

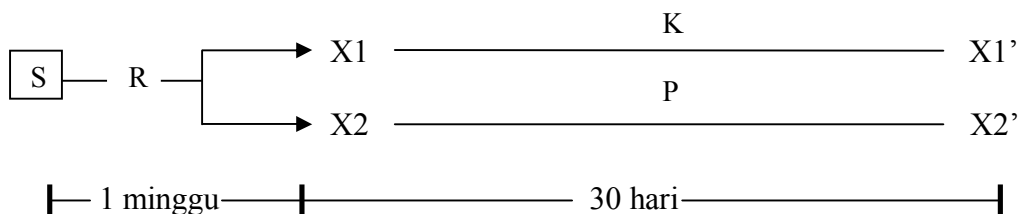
BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1. Ruang lingkup penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah dalam bidang ilmu Imunologi. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang pada bulan Mei-Juni 2011.

4.2. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *pre-post test control group design*. Menggunakan dua kelompok yaitu kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, dengan randomisasi. Penilaian dilakukan pada *pre* dan *post test*, dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok.



Gambar 6. Skema rancangan penelitian⁴⁸

Keterangan:

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kontrol, kelompok hewan perlakuan kontrol negatif, tanpa pemberian jus noni

P : Perlakuan, kelompok hewan perlakuan dengan diberi paparan asap rokok dan pemberian jus noni sebanyak 6 ml/hari

X1 : Pemeriksaan jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP *pre test* kelompok kontrol

X1' : Pemeriksaan jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP *post test* kelompok kontrol

X2 : Pemeriksaan jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP *pre test* kelompok perlakuan

X2' : Pemeriksaan jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP *post test* kelompok perlakuan

4.3. Jenis dan besar sampel

Besar sampel menurut ketentuan penelitian hewan coba untuk perlakuan jangka pendek dari WHO adalah minimal 5 ekor tiap kelompok. Tikus wistar yang digunakan 5 ekor pada masing-masing kelompok, sehingga jumlah yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10 ekor.

Kriteria inklusinya adalah:

- a. Tikus wistar jantan
- b. Umur 2-2,5 bulan
- c. Berat tubuh 180-200 gram
- d. Kondisi sehat (aktif bergerak), tidak terdapat kelainan anatomis
- e. Belum pernah digunakan penelitian

Kriteria *drop-out* adalah tikus sakit atau mati selama perlakuan berlangsung.

