




BAB IV

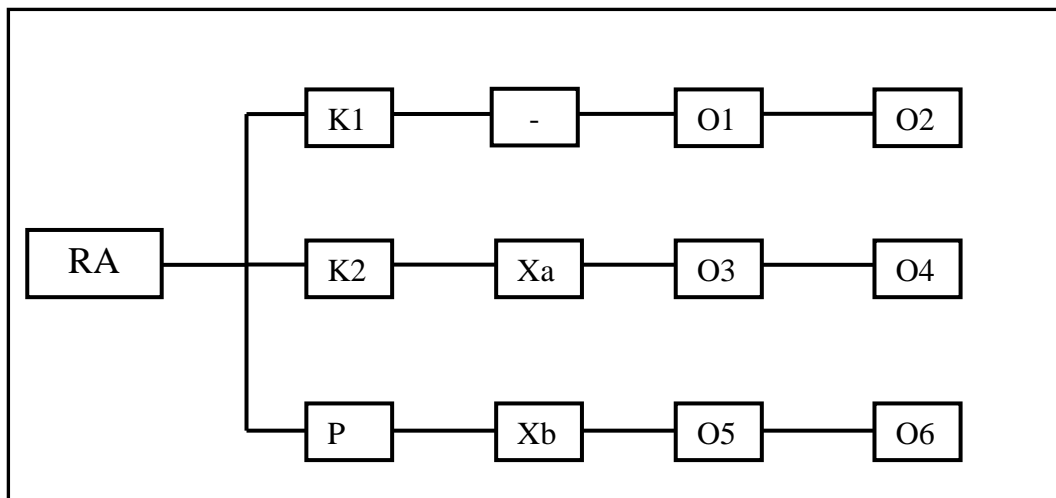
METODE PENELITIAN

4.1. Disain penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* laboratoris dengan hewan coba tikus Wistar menggunakan desain *post test only control group design*. Tikus Wistar dibagi dalam tiga kelompok secara acak menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol 1 (R1), kelompok kontrol 2 (R2), dan kelompok perlakuan (R3).

Tabel 2. Pembagian kelompok penelitian

R1		Kelompok kontrol 1, tikus Wistar yang di berikan <i>cyclophosphamide</i>
R2		Kelompok kontrol 2, tikus Wistar yang diberikan <i>cyclophosphamide</i> dan <i>filgrastim</i>
R3		Kelompok perlakuan, tikus Wistar yang diberikan <i>cyclophosphamide</i> dan <i>meloxicam</i>



Gambar 12. Skema disain penelitian

Keterangan :

RA : Random alokasi

K1 : Kelompok kontrol 1, tikus Wistar yang di berikan *cyclophosphamide*

K2 : Kelompok kontrol 2, tikus Wistar yang diberikan *cyclophosphamide* dan *filgrastim*

P : Kelompok perlakuan, tikus Wistar yang diberikan *cyclophosphamide* dan *meloxicam*

Xa : Pemberian *filgrastim* hari ke 1-7

Xb : Pemberian *meloxicam* hari ke 1-7

O1,3,5 : Pengukuran jumlah eritrosit, leukosit total, neutrofil, limfosit dan trombosit darah tepi pada hari ke-4

O2,4,6 : Pengukuran jumlah eritrosit, leukosit total, neutrofil, limfosit dan trombosit darah tepi pada hari ke-7

4.2. Populasi dan sampel penelitian

Populasi hewan coba adalah tikus Wistar yang diberikan *cyclophosphamide*, berusia 8 - 12 minggu dengan berat badan 200-300 gram setelah aklimatisasi, tidak ada abnormalitas anatomis dan tampak sehat. Tikus Wistar ini diperoleh dari Laboratorium Biologi F-MIPA Unnes.

4.2.1. Kriteria Inklusi:

- a. Tikus jantan
- b. Usia 8 – 12 minggu
- c.. Berat badan 200-300 gram setelah aklimatisasi.
- d. Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak
- e. Tampak sehat dan aktif bergerak di awal penelitian

4.2.2 Kriteria Eksklusi:

- a. Selama perlakuan tikus Wistar tampak sakit (tidak aktif bergersk)

4.2.3 Besar sampel

Menurut WHO tiap kelompok minimal 5 ekor, dengan cadangan 20%, sehingga jumlah sampel yang digunakan tiap kelompok yaitu 6 ekor tikus.

Delapan belas ekor tikus secara random sederhana dikelompokkan menjadi 3 kelompok masing-masing 6 ekor tikus.

4.3. Waktu dan lokasi penelitian

Penelitian dan pengumpulan data dilakukan selama 2 minggu. Pemeliharaan dan perlakuan pada tikus dilakukan di laboratorium Biologi F-MIPA Unnes. Pemeriksaan laboratorium darah dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jateng.

