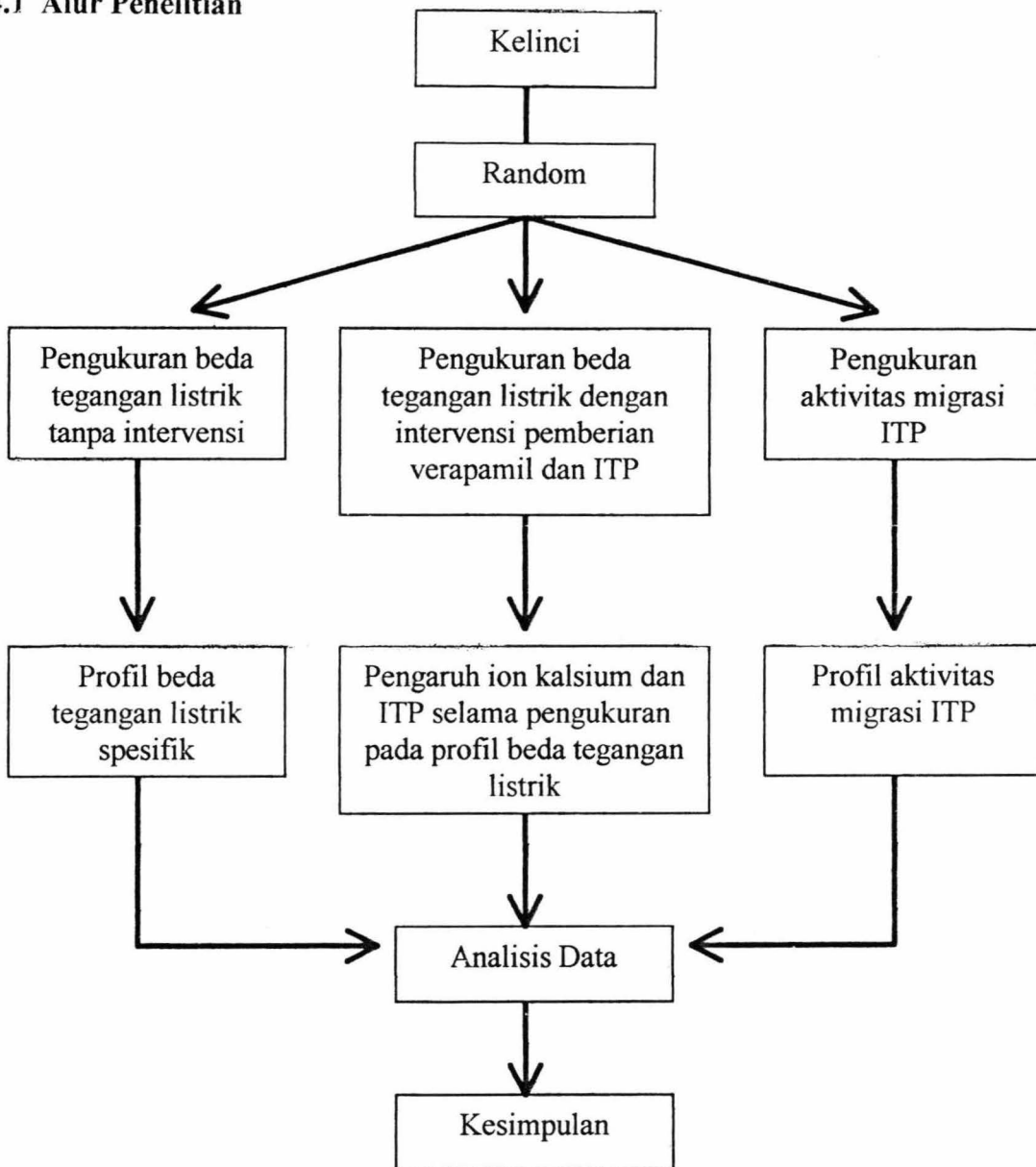


B A B 4

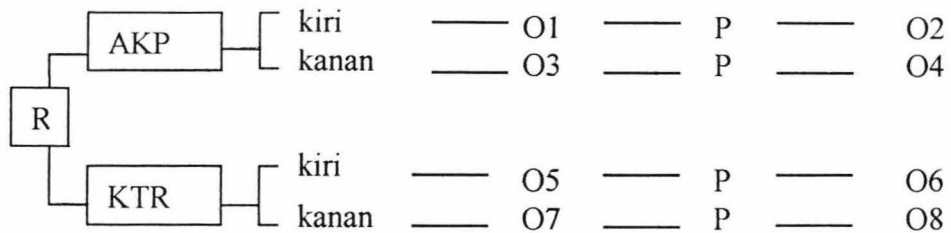
METODE PENELITIAN

4.1 Alur Penelitian



4.2 Rancang Bangun Penelitian

A. Penelitian beda tegangan listrik spesifik titik akupunktur no.49 terhadap titik referensi no.16



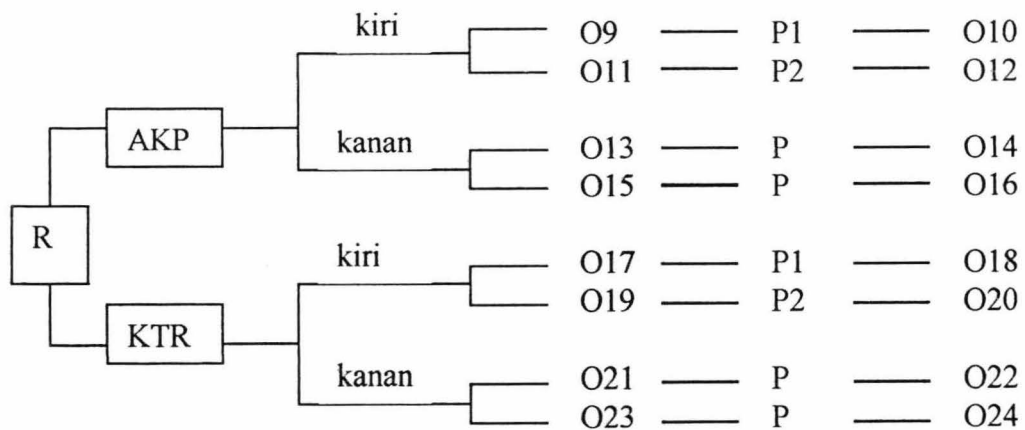
Gambar 4.1

Diagram penelitian beda tegangan listrik spesifik titik akupunktur no.49 terhadap titik referensi no.16

Keterangan gambar

- AKP = titik akupunktur no.49
- KTR = titik kontrol (bukan titik akupunktur)
- R = randomisasi kelinci
- P = pengukuran tanpa perlakuan
- P1 = pengukuran dengan memberi perlakuan verapamil
- P2 = pengukuran dengan memberi perlakuan ITP

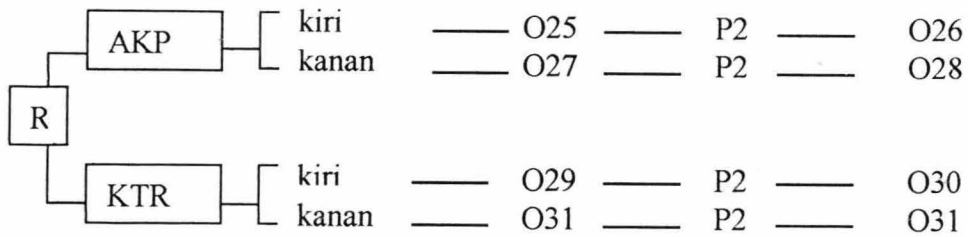
B. Penelitian profil aktivitas listrik titik akupunktur no.49



Gambar 4.2

Diagram penelitian profil aktivitas listrik titik akupunktur no.49 terhadap titik referensi no.16

C Penelitian aktivitas migrasi ITP pada titik akupunktur no.49



Gambar 4.3

Diagram penelitian aktivitas migrasi ITP pada titik akupunktur no.49 terhadap titik referensi no.16

Keterangan analisis

O1,O9,O11,O25 observasi titik akupunktur sisi kiri sebagai titik uji sebelum perlakuan ;

O2,O10,O12,O26 observasi titik akupunktur sisi kiri sebagai titik uji setelah perlakuan.

O3,O13,O15,O27 observasi titik akupunktur sisi kanan sebagai titik pembandingan tanpa perlakuan ; O4,O14,O16,O28: observasi titik akupunktur sisi kanan sebagai titik pembandingan tanpa perlakuan.

O5,O17,O19,O29 observasi titik kontrol (bukan titik akupunktur) sisi kiri sebelum perlakuan ; O6,O18,O20,O30: observasi titik kontrol (bukan titik akupunktur) sisi kiri setelah perlakuan.

