

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

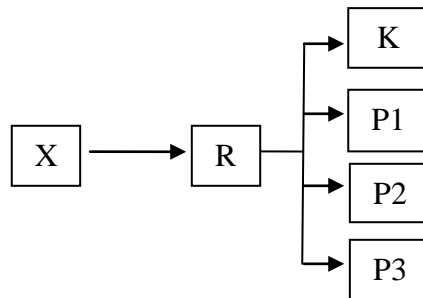
Pada penelitian ini, ruang lingkup keilmuan yang digunakan adalah Ilmu Histologi, Patologi Anatomi, dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

- 1) Tempat pemeliharaan dan intervensi terhadap hewan coba dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- 2) Pembuatan preparat hepar hewan coba dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- 3) Penelitian dan pengumpulan data berlangsung selama 14 hari.

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *The Post Test Only Control Group Design*, yang menggunakan hewan coba sebagai obyek penelitian. Perlakuan berupa pemberian madu pada mencit strain *Balb/c* jantan yang diberi paparan asap rokok dengan parameter pengukuran variabel yaitu gambaran mikroskopis hepar.



Keterangan :

X \longrightarrow R : Masa adaptasi selama 7 hari

R : Randomisasi

K : Kontrol, yaitu mencit strain *Balb/c* jantan yang diberi pakan standard, dan diberi paparan asap rokok kretek tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00 kemudian setelah 30 menit pemaparan asap rokok akan dilakukan pemberian aquadest dosis 0,2 ml tanpa pemberian madu hingga 14 hari.

P1 : Perlakuan 1, yaitu mencit strain *Balb/c* jantan yang diberi pakan standard, dan diberi paparan asap rokok kretek tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00 kemudian setelah 30 menit pemaparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,2 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan dilakukan selama 14 hari.

P2 : Perlakuan 2, yaitu mencit strain *Balb/c* yang diberi pakan standard, dan diberi paparan asap rokok kretek tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00 kemudian setelah 30 menit pemaparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu

dengan dosis 0,4 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan dilakukan selama 14 hari.

P3 : Perlakuan 3, yaitu mencit strain *Balb/c* yang diberi pakan standard, dan diberi paparan asap rokok kretek tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00 kemudian setelah 30 menit pemaparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,6 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan dilakukan selama 14 hari.

4.4 Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dari penelitian ini adalah mencit strain *Balb/c* jantan yang diberi paparan asap rokok.

4.4.2 Sampel Penelitian

4.4.2.1 Kriteria Inklusi

Sampel yang memenuhi kriteria penelitian meliputi :

- 1) Mencit strain *Balb/c*
- 2) Umur 8 – 10 minggu
- 3) Berat badan 20 – 25 gram
- 4) Jenis kelamin jantan
- 5) Sehat dan aktif selama pemberian paparan asap rokok
- 6) Tidak ada kecacatan anatomis

4.4.2.2 Kriteria Eksklusi

Sampel yang dikeluarkan dari penelitian ini meliputi :

- 1) Terdapat kecacatan anatomis selama penelitian
- 2) Mencit strain *Balb/c* jantan sakit selama masa adaptasi
- 3) Mencit strain *Balb/c* jantan mati selama masa intervensi

4.4.3 Cara Sampling

Sampling pada penelitian ini dilakukan secara randomisasi atau acak.

4.4.4 Besar Sampel

Penentuan besar sampel yang digunakan berdasarkan WHO dengan jumlah sampel minimal 5 ekor tiap kelompok. Pada penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit strain *Balb/c* jantan yang dibagi dalam 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dengan jumlah sampel 6 ekor tiap kelompok.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah madu.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah gambaran mikroskopis hepar mencit strain *Balb/c* jantan.

4.6 Definisi Operasional

- 1) Variabel bebas : madu

Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu murni yang terstandar sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI), yaitu madu dengan merk dagang *Natural Honey*. Pemberian madu untuk

pencegahan penyakit pada manusia adalah 1-2 kali/hari 1 sendok makan. Dosis yang diberikan untuk mencit disesuaikan dengan tabel konversi Ngatidjan lalu dihitung berdasarkan dosis madu yang diberikan untuk manusia dewasa. Pemberian madu melalui sonde yang diberikan 30 menit setelah diberi paparan asap rokok dengan dosis pada kelompok 1 sejumlah 0,2 mL madu yang telah diencerkan, kelompok 2 sejumlah 0,4 mL larutan madu yang telah diencerkan dan kelompok 3 sejumlah 0,6 mL larutan madu yang telah diencerkan selama 14 hari.

