

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang Lingkup Penelitian**

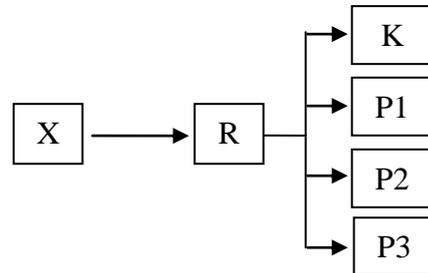
Pada penelitian ini, ruang lingkup keilmuan yang telah digunakan adalah Ilmu Histologi, Patologi Anatomi, dan Farmakologi.

#### **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 mikroskopis paru hewan coba dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi
- 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 paru.



Keterangan :

X → R : Masa adaptasi selama 7 hari

R : Randomisasi

K : Kontrol, yaitu mencit strain *Balb/c* jantan yang telah 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, dilakukan pemberian aquadest dosis 0,2 ml tanpa pemberian madu selama 14 hari.

P1 : Perlakuan 1, yaitu mencit strain *Balb/c* jantan yang telah 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 dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,2 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan telah dilakukan selama 14 hari.

P2 : Perlakuan 2, 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 diberi paparan asap rokok dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,4 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan telah dilakukan selama 14 hari.

P3 : Perlakuan 3, 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 diberi paparan asap rokok dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,6 ml melalui sonde. Perlakuan terhadap mencit strain *Balb/c* jantan telah 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 telah diberi paparan asap rokok.

##### **4.4.2 Sampel Penelitian**

###### **4.4.2.1 Kriteria Inklusi**

Sampel yang memenuhi kriteria penelitian meliputi :

- 1) Mencit *Balb/c*
- 2) Jenis kelamin jantan
- 3) Umur 8 - 10 minggu

- 4) Berat badan 20 - 25 gram
- 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.

#### **4.4.4 Besar Sampel**

Penentuan besar sampel yang digunakan berdasarkan WHO<sup>60</sup> 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 1 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 paru mencit strain *Balb/c* jantan. Pengamatan gambaran mikroskopis paru, yaitu infiltrasi sel radang berupa adanya sel-sel limfosit di jaringan interalveolar dan peradaran berupa sel-sel eritrosit yang berada di luar pembuluh darah. Untuk menilai perhitungan sel limfosit dan eritrosit dari masing – masing preparat dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dalam 5 lapangan pandang yang dilihat pada keempat sudut dan bagian tengah preparat, dengan perbesaran 400x.

#### 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional

Jenis Variabel	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Skala
Variabel Bebas	Madu	Madu yang digunakan dalam penelitian ini adalah madu murni yang terstandar sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI) dengan nama dagang Fresh Honey Natural yang berasal dari bunga randu ( <i>Ceiba petandra</i> ). Pemberian madu melalui sonde yang diberikan 30 menit setelah diberi paparan asap rokok dengan dosis pada kelompok 1 sejumlah 0,2 ml, kelompok 2 sejumlah 0,4 ml dan kelompok 3 sejumlah 0,6 ml selama 14 hari.	Rasio

Tabel 4. Definisi Operasional (lanjutan)

Jenis Variabel	Variabel Penelitian	Definisi Operasional	Skala
Variabel Tergantung	Gambaran Mikroskopis Paru	Gambaran mikroskopis paru mencit strain <i>Balb/c</i> jantan di bawah mikroskop setelah dilakukan pengecatan dengan <i>Hematoxylin Eosin</i> . Pengamatan dilakukan terhadap sel limfosit untuk menentukan derajat infiltrasi sel radang dan sel eritrosit untuk menentukan derajat perdarahan di jaringan interalveolar dalam 5 lapangan pandang yang dilihat pada keempat sudut dan bagian tengah preparat dengan perbesaran 400x.	Ordinal

## 4.7 Cara Pengumpulan Data

### 4.7.1 Alat

- 1) Kandang mencit strain *Balb/c* jantan
- 1) Sonde lambung
- 2) Minor set sebagai alat untuk mengambil organ
- 3) Mikrotom, oven, dan cetakan parafin sebagai alat untuk membuat preparat histologi
- 4) Deck glass, object glass, dan mikroskop cahaya sebagai alat untuk melihat preparat histologi paru

### 4.7.2 Bahan

- 1) Mencit strain *Balb/c* jantan
- 2) Madu
- 3) Rokok kretek tanpa filter

- 4) Bahan – bahan untuk metode baku histologi pemeriksaan jaringan, yaitu :
  - a. Larutan buffer parafin formalin 10%
  - b. Parafin
  - c. Albumin
  - d. Hematoxyllin Eosin
  - e. Larutan Xylol
  - f. Alkohol bertingkat 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 96%
  - g. Aquadest
- 5) Makanan dan minuman standard untuk mencit strain *Balb/c* jantan.