O7,O21,O23,O31 observasi titik kontrol (bukan titik akupunktur) sisi kanan tanpa perlakuan ; O8,O22,O24,O31 : observasi titik kontrol (bukan titik akupunktur) sisi kanan tanpa perlakuan.

4.3 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

4.3.1 Sampel Penelitian

Digunakan kelinci New Zealand *White* (*Ornythologus cuniculus*) jantan dewasa didapat dari peternakan kelinci di Selecta, Batu - Malang. Kelinci jantan berumur ± 1 tahun dengan berat badan ± 2 kg dengan alasan secara seksual kelinci telah dewasa dan perubahan berat badan selama penelitian relatif kecil (Hume, 1972; Smith, 1988). Panjang titik uji (49) sampai titik referensi ± 25 cm. Panjang badan mulai pangkal ekor sampai hidung ± 40 cm. Kelinci New Zealand *White* jantan dewasa dengan umur dan jenis kelamin sama akan mengendalikan variabel yaitu memperkecil beda panjang kaki belakang.

4.3.2 Lokasi perlakuan pada kelinci

4.3.2.1 titik akupunktur kaki belakang no.49 (Anonymous, 1975) yang merupakan titik akupunktur yang besar dengan kedalaman 2-3 mm dan terletak tepi kaudal maleolus medialis ke dalam *musculus flexor digitalis longus pedis* dan *tendo achiles*.

4.3.2.2 titik akupunktur garis tengah punggung no.16 (Anonymous, 1975) antara vertebra lumbal IV - V dengan kedalaman 2-3 mm sebagai pembanding tegangan (referensi) dan sudah di suntik penghambat transportasi ion kalsium (0,1 ml verapamil dengan konsentrasi 2mg/ml)

4.3.2.3 Titik referensi no.16 mempunyai hubungan dengan titik akupunktur no.49 dalam bidang reproduksi (Adikara, 1994).

4.3.3 Estimasi besar sampel (Puji et al, 1993)

Besar sampel dihitung menggunakan rumus

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 QD^2}{d^2}$$

n = besar sampel dalam masing-masing kelompok

z = nilai standar normal yang besarnya tergantung.

