

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Ruang Lingkup Penelitian

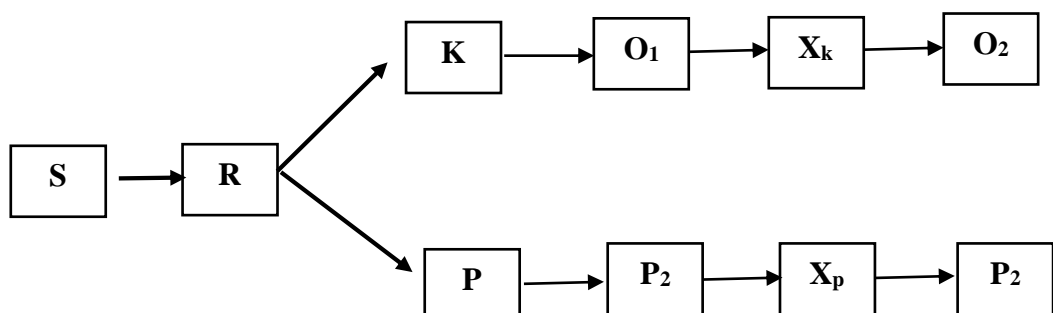
Ruang lingkup penelitian adalah anesthesiologi dan terapi intensif.

1.2 Tempat dan Waktu

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Biologi UNNES Semarang dimulai bulan Februari sampai April 2016.

1.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized control grup pre post test* dengan tujuan mengetahui pengaruh pemberian melatonin tablet via sonde terhadap jumlah leukosit pada model sepsis tikus wistar jantan. Sampel dibagi menjadi 2 yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P2).



Gambar 7. Rancangan Penelitian

Keterangan :

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok kontrol

P : Perlakuan

O₁ : Kelompok kontrol yang diberi injeksi LPS dan placebo (aquadest)

X_k : Kelompok kontrol yang tidak mendapat melatonin

O₂ : Jumlah leukosit kelompok kontrol

O₃ : Kelompok kontrol yang diberi injeksi LPS

X_p : Kelompok kontrol yang mendapat melatonin

O₄ : Jumlah leukosit kelompok perlakuan.

1.4 Sampel

Sampel penelitian ini adalah kelompok tikus wistar jantan yang diambil dengan random alokasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

3.4.1 Kriteria Inklusi

- a. Tikus wistar jantan
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-300 gram
- d. Tidak tampak kelainan anatomis
- e. Tampak aktif selama masa adaptasi

3.4.2 Kriteria Eksklusi

- a. Mencit tampak sakit sebelum perlakuan (gerakan tidak aktif).
- b. Tampak terdapat kelainan anatomi.

3.4.3 Cara Sampling

Pemilihan subjek penelitian secara acak berdasarkan tabel angka *random*.⁴⁷

3.4.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan ketentuan WHO yaitu minimal 5 ekor dan cadangan 2 ekor tikus tiap kelompok.⁴⁸ Pada penelitian ini jumlah mencit wistar jantan untuk setiap perlakuan sebanyak 6 ekor, sehingga jumlah mencit jantan yang dibutuhkan adalah 12 ekor.

3.5 Kriteria Drop Out

Apabila tikus mati saat penelitian. Apabila ada kemungkinan terjadi *drop out* yang besarnya diperkirakan sebesar 10% (DO=0,1), maka besar sampel dengan koreksi *drop out* adalah :

$$n_{do} = \frac{n}{1 - do} = \frac{5}{1 - 0,1} = 5,56 = 6$$

3.6 Cara Randomisasi

Alokasi ke dalam kelompok dengan cara randomisasi sederhana berdasarkan tabel angka *random*.⁴⁷

3.7 Variabel Penelitian

3.7.1 Variabel Bebas

Pemberian suplementasi melatonin .

3.7.2 Variabel Terikat

Jumlah leukosit tikus wistar.

