

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **IV.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang keilmuan imunologi, farmakologi dan pengobatan tradisional.

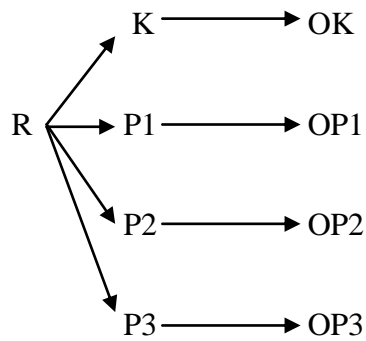
#### **IV.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Penelitian dan pengumpulan data akan dilaksanakan pada bulan Juni-Juli tahun 2014.

#### **IV.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dengan menggunakan desain *Post Test Only Group Design* yang menggunakan hewan percobaan Mencit BALB/c sebagai objek penelitian. Penelitian ini membandingkan antara tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol yaitu dengan pemberian kombinasi herbal A, B, C untuk melihat indeks fagositosis makrofag dan produksi ROI.



Keterangan:

R : Randomisasi

K : Kontrol

Kelompok mencit BALB/c yang diberi Aquades

P1 : Perlakuan 1

Kelompok mencit BALB/c yang diberi kombinasi herbal A dengan dosis  
0,08 ml/hari selama 7 hari

P2 : Perlakuan 2

Kelompok mencit BALB/c yang diberi kombinasi herbal B dengan dosis  
0,08 ml/hari selama 7 hari

P3 : Perlakuan 3

Kelompok mencit BALB/c yang diberi kombinasi herbal C dengan 0,08  
ml/hari selama 7 hari

OK : Pengamatan pada kelompok kontrol diberikan Aquadest

OP1 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 1

OP2 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 2

OP3 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 3

Dosis 0,08 ml/hari/mencit merupakan dosis konversi dari dosis pada pemberian ke manusia.

#### **IV.4 Populasi dan Sampel**

##### **IV.4.1 Populasi Target**

Populasi target penelitian ini adalah mencit BALB/c

##### **IV.4.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit BALB/c yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

##### **IV.4.3 Sampel**

###### **IV.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria Inklusi dari penelitian ini adalah:

- a. Mencit BALB/c betina
- b. Dewasa (usia 8 minggu)
- c. Berat badan 20-40 gram
- d. Kondisi sehat

#### **IV.4.3.2 Kriteria Drop out**

Kriteria drop out dari penelitian ini adalah:

- a. Mencit mati sebelum diteliti.

#### **IV.4.4 Cara sampling**

Penelitian ini dilakukan secara randomisasi sederhana yaitu dimana objek penelitian memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi sampel penelitian.

#### **IV.4.5 Besar Sampel**

Penentuan besar sampel menggunakan pedoman WHO yaitu menggunakan minimal 5 ekor mencit tiap kelompok yang diambil secara acak. Pada penelitian ini digunakan 6 ekor mencit ditambah 2 ekor mencit sebagai cadangan pada tiap kelompok dimana terdapat total 4 kelompok yang terdiri dari 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol maka jumlah sampel seluruhnya adalah 32 ekor mencit BALB/c betina.

### **IV.5 Variabel Penelitian**

#### **IV.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian kombinasi herbal A, herbal B dan herbal C.

#### IV.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah indeks fagositosis makrofag dan produksi ROI yang berasal dari makrofag peritoneal.

#### IV.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
kombinasi herbal A	Kombinasi herbal yang memiliki kandungan berbagai macam ekstrak bahan tradisional, yang terdiri atas: <i>Oryza sativa</i> (Beras) 20%, <i>Foeniculli fructus</i> (Adas) 10%, <i>Isorae fructus</i> (Kayu ulet) 10%, <i>Caryophylli folium</i> (Cengkeh) 10%, <i>Menthae arvensitis Herba</i> (poko) 10%, <i>Zingiberis rhizoma</i> (Jahe) 10%, <i>Amomi fructus</i> (Kapulogo) 5%, <i>Myristicae semen</i> (Pala) 5%, <i>Burmanni cortex</i> (Manis jangan) 5%, <i>Centellae herba</i> (Pegagan) 5%, <i>Parkiae semen</i> (Kedawung) 5%, <i>Usneae thallus</i> (Kayu angin) 5%, dan <i>Mel depuratum</i> (Madu).	ml/hari	Rasio
kombinasi herbal B	Komposisi secara keseluruhan sama dengan kombinasi herbal A namun sebagai pengganti <i>Caryophylli folium</i> (Cengkeh) 10%, <i>Centellae herba</i> (Pegagan) 5% dan <i>Parkiae semen</i> (Kedawung) 5%, digunakan <i>Caryophylli flos</i> (Cengkeh) 10%, <i>Imperetae radix</i> (Alang-alang) 5% dan <i>Oleum mentha piperita</i> 0,25g. Kadar pada <i>Oryza sativa</i> ditingkatkan menjadi 25%.	ml/hari	Rasio
kombinasi herbal C	Komposisi secara keseluruhan sama dengan kombinasi herbal A namun sebagai pengganti <i>Caryophylli folium</i> (Cengkeh) 10%,	ml/hari	Rasio