### **4.7.3 Cara Kerja**

#### **4.7.3.1 Prosedur Pengumpulan Data**

- 1) Sampel telah diadaptasi selama 7 hari di laboratorium dan diberi pakan standard.
- 2) Dilakukan pengelompokkan secara randomisasi, 24 ekor mencit strain *Balb/c* jantan dibagi dalam 4 kelompok.
- 3) Kelompok kontrol 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 diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian aquadest dengan dosis 0,2 ml tanpa pemberian madu hingga hari ke 14. Pada

hari ke 15, mencit strain *Balb/c* jantan diterminasi dengan cara dekapitasi, kemudian organ paru diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.

- 4) Kelompok perlakuan 1 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 diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,2 ml melalui sonde. Perlakuan ini telah dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, mencit strain *Balb/c* jantan diterminasi dengan cara dekapitasi, kemudian organ paru diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.
- 5) Kelompok perlakuan 2 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 diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan dosis 0,4 ml melalui sonde. Perlakuan ini telah dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, mencit strain *Balb/c* jantan diterminasi dengan cara dekapitasi, kemudian organ paru diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.
- 6) Kelompok perlakuan 3 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 diberi paparan asap rokok akan dilakukan pemberian madu dengan

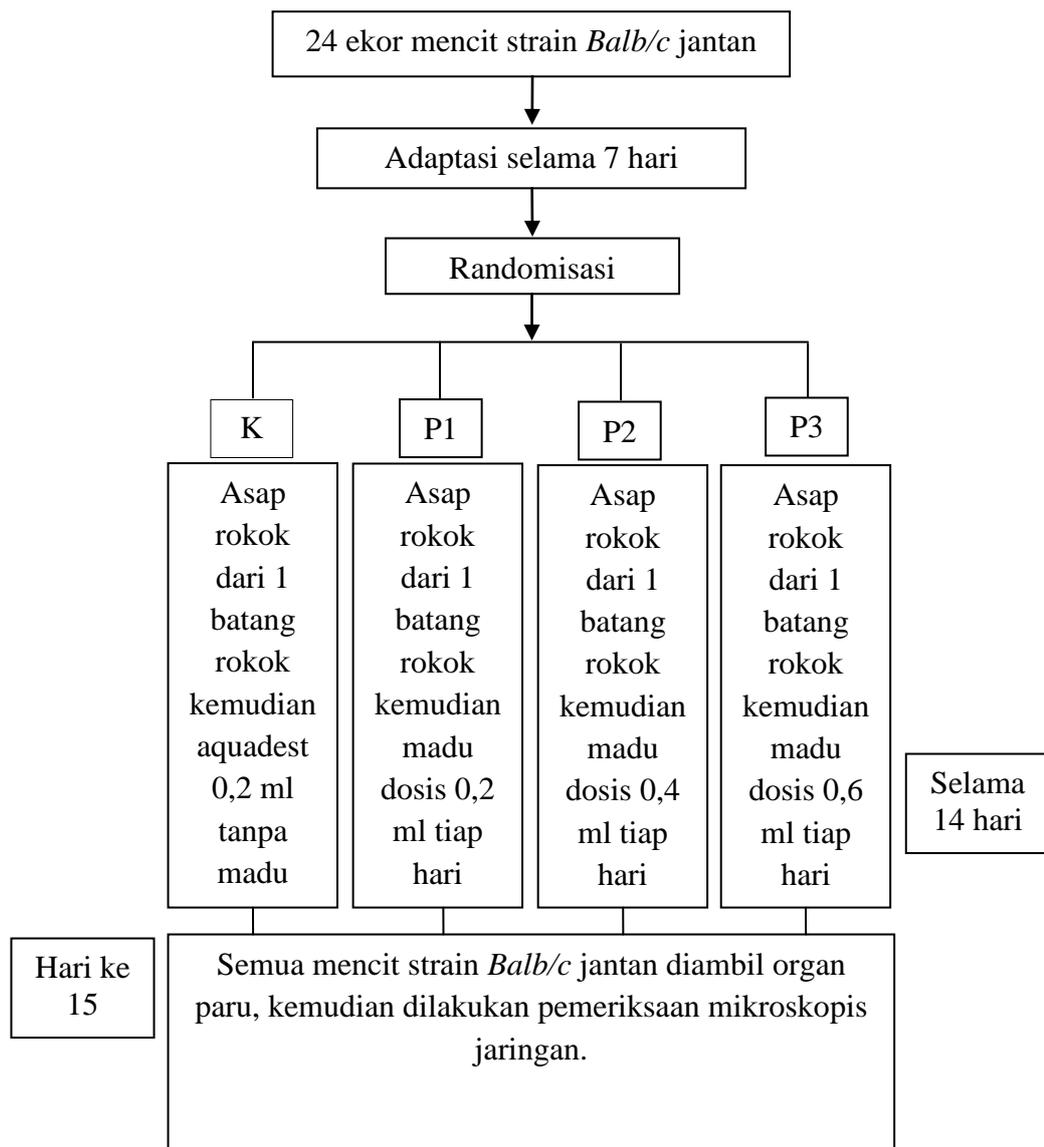
dosis 0,6 ml melalui sonde. Perlakuan ini telah dilakukan selama 14 hari. Pada hari ke 15, mencit strain *Balb/c* jantan diterminasi dengan cara dekapitasi, kemudian organ paru diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.