3.8 Definisi Operasional

Tabel 2. Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Melatonin Administrasi secara parenteral (injeksi intraperitoneal) melatonin dosis 4 mg/tikus 200gr 6 jam pasca injeksi LPS pada kelompok perlakuan, sedangkan kelompok kontrol tidak diberi melatonin,tetapi diberi placebo.	mg	Nominal
2.	Jumlah Leukosit Pemeriksaan jumlah leukosit darah diambil dari preparat darah tepi pada pembuluh darah vena tikus wistar kemudian dibuat preparat darah tepi dengan pengecatan giemsa, setelah itu dihitung jumlah leukosit dari setiap preparat.	mg/dl	Ratio

3.9 Alat Bahan dan Cara Kerja

3.9.1 Alat

- a. Blade
- b. Kaliper
- c. Tabung
- d. *Spuut*

3.9.2 Bahan

- a. Tikus wistar jantan
- b. Melatonin tablet

Dosis : 4mg/tikus 200 gram

Pengenceran : aquadest 0,4 mg

Produksi : USA (Amerika Serikat)

Merk : Sea-Quill Women Multi Plus

c. LPS

Jenis Kuman : E.Colli O.55:B5

Pengenceran : PBS

Penyimpanan : 2-8° C

Dosis : 2 mg/tikus 200 gr

Merk : SIGMA-ALDRICH

Produksi : Israel

d. Plasebo

e. Betadine

3.9.3 Jenis Data

Data yang didapatkan adalah data primer yang berasal dari pembacaan hasil pemeriksaan laboratorium hematologi darah tikus wistar.

3.9.4 Cara Kerja

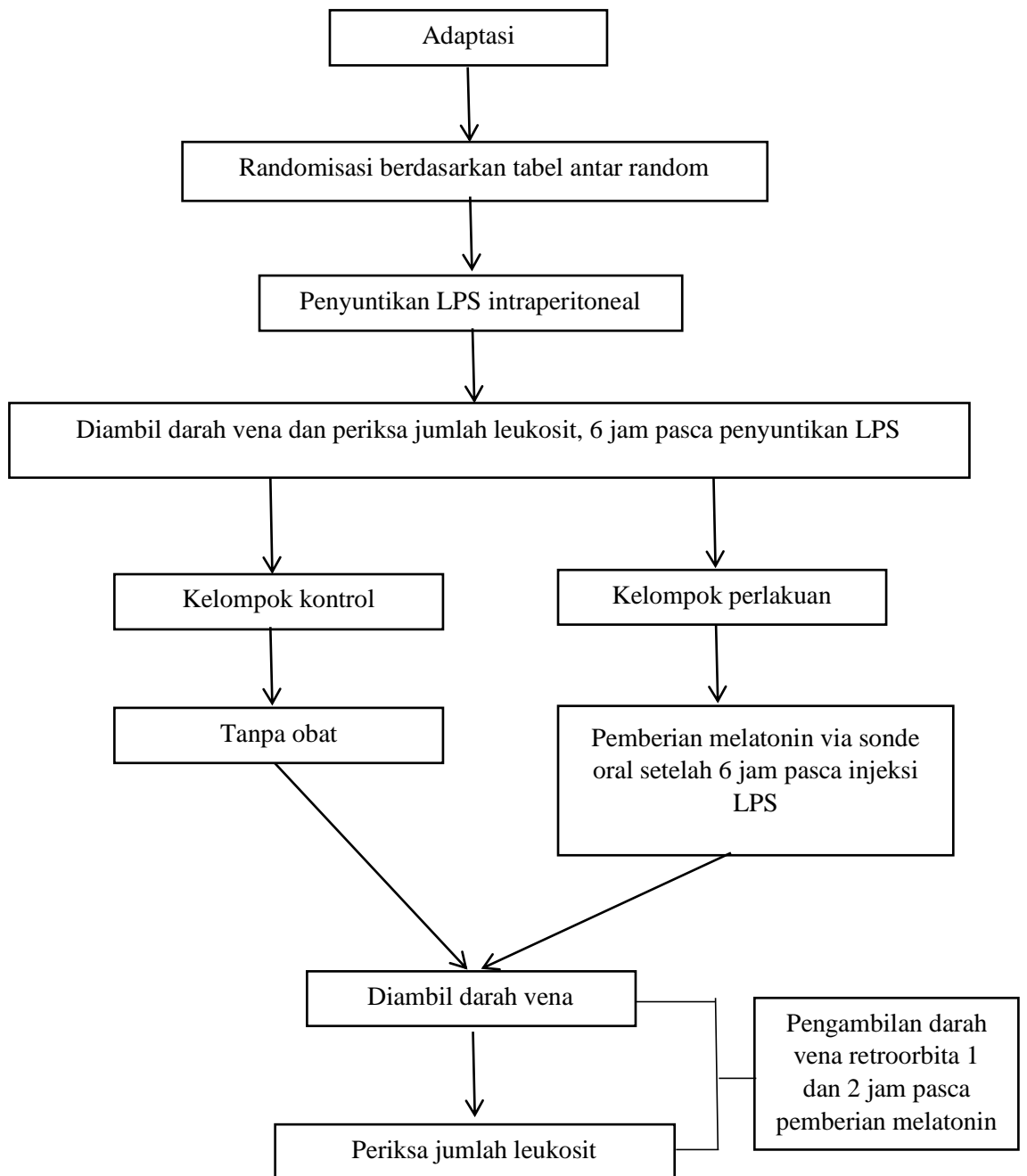
- a. Sebanyak 12 ekor tikus wistar jantan umur 2-3 bulan yang berasal dari Fakultas Biologi Universitas Negeri Semarang diadaptasikan selama 7 hari dengan dikandangkan dan diberi pakan pelet 594 dan minum air secara *ad libitum*.
- b. Semua tikus wistar jantan mendapat perlakuan sama dengan dibuat model sepsis. Tikus diberi injeksi LPS intraperitoneal 2 mg/tikus 200gr.