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Indeks fagositosis	<p><i>Centellae herba</i> (Pegagan) 5% dan <i>Parkiae semen</i> (Kedawung) 5%, digunakan <i>Caryophylli flos</i> (Cengkeh) 10%, <i>Baeckeeae folium</i> (Jungrahap) 5% dan <i>Oleum mentha piperita</i> 0,25g. Kadar pada <i>Oryza sativa</i> ditingkatkan menjadi 25%.</p> <p>Prosentase makrofag aktif yang memfagositosis <i>Latex beads</i> yang dihitung dengan formula: (presentase makrofag yang memfagosit) x (rata-rata jumlah partikel yang difagosit oleh sel yang positif).</p>		Rasio
ROI	<p><i>Reactive Oxygen Intermediate</i> merupakan hasil produksi makrofag aktif yang digunakan untuk menghancurkan patogen yang masuk tubuh melalui proses oksidatif. Produksi ROI dapat diukur menggunakan uji NBT.</p>	%	Rasio

## IV.7 Cara Pengumpulan Data

### IV.7.1 Alat dan Bahan pada Persiapan dan Perlakuan

#### IV.7.1.1 Alat

1. Timbangan
2. Sonde lambung
3. Kandang hewan coba
4. Pipet ukur
5. Tabung reaksi

6. Batang pengaduk

7. Spatula

8. Inkubator

#### **IV.7.1.2 Bahan**

1. Kombinasi herbal A

2. Kombinasi herbal B

3. Kombinasi herbal C

4. Aquadest

5. Mencit strain BALB/c yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

6. Pakan dan minum standar

#### **IV.7.2 Alat dan Bahan pada Proses Isolasi Makrofag**

Terlampir

#### **IV.7.3 Alat dan Bahan pada pemeriksaan Fagositosis makrofag:**

Terlampir

#### **IV.7.4 Alat dan Bahan pada pengukuran produksi ROI**

Terlampir

#### **IV.7.5 Jenis Data**

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer.

#### IV.7.6 Cara kerja

Prosedur penelitian ini meliputi beberapa langkah:

1. Mempersiapkan Alat dan Bahan
2. Perlakuan pada hewan coba.
  - a. Mencit BALB/c yang berjumlah tiga puluh dua ekor diadaptasikan selama 7 hari dan dikandangkan secara memadai pada suhu lingkungan normal serta diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*.
  - b. Kemudian dilakukan pengelompokan secara acak sehari setelah masa adaptasi selesai. Pengelompokan mencit BALB/c terbagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok Kontrol, P1, P2, dan P3 yang masing-masing terdiri atas 8 sampel.
  - c. Perlakuan pada masing-masing kelompok:
    1. Kelompok Kontrol  
Mencit diberikan Aquades melalui sonde.
    2. Kelompok P1  
Mencit diberikan Herbal A dosis ini melalui sonde.
    3. Kelompok P2  
Mencit diberikan Herbal B dosis ini melalui sonde.
    4. Kelompok P3  
Mencit diberikan Herbal C dosis ini melalui sonde.
  - d. Pada hari ke-8 mencit di terminasi dan dilakukan isolasi makrofag peritoneal



Prosedur Isolasi Makrofag Peritoneal:

