

BAB IV
METODE PENELITIAN

4.1. Ruang lingkup penelitian

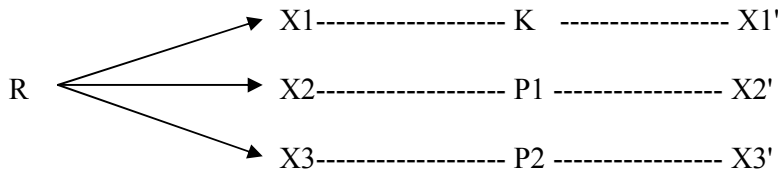
Penelitian ini merupakan studi di bidang ilmu Biokimia, Patologi Klinik, dan Imunologi Kedokteran.

4.2. Tempat dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Brawijaya Malang pada bulan April sampai Juli 2011.

4.3. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *pre and post test only control group design*. Tikus yang telah menjalani adaptasi selama 1 minggu dibagi menjadi 3 kelompok secara acak masing-masing 6 ekor, sebagai berikut:



Gambar 4.1 Skema penelitian

Keterangan

R : Random alokasi

K : Tikus diberikan paparan asap rokok tanpa pemberian fluvastatin

- P1 : Tikus diberikan paparan asap rokok dan pemberian fluvastatin 5 mg/kgBB per-oral.
- P2 : Tikus diberikan paparan asap rokok dan pemberian fluvastatin 10 mg/kgBB per-oral.
- X1 : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok K sebelum paparan asap rokok.
- X1' : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok K sesudah paparan asap rokok.
- X2 : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok P1 sebelum pemberian fluvastatin 5 mg/kgBB dan paparan asap rokok.
- X2' : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok P1 sesudah pemberian fluvastatin 5 mg/kgBB dan paparan asap rokok.
- X3 : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok P2 sebelum pemberian fluvastatin 10 mg/kgBB dan paparan asap rokok.
- X3' : Hasil pengukuran jumlah total leukosit dan neutrofil tikus kelompok P2 sesudah pemberian fluvastatin 10 mg/kgBB dan paparan asap rokok.

4.4. Jenis dan Besar Sampel

Besar sampel menurut ketentuan penelitian hewan coba dari WHO adalah minimal 5 ekor tiap kelompok. Tikus wistar sejumlah 18 ekor dikelompokkan secara random menggunakan tabel randomisasi menjadi 3 kelompok, masing-masing 6 ekor.

Kriteria inklusi:

1. Tikus wistar jantan
2. Umur 2 bulan
3. Berat tubuh 180-200 gram
4. Kondisi sehat, aktif bergerak
5. Tidak terdapat kelainan anatomis
6. Belum pernah digunakan penelitian

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

4.5. Variabel penelitian

4.5.1. Variabel bebas

Pemberian fluvastatin per-oral (5 mg dan 10 mg/kgBB/hari).

4.5.2. Variabel tergantung

1. Jumlah total leukosit
2. Jumlah total neutrofil
3. Kadar ALP serum

4.6. Definisi operasional

1. Pemberian fluvastatin adalah pemberian fluvastatin per-oral (5 mg dan 10 mg/kgBB/hari) dengan sonde lambung setiap hari 30 menit sebelum pemberian asap rokok, skala nominal.

2. Jumlah total leukosit adalah jumlah leukosit dalam darah dari ekor tikus yang diperiksa dengan *blood analyzer* Mikros 6.0 dan dinyatakan dengan satuan ribu/mm^3 , skala rasio.
3. Jumlah total neutrofil adalah jumlah neutrofil dalam darah dari ekor tikus yang diperiksa dengan *blood analyzer* Mikros 6.0 dan dinyatakan dengan satuan ribu/mm^3 , skala rasio.
4. Kadar ALP adalah kadar ALP dalam serum yang diperiksa dengan alat Cobas mira dan dinyatakan dalam satuan unit/cc, skala rasio.

4.7. Alat, bahan, dan cara pemeriksaan

4.7.1. Alat

- a. Kandang hewan dan sonde lambung.
- b. *Blood analyzer*, Spektrofotometer *Cobas mira*, tabung reaksi, tabung kapiler, 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 asap dari rokok kretek yang dibakar dan dipaparkan asapnya (2 batang/30 menit/hari), dan fluvastatin per-oral (5 mg dan 10 mg/kgBB/hari).