Skala adalah rasio.

2) Variabel Terikat : Mikroskopis Kerusakan Sel Hepar

Pembagian derajat kerusakan sel hepar menurut model scoring histopathology *Manja Roenick* adalah sebagai berikut:

- | | | | |
|---|----------|----------------------------|---|
| 1 | (normal) | : Normal | Sel berbentuk bulat, mempunyai sitoplasma utuh dan berwarna ungu, membrane sel tidak rusak, dan inti sel bulat dan tidak padat. |
| 2 | (ringan) | : Degenerasi Parenkimatosa | Sitoplasma dalam sel hepar membentuk celah celah kecil. |
| 3 | (sedang) | : Degenerasi Hidropik | Sitoplasma dalam sel hepar membentuk celah celah yang lebih besar. |

4 (berat) : Nekrosis

Membran sel rusak dan berbentuk tidak beraturan, sitoplasma kosong dan tidak berwarna, inti memadat berwarna ungu tua dan pekat.

Preparat diamati dibawah mikroskop pada lima lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x. Di setiap lapangan pandang dihitung 20 sel secara acak dan dinilai skor tiap sel menggunakan model scoring *Manja Roenick*. Kemudian dihitung rerata bobot skor tingkat kerusakan sel hepar dari lima lapangan pandang.

Skala adalah ordinal.

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Alat

- 1) Kandang hewan percobaan
- 2) Timbangan duduk dan timbangan neraca
- 3) Sonde lambung
- 4) Alat bedah hewan percobaan (scalpel, pinset, gunting, jarum, dan meja lilin)
- 5) Alat untuk pembuatan preparat histologi
- 6) Mikroskop cahaya medan terang
- 7) Gelas ukur dan pengaduk
- 8) Pemanas dan alat pemotong

4.7.2 Bahan

- 1) Makanan dan minuman standard hewan percobaan
- 2) Mencit strain *Balb/c* jantan
- 3) Bahan pengecatan preparat histology dengan pengecatan HE
- 4) Madu
- 5) Rokok kretek tanpa filter
- 6) Albumin
- 7) Parafin
- 8) Larutan xylol
- 9) Aquadest
- 10) Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96%

4.7.3 Cara Kerja

4.7.3.1 Prosedur Pengumpulan Data

Cara pengumpulan data meliputi langkah-langkah sebagai berikut :

- 1) Sampel diadaptasi selama 1 minggu di laboratorium dan diberi pakan standard.
- 2) Dilakukan pengelompokan dengan acak sederhana, 24 ekor mencit strain *Balb/c* jantan dibagi dalam 4 kelompok.
- 3) Pemaparan asap rokok berasal dari rokok kretek tanpa filter, yaitu rokok dengan nama dagang *Dji Sam Soe*

yang mengandung kadar tar sebesar 39 mg dan kadar nikotin sebesar 2,3 mg.

- 4) Kelompok kontrol diberi pakan standard, dan diberi paparan asap rokok kretek tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00, kemudian setelah 30 menit diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian aquadest dengan dosis 0,2 ml tanpa pemberian madu hingga hari ke 14. Pada hari ke 15, organ hepar mencit strain *Balb/c* jantan diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.
- 5) Kelompok Perlakuan 1 yang diberi pakan standard, paparan asap rokok tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00, kemudian setelah 30 menit diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,2 ml melalui sonde. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, organ hepar mencit strain *Balb/c* jantan diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.
- 6) Kelompok P2 diberi pakan standard, paparan asap rokok tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00, kemudian setelah 30 menit diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,4 ml melalui sonde. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, organ hepar

mencit strain *Balb/c* jantan diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.