Terlampir

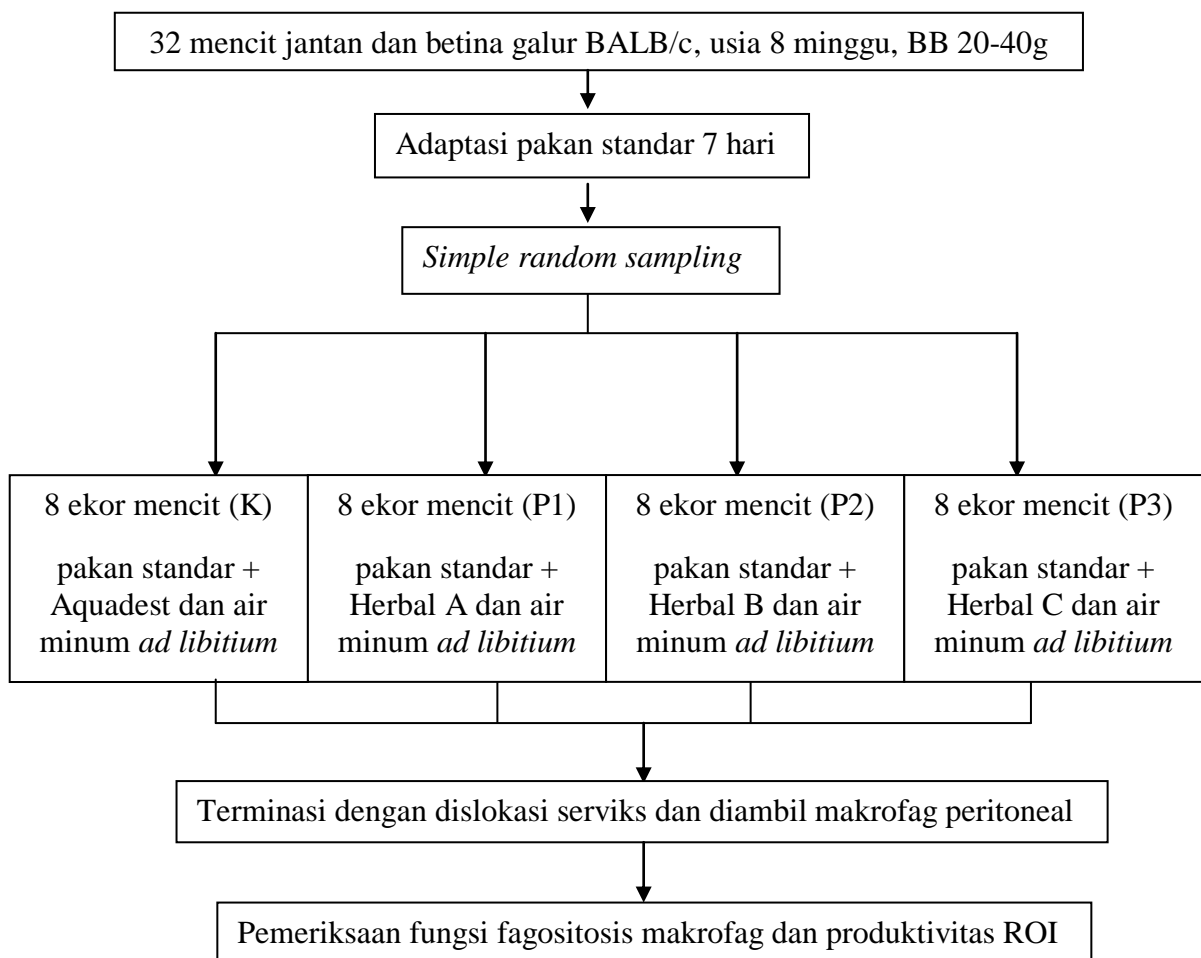
Prosedur Pemeriksaan Fagositosis Makrofag dengan Latex Beads:

Terlampir

Prosedur Pemeriksaan ROI dengan cara reduksi NBT:

Terlampir

#### IV.8 Alur penelitian



Gambar 5. Alur penelitian

Keterangan:

Kelompok kontrol : Kelompok mencit BALB/c yang diberi Aquadest

Kelompok P1 : Kelompok mencit BALB/c yang diberi Herbal A

Kelompok P2 : Kelompok mencit BALB/c yang diberi Herbal B

Kelompok P3 : Kelompok mencit BALB/c yang diberi Herbal C

## **IV.9 Pengolahan data dan Analisis data**

### **IV.9.1 Pengolahan data**

#### **IV.9.1.1 Cleaning**

Dilakukan pembersihan data pada data penelitian. Diteliti dahulu agar tidak terdapat data yang tidak diperlukan.

#### **IV.9.1.2 Editing**

Dilakukan editing untuk meneliti kelengkapan data, kesinambungan data dan keseragaman data sehingga validitas data terjamin

#### **IV.9.1.3 Coding**

Dilakukan untuk memudahkan dalam pengolahan data termasuk pemberian skor.

#### **IV.9.1.4 Entry**

Memasukkan data dalam komputer untuk proses analisis data.

#### **IV.9.2 Analisis data**

Data yang diperoleh dan telah dilakukan Editing, Coding, Entry dalam file komputer akan selanjutnya diolah dengan program komputer yaitu *SPSS 16.00 for windows*. Penilaian sebaran data dilakukan secara deskriptif sehingga didapatkan nilai mean, median, varian, standar deviasi, minimum, maksimum dan range serta disajikan dalam bentuk diagram box-plot. Karena jumlah sampel kurang dari 50 buah, maka dilakukan uji normalitas data dengan uji *Saphiro-wilk* dengan nilai normal  $p > 0,05$ . Jika sebaran normal, dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One way Anova* dengan nilai signifikansi  $p < 0,05$  yang dilanjutkan uji *Post hoc*. Apabila data dengan sebaran abnormal, digunakan uji *Kruskall-Wallis* sebagai uji analisis non-parametrik, lalu dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*..

#### **IV.10 Etika penelitian**

Pelaksanaan penelitian akan dilakukan dengan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP dr Kariadi Semarang.

#### IV.11 Jadwal penelitian

Tabel 4. Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4				Bulan 5			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Studi Literatur	■	■	■	■	■	■	■	■												
Penyusunan proposal	■	■	■	■	■	■	■	■												
Seminar Proposal								■												
Persiapan peminjaman laboratorium							■	■	■	■										
Persiapan alat dan bahan									■	■										
Penelitian											■	■	■	■	■	■				
Analisis data dan Evaluasi																	■	■	■	■
Penulisan Laporan																	■	■	■	■
Seminar Hasil																				■