Bila $\alpha = 0,05$ z = 1,96

$\alpha = 0,01$ z = 2,58

β = power test

$QD^2/d^2 = 1$, karena menggunakan grup yang berpasangan

Dalam penelitian ditentukan $\alpha = 0,01$

Berdasarkan tabel Number of observation for t-test of difference between two means,

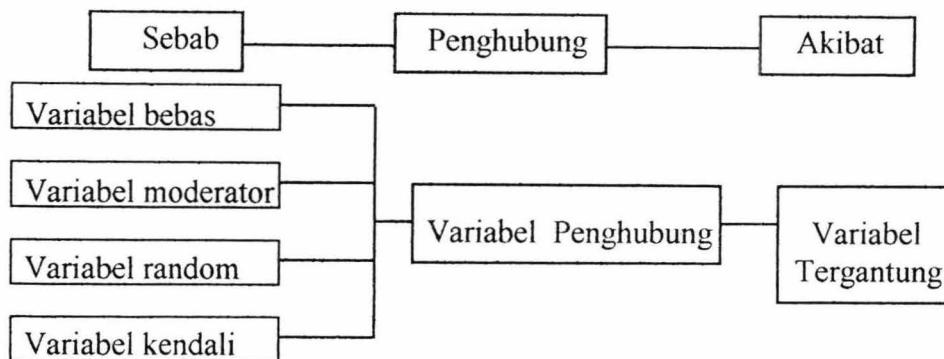
besar sampel masing-masing kelompok 8.

4.3.4 Metode Pengambilan Sampel

Digunakan metode *simple random sampling* dengan alasan walaupun populasi kelinci dalam kandang pemeliharaan telah diusahakan dalam kondisi perawatan yang sama, seperti makanan dan minuman, ternyata masih terdapat perbedaan dalam hal berat badan (Hume, 1972).

Pada penelitian ini karena umur dan jenis kelamin sudah disamakan, maka sampel dilakukan langsung secara random. Randomisasi pengambilan sampel dilakukan dengan cara populasi kelinci New Zealand White jantan dengan berat badan ± 2 kg dan panjang badan ± 40 cm diberi nomer-nomer mulai angka 1 sampai 40 pemilihan sampel pengujian

4.4 Variabel Penelitian



Gambar 4.4
Skema hubungan antar variabel

4.4.1 Klasifikasi Variabel

- a. Variabel bebas : cairan verapamil hidroklorida dan ITP
- b. Variabel random : berat badan dan panjang kaki belakang kelinci
- c. Variabel kendali : spesies kelinci, makanan, minuman, kandang hewan coba, metode pengukuran.
- d. Variabel tergantung : profil beda tegangan titik akupunktur dengan pembanding listrik dan migrasi ITP dari titik akupunktur kaki belakang kelinci yang diukur dalam satuan waktu (detik) milivolt dan cacah ITP.
- e. Variabel penghubung : dosis dan cara verapamil dalam menurunkan beda tegangan listrik titik akupunktur kaki belakang kelinci dan aktivitas waktu migrasi ITP dari titik akupunktur kaki belakang kelinci.

4.4.2 Definisi Operasional

- 1 Titik akupunktur adalah suatu area kecil di permukaan tubuh yang mempunyai kepekaan terhadap rangsangan dibandingkan dengan daerah sekitarnya dan sesuai dengan gambaran sel aktif listrik.
- 2 Transduksi rangsang titik akupunktur adalah profil aktivitas titik akupunktur no.49 yang ditampakkan dalam sifat hantaran listrik dan aktivitas migrasi ITP
- 3 Aktivitas titik akupunktur adalah penampakan beda aktivitas migrasi ITP dan perubahan beda tegangan listrik setelah diberi intervensi pemberian ITP dan penghambat transportasi ion kalsium, pengukuran aktivitas ini dengan analisis kuantitatif secara statistik dan analisis kualitatif secara grafik.
- 4 Sifat hantaran listrik spesifik titik akupunktur adalah profil beda tegangan listrik titik akupunktur no.49 terhadap titik referensi yang diukur setiap 3 detik dalam rentang waktu 300 detik dan dalam satuan mili volt.
- 5 Aktivitas migrasi ITP titik akupunktur adalah perubahan jumlah cacah per menit (cpm) ITP pada titik akupunktur no.49 yang diukur setiap 4 detik dalam rentang waktu 120 detik, makin tinggi aktivitas migrasi ITP makin rendah sisa cacah ITP yang terhitung dan terukur dalam satuan cpm.
- 6 Verapamil hidroklorida adalah penghambat transportasi ion kalsium pada membran sel dipakai dengan dosis 2 mg/ml.
- 7 Isotop Teknesium Perteknetat (ITP) adalah bahan radioaktif yang dipakai sebagai pelacak dengan dosis 50 μ Ci dalam 0,1ml.

4.5 Materi Bahan Penunjang Penelitian

4.5.1 Alat ukur pengujian

- a Pengukuran profil beda tegangan listrik kumpulan sel titik akupunktur, menggunakan alat pencatat tegangan listrik dengan perangkat lunak rancangan kelompok Biofisika FMIPA UNAIR yang mampu mengukur interval waktu rekaman dan menyimpan hasil pengukuran ke dalam penyimpan data (hard disk). Ketelitian alat dalam 1 mV dengan rentang pengukuran -2V sampai 2V. Alat ini dilengkapi dengan interface yang dapat sekaligus mengendalikan pengukuran 2 pasang elektrode dan mampu menampilkan data ke *printer* dalam bentuk grafik melalui program pascal. Pengukuran dilakukan dengan melekatkan pasangan elektroda dengan jarum akupunktur dalam kulit dari baja tahan karat nomer 34 G panjang 3 mm.
- b Kamera gamma tipe SPECT (*Single Photon Emission Computerized Tomography*) produk SOPHY Camera Type DSX produksi SOPHA Medical Perancis tahun 1993 yang ada di seksi Kedokteran Nuklir UPF Radiologi RSUD Dr. Soetomo. Alat ini mampu menghitung cacah migrasi ITP per detik setelah suntikan ITP dan mampu menampilkan grafik aktivitas migrasi ITP.