- c. Setelah 6 jam, kedua kelompok tikus wistar diambil darah vena untuk pengecekan jumlah leukosit saat kondisi sepsis.
- d. Tikus wistar kelompok P diberikan suplementasi melatonin via sonde oral dengan dosis 4mg/tikus 200gr.
- e. Kemudian diambil darah vena untuk diukur jumlah leukosit setelah 1 dan 2 jam pemberian suplementasi melatonin.
- f. Kualitas sampel penelitian dikontrol dengan perawatan hewan coba sebagai berikut :
 - 1) Tikus wistar jantan galur murni ditempatkan pada kandang khusus, dimana setiap kandang berisi 3-4 ekor tikus wistar jantan galur murni.
 - 2) Kandang hewan coba dibersihkan secara teratur dengan frekuensi dan kebersihan yang sama.
 - 3) Kandang hewan coba mendapat ventilasi dan pencahayaan yang memadai dengan kualitas yang sama untuk setiap kandang.
 - 4) Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Jenis pakan adalah pakan standar tikus wistar jantan galur murni berupa pelet 594.

Tabel 3. Konversi dosis manusia dan antar jenis hewan⁴⁹

	Mencit	Tikus	Marmot	Manusia
Mencit (20g)	1,0	7,0	12,25	387,9
Tikus (200 g)	1,14	1,0	1,74	56,0
Marmot (400g)	0,08	0,57	1,0	31,15
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0

3.10 Alur Penelitian



Gambar 8. Alur Penelitian

3.11 Analisis Data

Setelah terkumpulnya data, dilakukan data *cleaning*, *coding*, dan *tabulasi*. Data diolah menggunakan program komputer kemudian dianalisa dalam bentuk rerata, standar deviasi, dan grafik. Data yang telah diolah dengan program komputer dilihat distribusinya apakah normal atau tidak dengan uji *Saphiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, diuji beda dengan menggunakan statistik uji *parametric t-Test*. Bila distribusi datanya tidak normal, diuji beda dengan menggunakan statistik uji *non-parametric Mann Whitney Test*.⁵⁰

- a. Jika $p < 0,05$; maka ada perbedaan yang bermakna.
- b. Jika $p > 0,05$; maka tidak ada perbedaan yang bermakna.

3.12 Etika Penelitian

Protokol penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Kariadi Semarang.

3.13 Jadwal Penelitian

Tabel 4. Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan (tahun 2015-2016)						
	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei
Studi literatur	■	■					
Penyusunan proposal	■	■	■				
Seminar proposal			■				
Ethical clearance			■				
Persiapan alat bahan			■	■			
Screening dan Pengumpulan data			■	■	■		
Analisis data dan penyusunan hasil				■	■		
Seminar hasil					■	■	