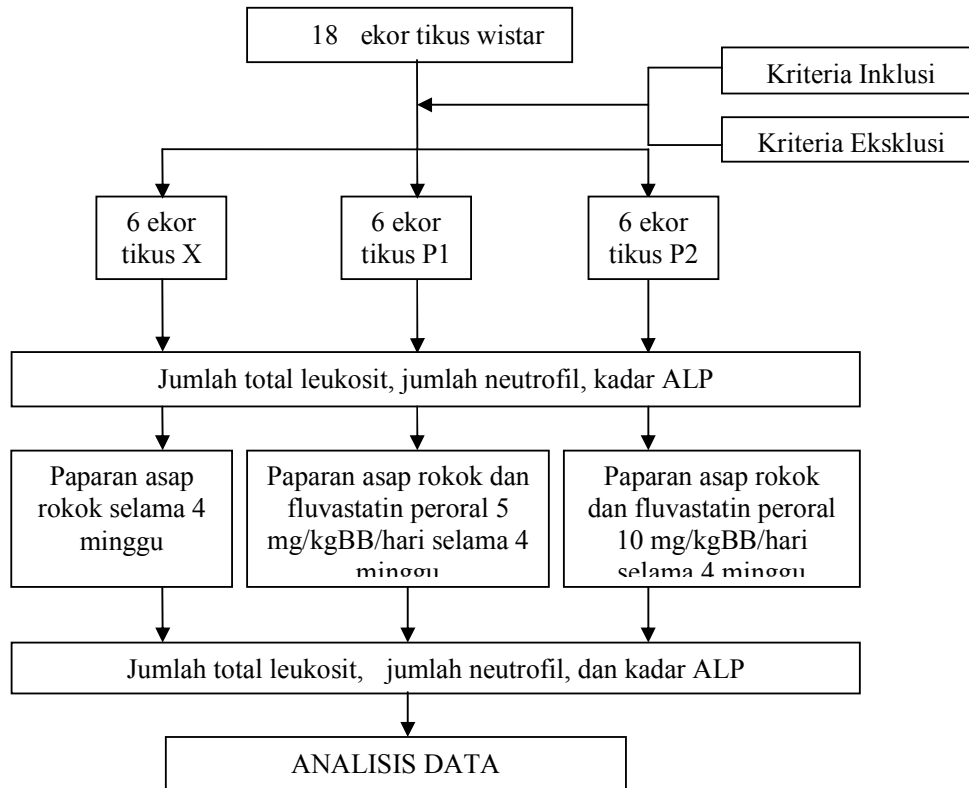
4.7.3. Cara kerja

Paparan asap rokok dilakukan dengan cara memasukkan tikus ke dalam kotak yang dihubungkan dengan saluran asap yang berasal dari pembakaran rokok kretek 2 batang/30 menit/hari selama satu bulan. Tikus dipindahkan ke kandang pemeliharaan segera setelah asap hasil pembakaran habis.

Teknik pemeriksaan dan penghitungan jumlah leukosit, neutrofil dengan cara mengambil darah sebanyak 1 ml ditambahkan EDTA ditempatkan dalam tabung steril. Sampel darah diperiksa dengan alat *blood analyzer Mikros 6.0*.

Teknik pemeriksaan kadar ALP dengan cara mengambil serum darah ditempatkan dalam tabung steril. Sampel serum diperiksa dengan alat *Cobas mira*. Pemeliharaan hewan coba, pemberian paparan asap rokok, dan pemberian pravastatin dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Brawijaya Malang. Pengukuran jumlah leukosit, neutrofil dan kadar ALP dilakukan di Laboratorium Klinik Universitas Brawijaya Malang.

4.8. Alur penelitian



Bagan 4.1. Bagan alur penelitian

4.9. Analisis statistik

Sampel dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan kelompok kontrol. *Outcome* yang dinilai adalah hasil pengukuran sebelum dan sesudah perlakuan pada masing masing kelompok tikus. Uji paired T test untuk membuktikan adanya beda *outcome* sebelum dan sesudah perlakuan. Uji beda delta perubahan jumlah total leukosit, neutrofil, dan kadar ALP serum dilakukan antara kelompok perlakuan dan kontrol. Data yang

berdistribusi normal dianalisis dengan uji *one way Anova*. Data yang tidak berdistribusi normal dianalisis dengan uji Kruskal Wallis.

4.10. Etika Penelitian

Tikus mendapat perlakuan baik dan dipelihara sesuai dengan standar pemeliharaan di Laboratorium Biologi Universitas Brawijaya Malang. *Ethical clearance* dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang sudah diperoleh sebelum dilakukan penelitian.