

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

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

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

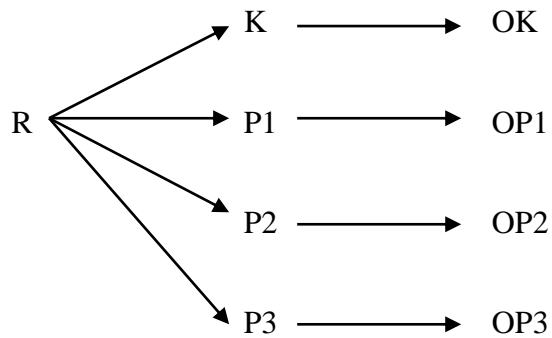
Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

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

4.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dengan menggunakan desain *Post Test Only Control Group Design*. Objek yang digunakan dalam penelitian adalah mencit BALB/c jenis kelamin betina. Penelitian dilakukan dengan menganalisis hasil pengamatan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Mencit diadaptasi selama 7 hari, kemudian dibagi dalam 4 kelompok, yaitu 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Terdapat tiga perlakuan yaitu dengan pemberian Kombinasi herbal A, B, C dengan dosis yang sama. Sedangkan kelompok kontrol diberi aquades sebagai pembanding. Prosedur

pemeriksaan kapasitas produksi IFN- γ dan IL-4 dilakukan dengan metode ELISA (*Enzym Linked Immunosorbent Assay*).



Gambar 6. Rancangan Penelitian

Keterangan :

R : Randomisasi

K : Kontrol

Kelompok mencit yang diberi aquades

P1 : Perlakuan 1

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal A dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 1 minggu

P2 : Perlakuan 2

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal B dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 1 minggu

P3 : Perlakuan 3

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal C dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 1 minggu

OK : Pengamatan pada kelompok Kontrol

OP1 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 1

OP2 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 2

OP3 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 3

4.4 Populasi dan Sampel

4.4.1 Populasi Target

Populasi target penelitian ini adalah mencit BALB/c.

4.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit BALB/c yang didapatkan dari LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.4.3 Sampel

4.4.3.1 Kriteria Inklusi

Kriteria Inklusi dari penelitian ini adalah :

- a. Mencit BALB/c betina
- b. Usia 6-8 minggu

- c. Berat badan 20-40 gram
- d. Kondisi sehat (aktif dan tidak cacat)

4.4.3.2 Kriteria Drop out

Kriteria drop out dari penelitian ini adalah mencit mati sebelum dilakukan observasi.

4.4.4 Cara Sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara randomisasi sederhana (*simple random sampling*), dimana semua objek atau elemen populasi memiliki kesempatan yang sama sebagai sampel. Pengelompokan dilakukan secara acak setelah tujuh hari diadaptasikan di kandang mencit LPPT Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

4.4.5 Besar Sampel

Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan WHO yaitu jumlah sampel minimal lima ekor tiap kelompok. Penelitian ini terdiri dari empat kelompok yaitu tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Besar sampel yang digunakan adalah enam ekor mencit tiap kelompok dengan cadangan 2 ekor, sehingga jumlah sampel seluruhnya adalah 32 ekor.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

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

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kapasitas produksi IFN- γ dan IL-4 yang berasal dari limpa mencit BALB/c.

4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 4. Definisi Operasional Variabel

No.	Variabel	Unit	Skala
1.	Kombinasi Herbal A Kombinasi Herbal A merupakan kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan per oral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Rasio
2.	Kombinasi Herbal B Kombinasi Herbal B merupakan kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan per oral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Rasio

No.	Variabel	Unit	Skala
3.	Kombinasi Herbal C Kombinasi Herbal C yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan per oral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Rasio
4.	Kapasitas produksi IFN- γ Kapasitas produksi IFN- γ diukur dari produksi IFN γ pada limpa mencit.	pg/ml	Rasio
5.	Kapasitas produksi IL-4 Kapasitas produksi IL-4 diukur dari produksi IL-4 pada limpa mencit.	pg/ml	Rasio

4.7 Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Alat dan Bahan pada Persiapan dan Perlakuan

4.7.1.1 Alat

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

5. Pipet ukur
6. Batang pengaduk
7. Spatula
8. Inkubator

4.7.1.2 Bahan

1. Kombinasi herbal A
2. Kombinasi herbal B
3. Kombinasi herbal C
4. Aquades
5. Mencit strain BALB/c yang diperoleh dari LPPT Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta
6. Pakan dan minum standar

4.7.2 Alat dan Bahan pada Proses Isolasi Splenosit

Terlampir

4.7.3 Alat dan Bahan pada Pengukuran Produksi IFN- γ

Terlampir

4.7.4 Alat dan Bahan pada Pengukuran Produksi IL-4

Terlampir

4.7.5 Jenis Data

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer.

4.7.6 Cara Kerja

4.7.6.1 Prosedur Persiapan Sampel Penelitian

1. Mempersiapkan alat dan bahan
2. Adaptasi pada hewan coba :

32 ekor mencit BALB/c diadaptasikan selama 7 hari di laboratorium. Mencit dikandangkan pada suhu lingkungan normal dan diberi pakan standar serta diberi minum secara *ad libitum*.

3. Pengelompokan sampel :

Sehari setelah masa adaptasi selesai, dilakukan pengelompokan secara acak. 32 ekor mencit BALB/c dikelompokkan ke dalam empat kelompok yaitu Kontrol, P1, P2, dan P3. Masing-masing kelompok terdiri dari 8 ekor mencit.

4. Perlakuan tiap kelompok

- a. Kelompok Kontrol

Mencit diberikan aquades dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.