4.5.2 Bahan Penelitian (materi)

4.5.2.1 ITP didapat dari produksi Badan Tenaga Atom Serpong - Jakarta dengan nomer Batch 7J03P100 produksi tanggal 6 Oktober 1997 dengan kemurnian 99,81 % dari total aktivitas $^{99m}\text{TcO}_4$ dan nomer Batch 7J30P100 produksi tanggal 3 Nopember 1997 dengan kemurnian 99,90 % dari total aktivitas $^{99m}\text{TcO}_4$

4.5.2.2 Penghambat transmisi ion kalsium adalah Verapamil hydrochloride dalam bentuk serbuk putih produksi Sigma Chemical Company.

Product number : V 4629
L O T : 056H0925
Cas No. : 23313 - 68 - 0
Formula : C₂₇ H₃₈ N₂ O₄ Hcl
diencerkan 2 mg/ml di laboratorium

4.5.2.3 Jarum akupunktur digunakan jenis jarum dalam kulit dari baja tahan karat no. 34 G (0,02 mm) dengan ukuran panjang 13 mm produk Hwato - China dengan lingkaran pegangan perak

4.5.2.4 Alat suntik sekali pakai di gunakan merk Terumo ukuran 1 cc dengan jarum 27 G panjang 0,5 inci

4.6 Tempat dan waktu penelitian

Pengujian bidang biofisika untuk mengukur profil beda tegangan listrik titik akupunktur kaki belakang kelinci di lakukan di ruang eksperimen Laboratorium Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Akupunktur - Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jln. Indrapura 17 Surabaya.

Pengujian profil migrasi ITP dari titik akupunktur kaki belakang kelinci di lakukan di ruang SPECT seksi Kedokteran Nuklir UPF Radiologi RSUD Dr. Soetomo, Jln. Prof. Dr. Moestopo Surabaya. Penelitian pendahuluan dilakukan ditempat yang sama pada tahun 1995. Waktu pelaksanaan tahun 1997 sampai dengan tahun 1998.

4.7 Cara Kerja

4.7.1 Pemeliharaan Kelinci

Kelinci dipelihara di kandang hewan coba Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan Depkes RI, Jln. Indrapura 17 Surabaya dengan persyaratan yang sesuai dengan penelitian eksperimental, yaitu :

a) Kandang hewan percobaan

Kelinci ditempatkan dalam kandang terbuat dari besi berjeruji ukuran 60 x 40 x 40 cm dengan sistem pembuangan limbah kotoran cair maupun padat yang langsung masuk dalam talang dan pipa ke dalam tangki penampung. Sebelum digunakan, kandang disemprot desinfektan dengan larutan alkohol 70 %. Kandang ditempatkan dalam ruangan berventilasi bebas dan alami.

b) Makanan hewan percobaan

Selama pengujian pemeliharaan diberi :

- 1). makanan "Pellet Susu A" produksi PT Comfeed Ltd Sidoarjo dengan kandungan isi Crude protein 15-17 %, Lemak 5-7 %, Serat Kasar 8-10 %, Kalsium 0,8 - 1 %, Phosphor 0,6 - 0,8 %, Energi TDN 68 - 70 %.

Keterangan diperoleh dari :

1. Bagian Penjualan PT. Comfeed Indonesia - Sidoarjo
2. Kepala Bagian Nutrisi PT. Comfeed Indonesia - Jakarta, Bpk. Ferry Purnama, PhD.

- 2). makanan hijau berupa wortel dan jagung segar.

Minuman hewan percobaan. Selama pemeliharaan di beri air dari PAM Surabaya

4.7.2 Persiapan hewan uji

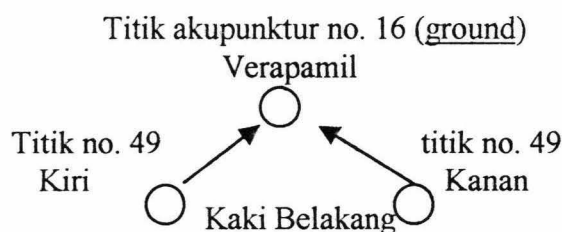
Kelinci untuk pengujian dipilih secara random diantara kelinci dewasa jantan, dengan berat badan ± 2 kg dan ditempatkan masing-masing 1 ekor dalam kandang ukuran 60 x 40 x 40 cm. Sebelum digunakan untuk pengujian kelinci disuntik dengan obat anti skabies IVOMEX dan diadaptasikan selama 1 bulan untuk diamati tidak ada kelainan kulit ataupun penyakit lain yang dapat mengganggu penelitian.



4.7.3 Pelaksanaan Penelitian

Pengujian yang dilakukan adalah sebagai berikut :

4.7.3.1 Pengukuran profil beda tegangan listrik titik akupunktur tanpa perlakuan untuk mengetahui profil normal beda tegangan listrik titik akupunktur kaki belakang kelinci di banding dengan kontrol. Pengukuran beda tegangan listrik titik akupunktur kaki belakang no. 49 kiri (P) dan kanan (K) dengan titik pembanding No. 16 (dengan suntikan Verapamil 0,1 ml dalam titik akupunktur). Pencatatan beda tegangan titik akupunktur No. 49 kanan/kiri dan titik pembanding (No.16 dan Verapamil) secara serial setiap 3 detik di tampilkan dalam bentuk numerik dan grafik.