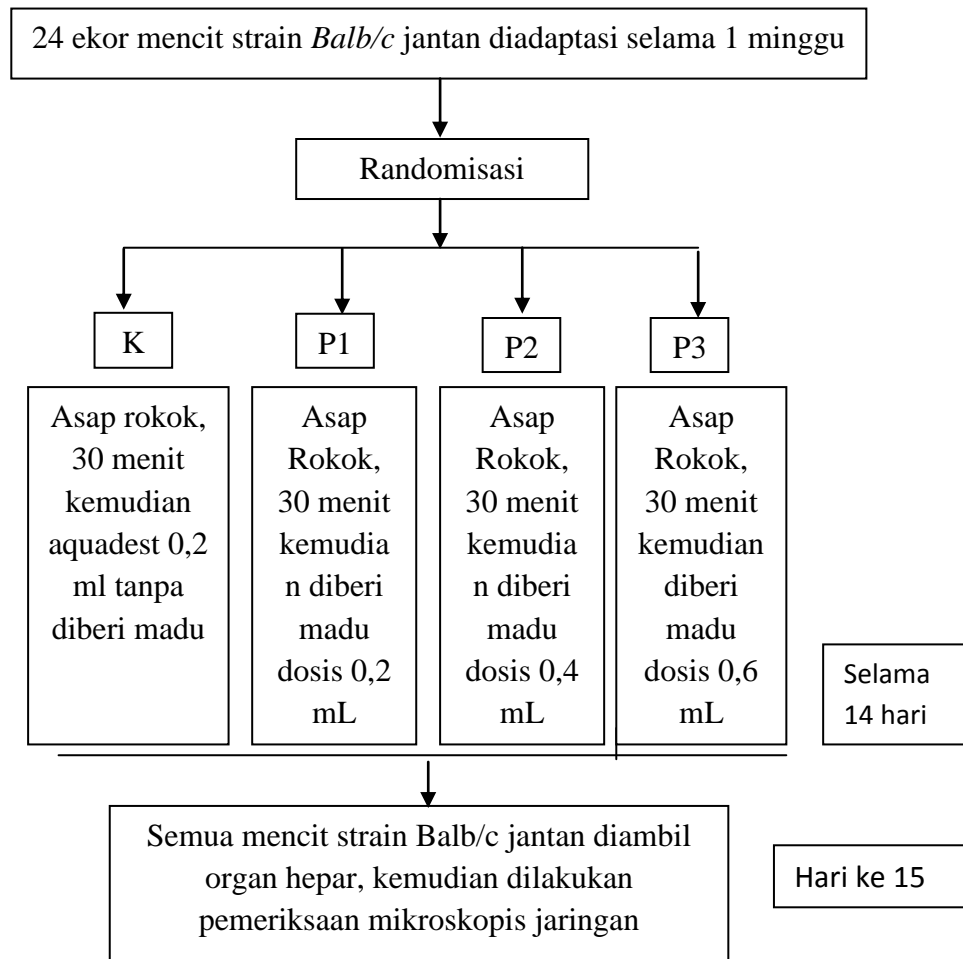
- 7) Kelompok P3 diberi pakan standard, paparan asap rokok tanpa filter dengan dosis 1 batang dalam sehari pada jam 12.00, kemudian setelah 30 menit diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,6 ml melalui sonde. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, organ hepar mencit strain *Balb/c* jantan diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.

4.7.3.2 Cara Pemaparan Asap Rokok

Hewan coba ditempatkan dalam kandang hewan sesuai dengan kelompoknya. Asap rokok berasal dari rokok kretek tanpa filter. Saat akan diberi paparan asap rokok, hewan coba dipindahkan dalam kandang khusus berupa kotak yang didalamnya terdapat jeruji pembatas untuk memisahkan hewan coba dengan ujung rokok yang terbakar sehingga hewan coba dapat segera langsung terkena paparan asap rokok tersebut. Kotak perlakuan memiliki dua lubang, dimana fungsi lubang pertama; sebagai jalan arus pengeluaran asap yang dipaparkan sedangkan fungsi lubang kedua; untuk memasukkan ujung rokok yang dibakar. Adapun asap rokok dihembuskan berulang kali ke dalam kandang dengan menggunakan spuit hingga setengah

batang dari rokok tersebut habis terbakar. Asap rokok dipaparkan dengan dosis 1 batang dalam sehari hingga hari ke 14.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

4.9 Pengolahan dan Analisa Data

Data yang diperoleh kemudian akan diolah dengan program komputer SPSS for window. Data gambaran mikroskopis hepar mencit strain *Balb/c* jantan dengan skala ordinal dilakukan uji beda *Saphiro Wilk* untuk melihat distribusi normalitas dan homogenitas tiap sel. Jika data berdistribusi normal

dan homogen dilanjutkan dengan Uji *One Way ANNOVA*. Jika data berdistribusi tidak normal dan tidak homogeny dilanjutkan uji *Kruskal Wallis*.

4.10 Etika Penelitian

Pada penelitian ini *ethical clearance* telah dimintakan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran UNDIP / RS. Dr. Kariadi Semarang.

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 4. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan								
	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Juli	Ags
Penyusunan Proposal	√	√							
Pengujian Proposal			√						
Pelaksanaan Penelitian				√					
Pengolahan Data					√				
Pengujian Hasil Akhir							√		