4.4. Variabel penelitian

4.4.1. Variabel bebas

Pemberian *meloxicam*

4.4.2. Variabel tergantung

Jumlah eritrosit, leukosit total, netrofil, limfosit dan trombosit pada darah tepi

4.5. Definisi operasional

1. *Meloxicam* diberikan dengan dosis 1,35mg / kgBB perhari, diberikan 1 kali sehari secara peroral pada hari ke 1 sampai dengan hari ke 7.¹⁶

Skala variabel : nominal

2. *Filgrastim* diberikan 31,5 µg / kgBB perhari, diberikan 1 kali sehari secara injeksi subkutan pada hari ke 1 sampai dengan hari ke 7.

3. Jumlah leukosit adalah jumlah leukosit darah tepi yang diperiksa dengan *hematology analyzer* dan dinyatakan dengan satuan jumlah sel / mm³.

Nilai normal pada tikus : $3-17 \times 10^3 / \text{mm}^3$.⁴⁰

Skala variabel : rasio

4. Jumlah neutrofil adalah jumlah neutrofil darah tepi yang diperiksa dengan *hematology analyzer*, dihitung dengan mengalikan persentase neutrofil pada hitung jenis dengan jumlah leukosit total, dan dinyatakan dengan satuan jumlah sel / mm³. Nilai normal pada tikus : $1-4,5 \times 10^3 / \text{mm}^3$.⁴⁰

Skala variabel : rasio

5. Jumlah limfosit adalah jumlah limfosit darah tepi yang diperiksa dengan *hematology analyzer*, dihitung dengan mengalikan persentase limfosit pada hitung jenis dengan jumlah leukosit total, dan dinyatakan dengan satuan jumlah sel / mm³. Nilai normal pada tikus : $2-14 \times 10^3 / \text{mm}^3$.⁴⁰

Skala variabel : rasio

6. Jumlah eritrosit adalah jumlah eritrosit darah tepi yang diperiksa dengan *hematology analyzer* dan dinyatakan dengan satuan jumlah sel / mm³. Nilai normal pada tikus : $5-10 \times 10^6 / \text{mm}^3$.⁴⁰

Skala variabel : rasio

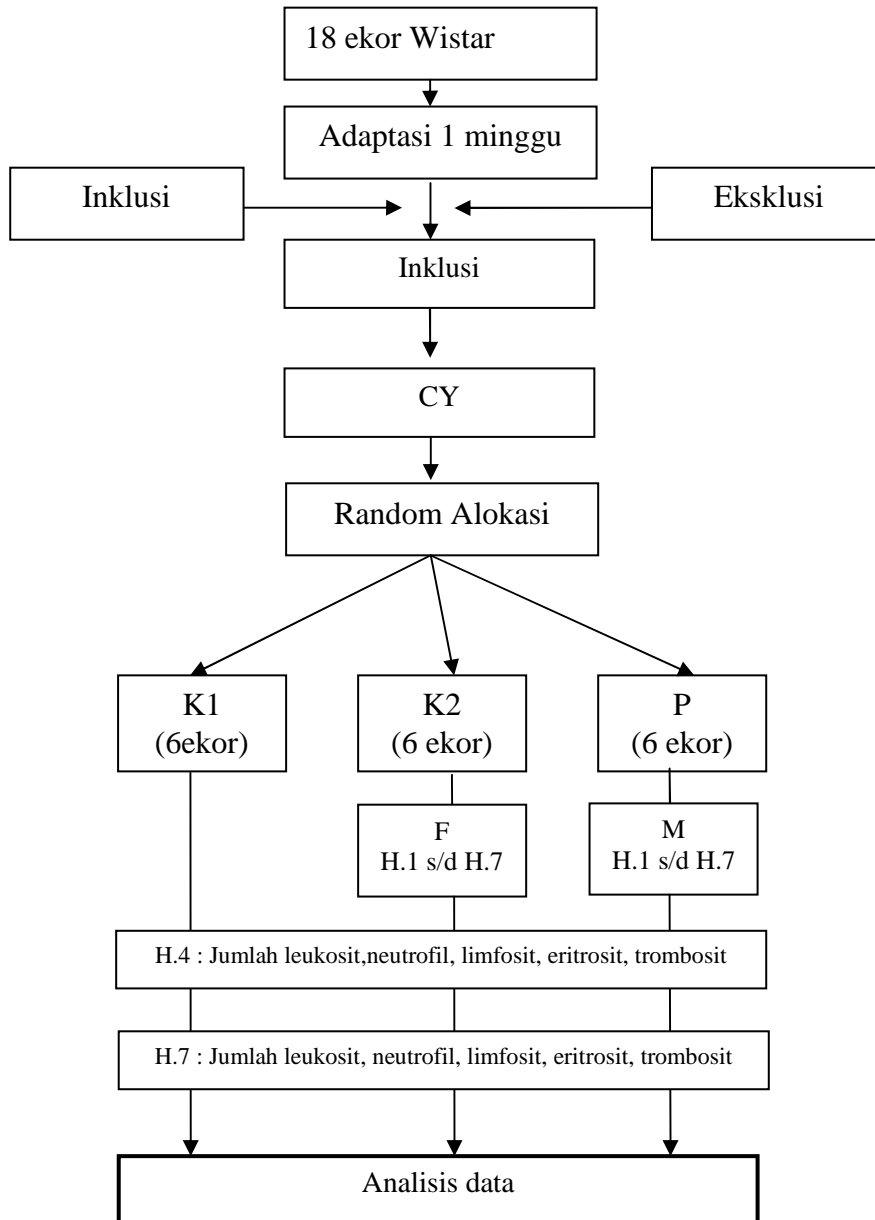
7. Jumlah trombosit adalah jumlah trombosit darah tepi yang diperiksa dengan *hematology analyzer* dan dinyatakan dengan satuan jumlah sel / mm³. Nilai normal pada tikus : $200-1500 \times 10^3 / \text{mm}^3$.⁴⁰