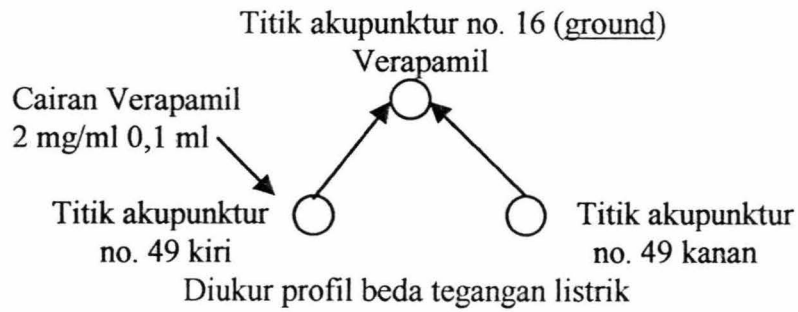


Gambar 4.5

Bagan cara pengukuran data dasar profil beda tegangan listrik titik akupunktur.

Hasil : data dasar profil beda tegangan listrik titik akupunktur no.49 kiri dan no.49 kanan

4.7.3.2 Pengukuran profil beda tegangan listrik titik akupunktur setelah pemberian suntikan Verapamil langsung pada titik akupunktur 0,1 ml - 2 mg/ml. Perlakuan ini untuk mengetahui perubahan profil beda tegangan listrik setelah terjadi hambatan transportasi ion kalsium pada dinding sel.



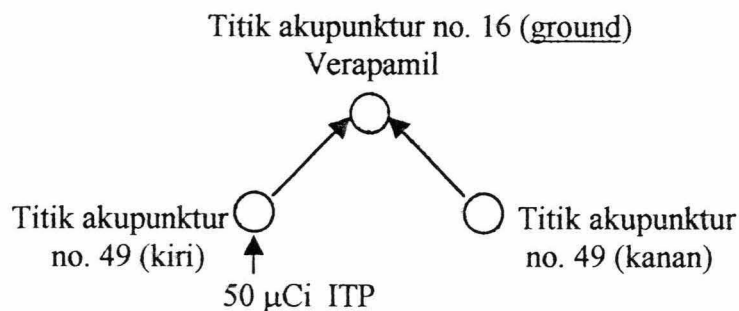
Gambar 4.6

Bagan cara pengukuran profil beda tegangan listrik antara titik akupunktur pada perlakuan pemberian cairan Verapamil (P1)

Prosedur Kerja :

Kelinci uji diletakkan pada papan fiksasi dilakukan persiapan daerah uji dengan pembersihan bulu, dilakukan pengukuran dan pencatatan sesuai dengan program dan hasil pencatatan numerik yang dapat ditampilkan dalam bentuk grafik, kemudian di pasang jarum akupunktur 34 G 0,5 inch pada titik akupunktur no. 16 dan 49. Program komputer pencatatan beda tegangan listrik setiap 3 detik dalam rentang waktu 5 menit dipersiapkan. Cairan Verapamil 0,1 ml 2mg setiap ml di suntikkan pada titik akupunktur no. 16 dan no. 49 kiri.

4.7.3.3 Pengukuran profil beda tegangan listrik titik akupunktur no. 49 sebelah kiri setelah diberi suntikan ITP 50 μ Ci dalam 0,1 ml (P2) di banding dengan titik sebelah kanan.



Gambar 4.7

Bagan cara pengukuran profil beda tegangan listrik titik akupunktur no. 49

Hasil : beda profil tegangan listrik titik akupunktur no. 49 kiri setelah di beri suntikan

ITP 50 μ Ci /0,1 ml di banding kontrol.

4.7.3.4 Pemeriksaan di bawah SPECT migrasi ITP dan titik akupunktur kaki belakang

kelinci setelah pemberian suntikan ITP 50 μ Ci dalam 0,1 ml cairan garam fisiologis.



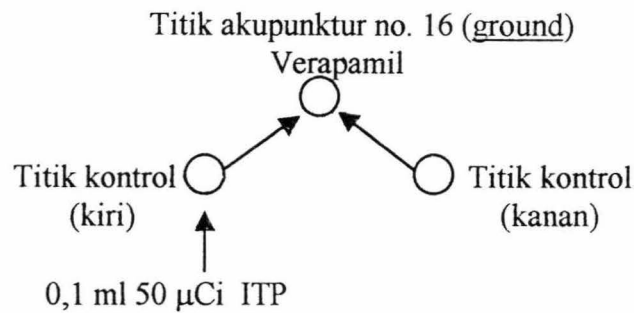
Gambar 4.8

Bagan cara pemeriksaan dibawah SPECT

Hasil : beda aktivitas migrasi ITP dan titik akupunktur no. 49 kanan dan kiri

4.7.3.5 Pemeriksaan titik kontrol (bukan titik akupunktur) dipilih titik kontrol 2 cm superior titik akupunktur no. 49. Pengukuran profil beda tegangan listrik dilakukan

sebelah kiri dan kanan dengan pemberian suntikan ITP 0,1 ml 50 μ Ci dalam daerah bukan titik akupunktur pada sebelah kiri.



Gambar 4.9
Bagan pengukuran profil beda tegangan listrik titik kontrol dengan suntikan ITP 0,1 ml 50 μ Ci

Hasil : profil beda tegangan listrik titik kontrol dengan dan tanpa suntikan ITP 50 μ Ci dalam 0,1 ml.