4.4. Variabel penelitian

4.4.1. Variabel bebas

Pemberian jus noni

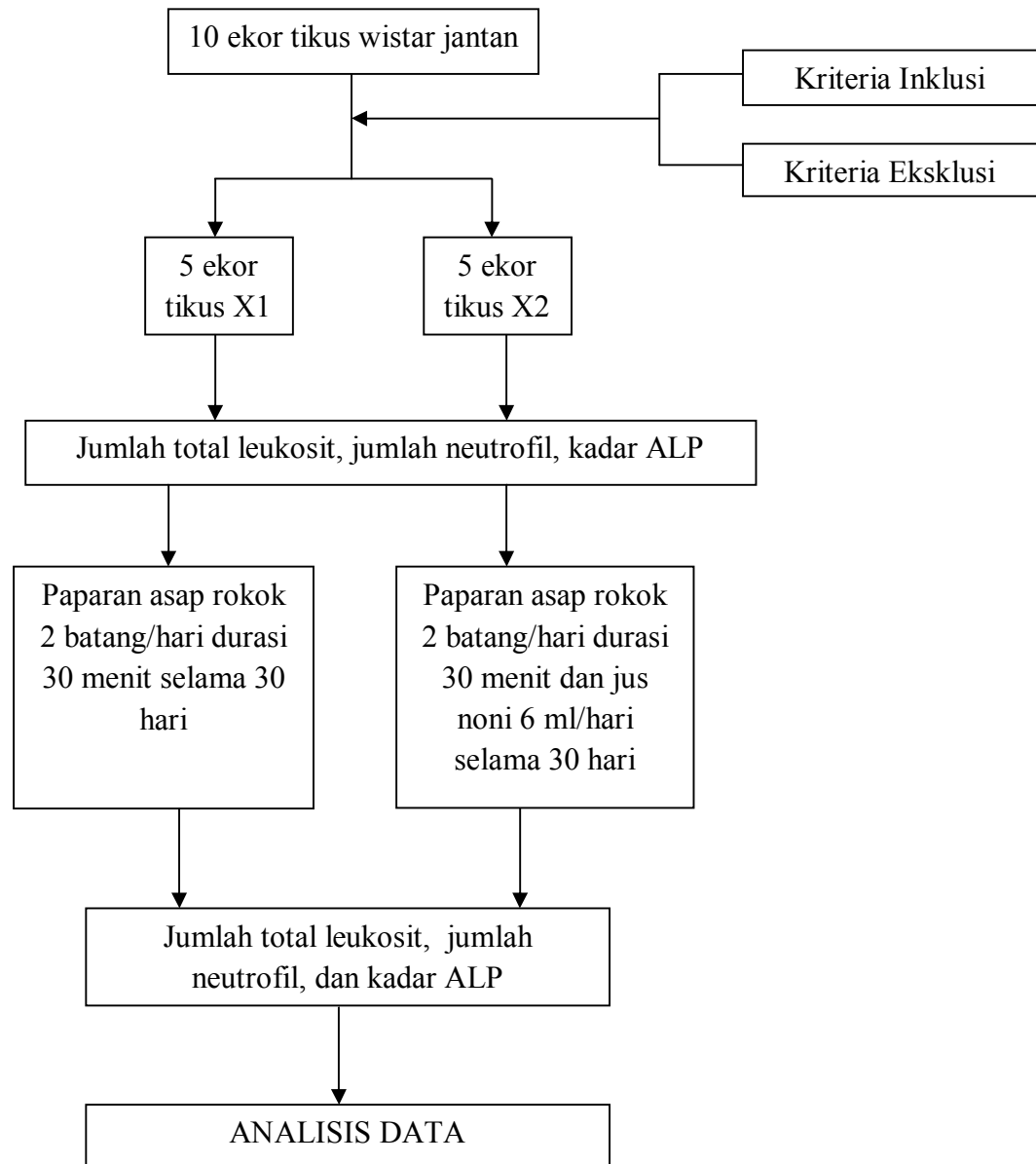
4.4.2. Variabel tergantung

Jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP

4.5. Definisi operasional

- a. Pemberian jus noni adalah pemberian cairan jus noni sebanyak 6 ml/hari yang diberikan lewat sonde lambung dengan pembagian 3 ml pertama pada 30 menit sebelum pemberian asap rokok dan 3 ml yang kedua pada 3 jam setelah paparan asap rokok, skala nominal.
- b. Jumlah total leukosit adalah jumlah total leukosit dalam darah perifer dengan satuan 10^3sel/mm^3 yang diperiksa dengan alat *blood analyzer* Mikros 6.0, skala rasio.
- c. Jumlah neutrofil adalah jumlah total neutrofil dalam darah perifer dengan satuan 10^3sel/mm^3 yang diperiksa dengan alat *blood analyzer* Mikros 6.0, skala rasio
- d. Kadar ALP adalah kadar ALP dalam serum dengan satuan U/L yang diperiksa dengan alat Cobas Mira, skala rasio

4.6. Alur penelitian



Gambar 7. Alur penelitian

4.7. Alat, bahan, dan cara pemeriksaan

4.7.1. Alat

- a. Pemeliharaan dan pemberian perlakuan adalah kandang hewan, kotak kaca, spuit, pipa, dan sonde lambung
- b. Pemeriksaan hitung jumlah leukosit, neutrofil, dan kadar ALP adalah *blood analyzer* Mikros 6.0, Cobas mira, tabung reaksi, tabung kapiler, sentrifuge, tabung *ependorf*.

4.7.2. Bahan

- a. Hewan coba berupa tikus jantan galur wistar dari laboratorium Biologi Universitas Brawijaya, memenuhi kriteria inklusi, mendapat pakan standar, dan minum secara *ad libitum*.
- b. Bahan perlakuan berupa rokok kretek yang dibakar dan dipaparkan asapnya, jus noni yang diperoleh dari perusahaan dengan komposisi jus (*puree*) buah noni, konsentrat jus anggur alami, konsentrat jus blueberry alami, dan perasa alami.