- b. Kelompok P1

Mencit diberikan kombinasi herbal A dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.

c. Kelompok P2

Mencit diberikan kombinasi herbal B dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari

d. Kelompok P3

Mencit diberikan kombinasi herbal C dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.

Semua mencit diberikan pakan dan minum standar *ad libitum*.

Pada hari ke-8 mencit diterminasi dan dilakukan isolasi splenosit.

4.7.6.2 Prosedur Isolasi Splenosit

Terlampir

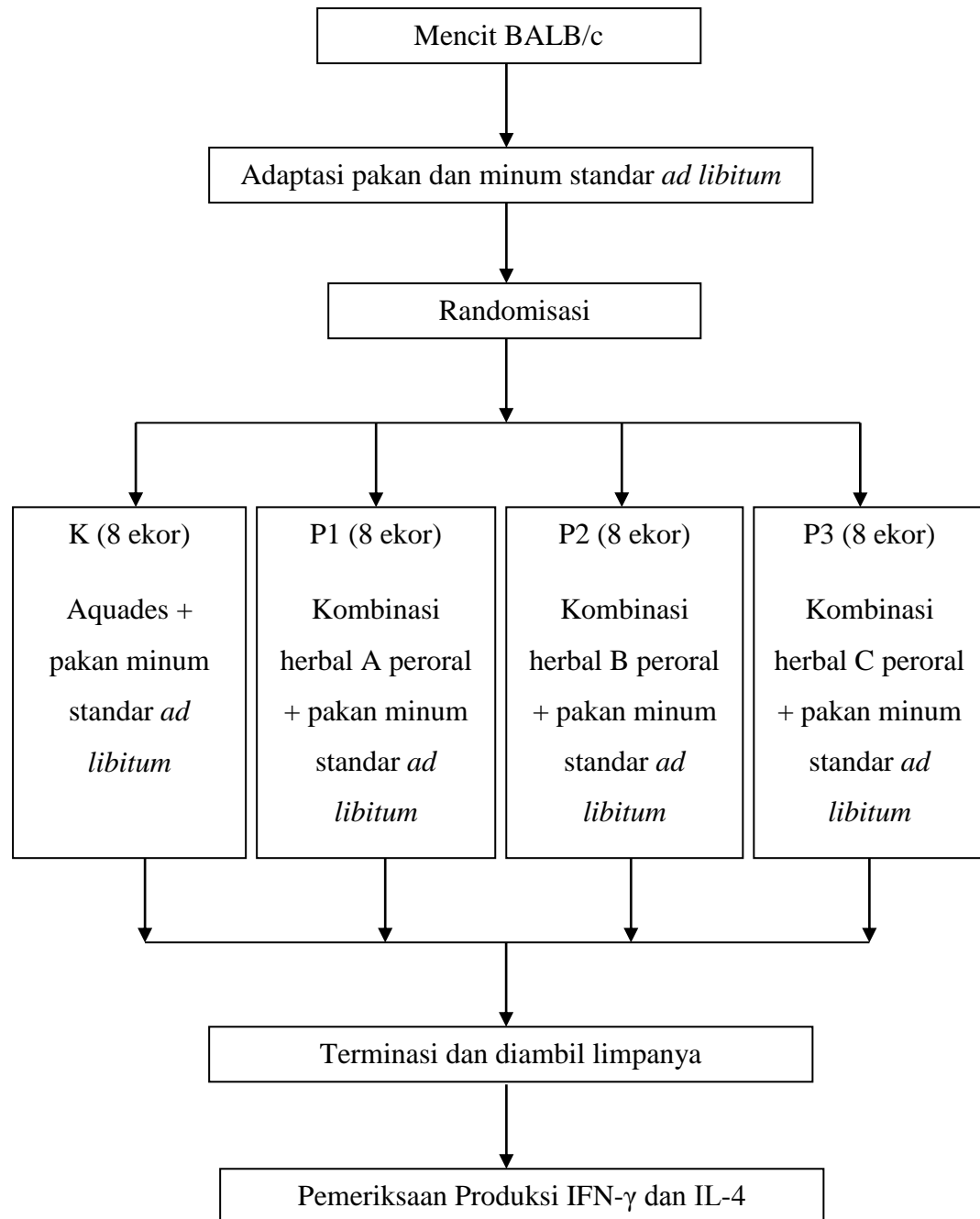
4.7.6.3 Prosedur Pemeriksaan IFN- γ

Terlampir

4.7.6.4 Prosedur Pemeriksaan IL-4

Terlampir

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Alur Penelitian

4.9 Pengolahan dan Analisis Data

4.9.1 Pengolahan Data

4.9.1.1 Cleaning

Dilakukan pembersihan data penelitian agar tidak terdapat data yang tidak diperlukan.

4.9.1.2 Editing

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

4.9.1.3 Coding

Dilakukan untuk memudahkan dalam pengolahan data termasuk pemberian skor.

4.9.1.4 Entry

Memasukkan data dalam komputer untuk proses analisis data.

4.9.2 Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan program komputer. Analisis deskriptif menampilkan nilai mean, median, modus, simpangan baku. Hasil ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik *box-plot*. Dilakukan uji normalitas data dengan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50. Data dengan sebaran abnormal menggunakan uji *Kruskall-Wallis*, lalu dilanjutkan dengan uji *Mann-*

Whitney. Data dengan sebaran normal dilakukan uji *one way anova*. Jika nilai $p < 0,05$ berarti terdapat perbedaan, jika nilai $p > 0,05$ berarti tidak terdapat perbedaan bermakna. Data dilanjutkan dengan uji *post hoc* yaitu uji t tidak berpasangan jika uji *one way anova* terdapat perbedaan bermakna.

4.10 Etika Penelitian

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

4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 5. 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																						■