4.7.4 Prosedur Kerja

Persiapan penelitian

4.7.4.1 Kelinci uji diletakkan pada papan fiksasi dengan posisi tengkurap dan dipastikan tidak dapat bergerak dengan sabuk pengikat tanpa logam. Daerah uji pada tulang pinggang L IV - V dan kaki belakang maleolus medialis dibersihkan dari bulu dengan jalan menggunting sampai terlihat kulit yang sudah bersih supaya tidak mengganggu penempatan jarum ataupun suntikan bahan uji.

- 4.7.4.2 Persiapan alat pengukur beda tegangan listrik dengan perangkat lunak komputer dan perantara “interface” yang mempunyai dua pasang elektroda.
- 4.7.4.3 Persiapan jarum akupunktur baja tahan karat merk HWATO no. 34 G panjang 0,5 inci 3 buah setiap kelinci.
- 4.7.4.4 Cairan Verapamil disiapkan dengan konsentrasi 2 mg/ml
- 4.7.4.5 ITP sebanyak 0,1 ml 50 μ Ci dalam semprit insulin 1 ml dengan jarum 27 G panjang 0,5 inci.
- 4.7.4.6 Alat kamera gamma SPECT dengan program komputer dalam hitungan aktivitas setiap 4 detik dalam rentang waktu 120 detik disiapkan.

4.7.5. Pelaksanaan Penelitian

- 4.7.5.1 Pengukuran beda tegangan listrik titik akupunktur.

Kelinci uji yang sudah siap disuntik cairan Verapamil 0,1 ml 2 mg/ml pada titik 16 antara L IV-V kemudian ditusuk jarum akupunktur 34 G, panjang 0,5 inci sedalam 3 mm sebagai titik referensi. Pada titik 49 kiri dan kanan sebagai titik ukur dipasang jarum akupunktur no. 34 panjang 0,5 inci sedalam 2 mm, disuntik dengan cairan Verapamil pada sisi kiri sebelum di pasang dengan jarum. Ketiga jarum yang sudah terpasang dihubungkan dengan penjepit kecil pada kepala jarum dengan kabel ke arah pengantara *interface* dan komputer program pengukur.

Letak 2 elektrode pada titik 16 sebagai referensi dan elektroda ukur pertama pada titik 49 sisi kiri, elektrode ukur kedua pada titik 49 sisi kanan. Pengukuran langsung dilakukan setelah elektrode terpasang dan program siap.

Hasil pengukuran adalah beda tegangan listrik titik akupunktur no. 49 dengan titik referensi no. 16 dalam satuan milivolt (mV)

4.7.5.2 Pemeriksaan dibawah kamera gamma SPECT

Kelinci uji difiksasi pada papan di letakkan pada meja pemeriksaan. Kamera diletakkan di atas kelinci pada jarak 10 cm di atas garis tengah punggung dan program pengukur disiapkan. Disuntikkan cairan ITP dalam semprit 1 ml dengan jarum 27 G panjang 0,5 inci disuntikkan sebanyak 50 μ Ci, 0,1 ml, disuntikkan ke dalam titik uji dan program pemeriksaan segera dijalankan. Hasil pengukuran adalah jumlah cacah per menit (cpm) yang merupakan aktivitas migrasi ITP dari titik akupunktur no. 49 dan titik kontrol (bukan titik akupunktur)

4.7.5.3 Pemeriksaan Titik Kontrol

Dilakukan pengukuran beda tegangan listrik dengan perlakuan pemberian cairan Verapamil dan ITP, juga pengukuran aktivitas migrasi ITP seperti pada titik akupunktur no.49.

4.8 Cara dan Analisis Data

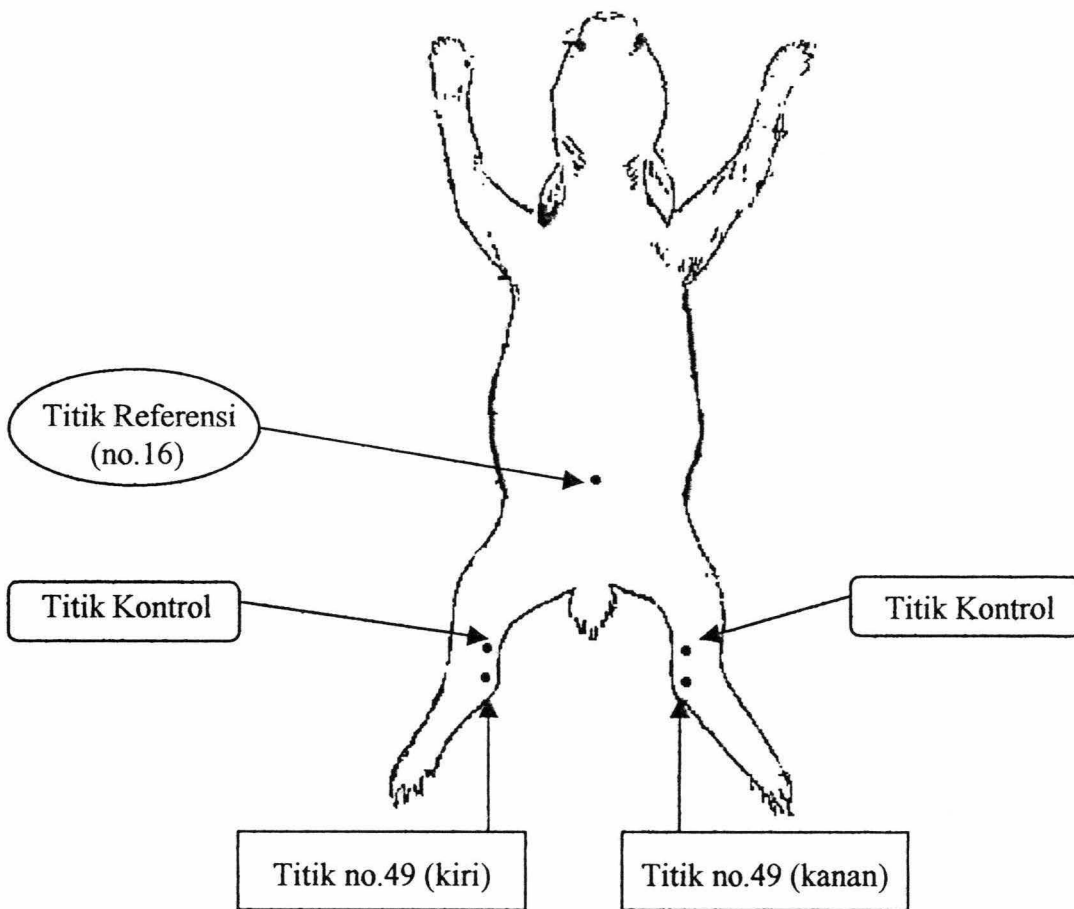
Analisis statistik dilakukan uji t ($\alpha = 0.01$) dilakukan untuk mengetahui perbedaan O1,O9,O11,O25 observasi titik akupunktur sisi kiri sebelum perlakuan dan O2,O10,O12,O26 observasi titik akupunktur sisi setelah perlakuan juga O3,O13,O15,O27 observasi titik akupunktur sisi kanan tanpa perlakuan serta