4.8. Cara kerja

Sebelum diberi perlakuan paparan asap rokok, semua tikus diadaptasikan selama 1 minggu kemudian dirandomisasi dibagi menjadi 2 kelompok, kemudian diperiksa jumlah total leukosit, neutrofil, dan kadar ALP terlebih dahulu dengan mengambil sampel darah sebanyak 2 ml lewat pleksus retro orbitalis. Paparan asap rokok dilakukan dengan cara memasukkan tikus ke

dalam kotak khusus yang diberi paparan asap yang berasal dari pembakaran rokok kretek 2 batang/hari dengan durasi 30 menit selama 30 hari. Pada kelompok perlakuan, tikus diberikan jus noni sebanyak 3 ml lewat sonde 30 menit sebelum diberi paparan asap rokok dan 3 ml lewat sonde sekitar 3 jam setelah diberi paparan asap rokok.

Setelah semua perlakuan selesai, pengambilan darah untuk pemeriksaan jumlah total leukosit, jumlah neutrofil, dan kadar ALP melalui pleksus retro orbitalis, kemudian tikus diterminasi.

Teknik pemeriksaan dan penghitungan jumlah leukosit, neutrofil dengan cara mengambil darah sebanyak 1 ml ditambahkan EDTA ditempatkan dalam tabung steril, sedangkan pemeriksaan kadar ALP dengan mengambil serum. Sampel darah dan serum diperiksa secara otomatis dengan alat *blood analyzer Mikros 6.0* dan *cobas mira*.

4.9. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini berlangsung pada bulan Mei 2011. Pemeliharaan hewan coba, pemberian paparan asap rokok, dan pemberian jus noni dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran jumlah leukosit, neutrofil dan kadar ALP dilakukan di Laboratorium Klinik Universitas Brawijaya Malang.

4.10. Cara pengumpulan data

- a. Kelompok I (kontrol positif) diberi paparan asap rokok, pakan standar , dan air aquades lewat sonde selama 30 hari. Sebelum dan sesudahnya diambil darah untuk pemeriksaan leukosit, neutrofil, ALP.
- b. Kelompok II diberi paparan asap rokok, pakan standar, dan jus noni lewat sonde selama 30 hari. Sebelum dan sesudahnya diambil darah untuk pemeriksaan leukosit, neutrofil, ALP.

4.11. Analisis statistik

Data yang dikumpulkan dilakukan *cleaning*, *coding*, dan ditabulasi selanjutnya *entry* dalam komputer. Semua data disajikan dalam nilai deskriptifnya (rerata, simpang baku, dan nilai median) yang selanjutnya disajikan dalam tabel grafik *boxplot*.

Normalitas data diuji dengan menggunakan *Shapiro-Wilk test* dan dilakukan transformasi data jumlah leukosit kelompok perlakuan *post test* karena data tidak normal. Analisis inferensial yang digunakan untuk menganalisis jumlah leukosit, neutrofil, dan kadar ALP antara sebelum dan sesudah paparan asap rokok pada kelompok perlakuan maupun kontrol dengan *paired t test*, sedangkan data jumlah leukosit kelompok perlakuan dengan uji *Wilcoxon*. Analisis yang digunakan untuk melihat perbedaan selisih jumlah leukosit, neutrofil, dan kadar ALP antara kelompok kontrol dengan

perlakuan menggunakan *unpaired t test*. Seluruh analisis dilakukan dengan memanfaatkan fasilitas pengolah dan penyaji *program statistical product and service solution* (SPSS) *for windows release* ver 17.0.

4.12. Etika penelitian

Tikus mendapat perlakuan baik dan dipelihara sesuai dengan standar pemeliharaan di Laboratorium Biologi Universitas Brawijaya Malang. *Ethical clearance* diajukan melalui Komite Etik Penelitian Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang untuk memperoleh izin menggunakan hewan coba sebelum penelitian dimulai, kemudian didapatkan *Ethical clearance* dengan No.059/EC/FK/RSDK/2011. Penelitian ini merupakan penelitian dengan ketua tim penelitian Dr.dr.Andrew Johan, M.Si. yang meneliti tentang efek statin dan jus noni terhadap marker inflamasi pada tikus wistar yang terpapar asap rokok.