Skala variabel : rasio

4.6. Bahan dan alat penelitian

1. Tikus Wistar jantan yang berumur 8 – 12 minggu dengan berat badan 200 – 300 gram
2. *Cyclophosphamide* digunakan merek dagang Cyclovid dari Novell dalam bentuk sediaan injeksi 500 mg/vial.
3. *Meloxicam* digunakan obat generik dari DexaMedica dalam bentuk tablet 15 mg.
4. *Filgrastim* digunakan merek dagang Leucogen dari Kalbe dalam bentuk sediaan injeksi 300µg / vial.
5. Bahan dan alat untuk melakukan pengambilan darah tepi dan injeksi obat
 - Alkohol 70 %
 - Larutan D5%
 - Larutan NaCl 0,9%
 - *Sput* 1cc
 - Tabung darah + EDTA
6. *Hematology analyzer* Sysmex Poch-100i

4.7. Alur kerja



Gambar 13. Alur kerja

Keterangan :

CY : *cyclophosphamide*

F : *filgrastim*

M : *meloxicam*

4.8. Pelaksanaan penelitian

1. Delapan belas ekor Wistar diadaptasi di laboratorium dan dikandangkan secara individual, diberi pakan standar selama 1 minggu secara *ad libitum*.
2. Wistar dilakukan injeksi *cyclophosphamide* 75mg / kg BB IV melalui vena ekor kemudian dibagi menjadi 3 kelompok dengan cara randomisasi sederhana dengan menandai tikus dengan cat dan dilakukan undian.
3. Pada kelompok kontrol positif (K2), diberikan *filgrastim* 31,5 µg / kgBB subkutan pada hari ke-2 sampai dengan hari ke-7. *Filgrastim* diencerkan dengan larutan D5% sampai volume 0,5cc.
4. Pada kelompok perlakuan, diberikan *meloxicam* 1,35mg / kgBB peroral melalui sonde mulai hari ke-2 sampai hari ke-7. *Meloxicam* dibuat larutan dengan pelarut PEG400 hingga konsentrasi 1 mg/mL.
5. Sampel darah diambil dari vena ekor pada hari ke-4 dan ke-7 untuk diperiksa jumlah eritrosit, leukosit, neutrofil, limfosit dan trombositnya.
6. Tikus dieliminasi dengan cara dekapitasi leher, dengan cara meletakkan tikus diatas permukaan rata, pinset diletakkan diatas kuduk tikus sambil ditekan, ekor ditarik kuat dan pinset diarahkan keatas kepala tikus.

4.9. Analisis data

Data hasil penelitian diolah dan disajikan dalam bentuk tabel dan *boxplot*, kemudian untuk mengetahui normalitas data dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test*, kemudian dilakukan analisis statistik deskriptif

pada masing-masing variabel berupa $\text{mean} \pm \text{SD}$ dan median, dan ditampilkan dalam bentuk tabel menurut kelompok perlakuan.

Distribusi data normal dan homogen, sehingga dilakukan analisis secara parametrik dengan uji ANOVA dilanjutkan dengan uji *post-hoc*. Batas derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ dengan 95% interval kepercayaan. Analisa data dilakukan dengan program komputer.

4.10. Persyaratan etik

Implikasi etik pada hewan, pengelolaan binatang coba pada penelitian ini mengikuti *animal ethics*. Hal yang dilaksanakan sesuai dengan etik antara lain perawatan dalam kandang, pemberian makan minum (*ad libitum*), aliran udara dalam ruang kandang, perlakuan saat penelitian, menghilangkan rasa sakit, pengambilan unit analisis penelitian, dan pemusnahannya. Penelitian ini dimintakan persetujuan Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro / RS Dr. Kariadi Semarang dan mendapatkan *Ethical Clearance*.