O4,O14,O16,O28 observasi titik akupunktur sisi kanan sebagai titik pembanding tanpa perlakuan

Dibanding dengan pemeriksaan titik kontrol O5,O17,O19,O29 observasi titik kontrol sisi kiri sebelum perlakuan dan O6,O18,O20,O30 observasi titik kontrol sisi kiri setelah perlakuan juga O7,O21,O23,O31 observasi titik kontrol sisi kanan tanpa perlakuan serta O8,O22,O24,O31 observasi titik kontrol sisi kanan tanpa perlakuan sebagai titik pembanding.

Analisis data dilakukan dalam 2 cara, yaitu :

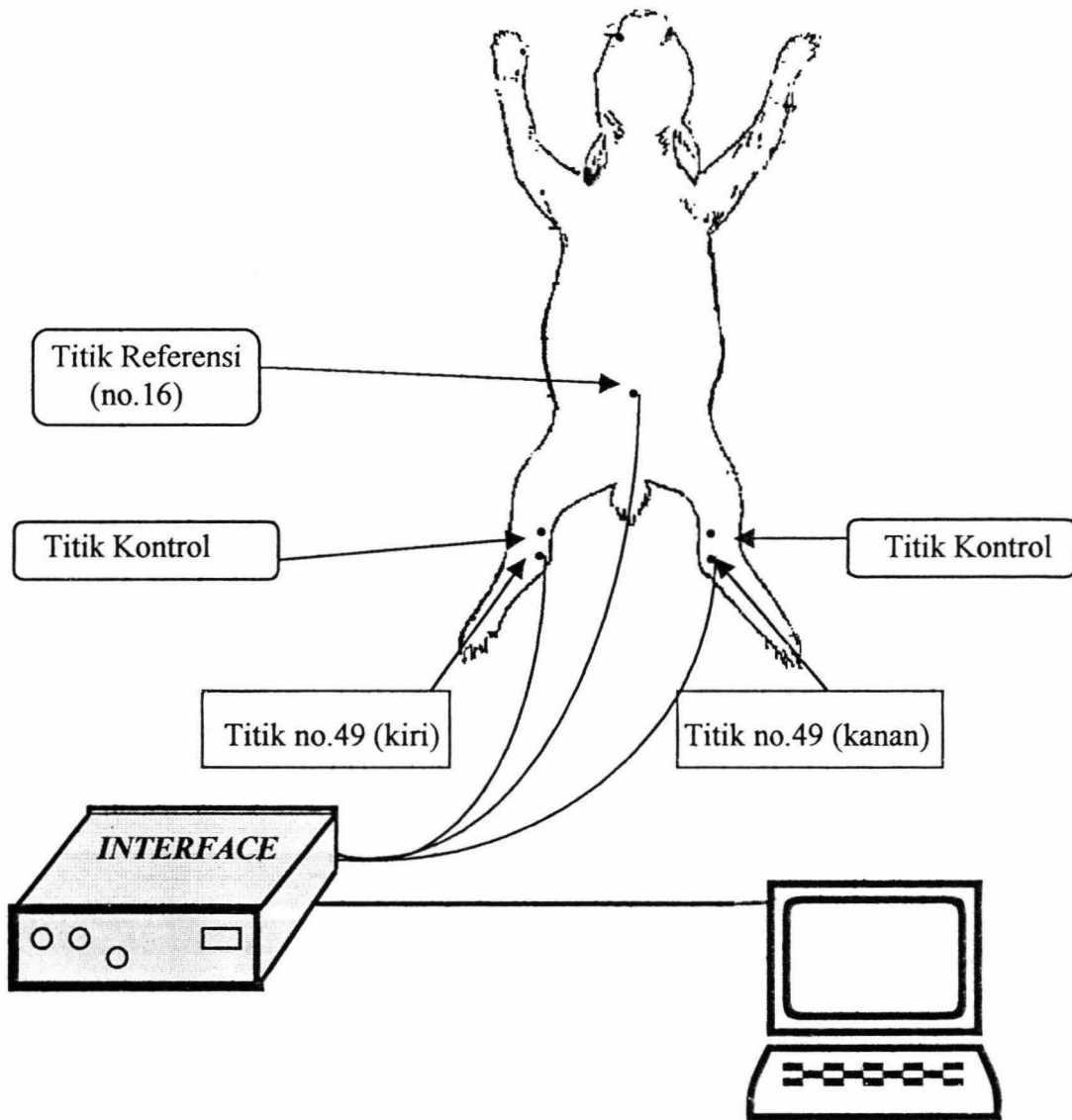
1. Beda tegangan listrik relatif : diperoleh dari selisih angka beda tegangan listrik titik akupunktur no.49 kiri dan kanan, analisis statistik dilakukan secara absolut.
2. Beda sesungguhnya : diperoleh dari angka ukuran pengujian beda tegangan listrik titik akupunktur no.49 kiri dan kanan, analisis statistik dilakukan secara probabilitas.