#### **4.7.3.2 Cara Pemaparan Asap Rokok**

- 1) Hewan coba ditempatkan dalam kandang hewan sesuai dengan kelompoknya.
- 2) Asap rokok berasal dari rokok kretek tanpa filter dengan nama dagang Dji Sam Soe yang mempunyai kandungan tar 39 mg dan nikotin 2,3 mg.
- 3) 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.
- 4) Hewan coba dapat secara langsung terkena paparan asap rokok.
- 5) Kandang pada hewan coba perlakuan memiliki dua lubang. Fungsi lubang pertama sebagai jalan arus pengeluaran asap rokok dan fungsi lubang kedua adalah untuk memasukkan ujung rokok yang dibakar.
- 6) Asap rokok dihembuskan berulang kali ke dalam kandang dengan menggunakan spuit hingga 1 batang dari rokok kretek tanpa filter tersebut habis terbakar.

- 7) Asap rokok dipaparkan dengan dosis 1 batang dalam sehari yang telah dilakukan selama 14 hari.

#### 4.8 Alur Penelitian



Gambar 6. Alur Penelitian

## **4.9 Pengolahan dan Analisa Data**

### **4.9.1 Cara Pengolahan Data**

Tahap – tahap pengolahan data, adalah sebagai berikut :

- 1) Tahap *editing*, yaitu dengan memperbaiki data yang tersedia.
- 2) Tahap *cleaning* data, untuk meneliti kembali kesalahan – kesalahan yang terjadi.
- 3) Tahap tabulasi data, yaitu dengan menyajikan data dalam tabel yang telah disediakan.

### **4.9.2 Analisa Data**

Data yang diperoleh dari 4 kelompok sampel diolah dengan program SPSS 17.0 for windows. Data gambaran mikroskopis paru mencit strain *Balb/c* jantan dengan skala ordinal dilakukan uji beda *Kruskall Wallis*. Jika didapatkan  $p \leq 0,05$  dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*.

## **4.10 Etika Penelitian**

Peneliti telah mengajukan usulan penelitian kepada Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro sebelum penelitian dilakukan untuk mendapat surat keterangan *ethical clearance*. Mencit strain *Balb/c* jantan dipelihara di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Hewan percobaan diberi makan dan minum *ad libitum*. Pemberian paparan asap rokok pada mencit strain *Balb/c* dilakukan pukul 12.00. Perlakuan dosis bertingkat madu, yaitu larutan madu dicampur

dengan aquadest hingga 10 ml kemudian disondekan. Mencit strain *Balb/c* jantan diterminasi dengan cara dekapitasi. Pembuatan preparat telah dilakukan sesuai dengan metode baku histopatologis pemeriksaan jaringan. Seluruh biaya ditanggung oleh peneliti.

#### 4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 5. Jadwal Penelitian

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