Gambar 4.10
Skema lokasi titik akupunktur kelinci uji (dari dorsal)

Keterangan gambar :

- Titik No. 49 kiri : titik sebagai area perlakuan (uji)
 Titik No. 49 kanan : kontrol (uji)
 Titik No. 16 : referensi (semua uji), karena terletak pada garis median punggung dan jarak ke titik no.49 kiri dan kanan maupun titik kontrol kiri dan kanan adalah sama.
 titik kontrol (bukan titik akupunktur) kiri/ kanan : 2 cm superior titik akupunktur no. 49

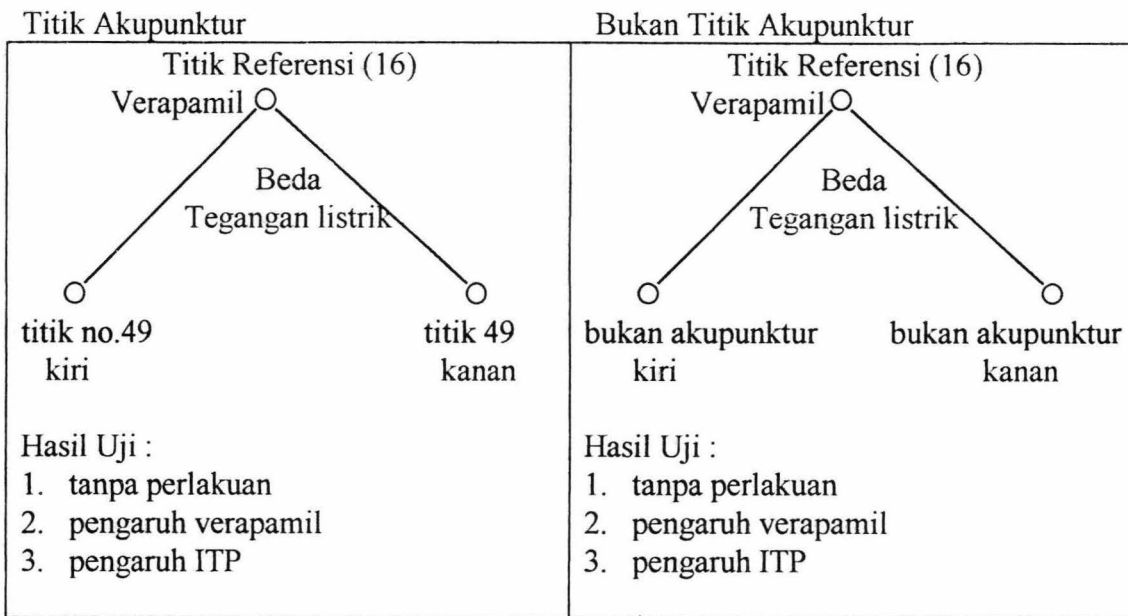


Gambar 4.11
Skema uji beda tegangan listrik titik akupunktur (dari dorsal)

Beda tegangan listrik (mV)

Alat : Akupunktur Meter dengan perangkat lunak komputer

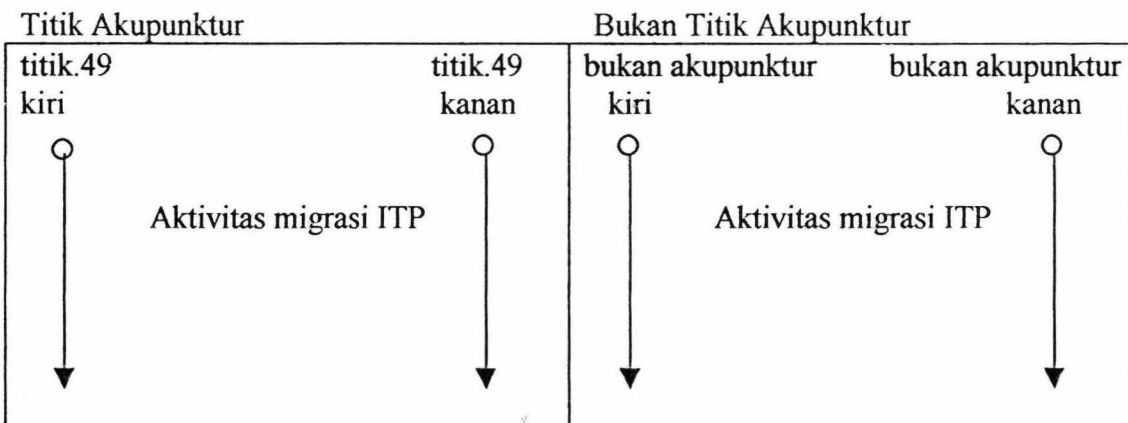
Waktu : Pengukuran setiap 3 detik selama 300 detik



Aktivitas migrasi ITP

Alat : SPECT

Waktu : Pengukuran setiap 4 detik selama 120 detik



Gambar 4.12
Skema pengujian titik akupunktur kaki belakang kelinci