

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah bidang THT-KL, Farmakologi, dan Patologi Anatomi.

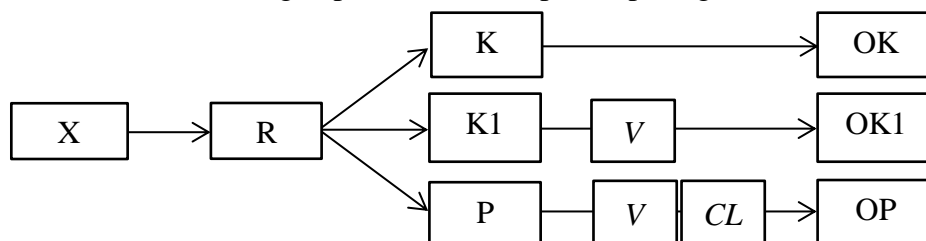
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang untuk perlakuan hewan coba, dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUP Dr. Kariadi untuk pembuatan dan pemeriksaan preparat histopatologi paru. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2016.

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan bentuk penelitian *true experimental with post-test only control group design* yang menggunakan mencit jenis BALB/c sebagai subjek penelitian.

Skema rancangan penelitian ditampilkan pada gambar berikut:



Gambar 6. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

X : Masa aklimatisasi

R : Randomisasi

CL : Ekstrak Kunyit

V : Ovalbumin

K : Kontrol Negatif → Kelompok mencit yang hanya mendapatkan makan standar dan minum *ad libitum*

K1 : Kontrol Positif → Kelompok mencit yang diinduksi ovalbumin

P : Perlakuan → Kelompok mencit yang diinduksi ovalbumin dan diberikan ekstrak kunyit

OK : Pengamatan pada kelompok Kontrol Negatif

OK1 : Pengamatan pada kelompok Kontrol Positif

OP : Pengamatan pada kelompok Perlakuan

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian Populasi

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit BALB/c yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah mencit BALB/c yang memenuhi kriteria inklusi, serta tidak memiliki kriteria eksklusi dan *drop out*.

3.4.2.1 Kriteria Inklusi

1. Mencit betina
2. Umur 6 – 8 minggu
3. Berat badan 20 - 25 gram
4. Mencit sehat atau aktif

3.4.2.2 Kriteria Eksklusi

Ada kelainan anatomis

3.4.2.3 Kriteria Drop out

Mencit BALB/c mati saat penelitian dan sebelum tiba waktu pengambilan hasil.

3.4.3 Cara Sampling

Cara pemilihan sampel adalah *simple random sampling* yaitu memilih sampel secara acak bertujuan untuk menghindari bias, sehingga semua objek populasi mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel. Mencit yang masuk dalam kriteria inklusi dan sudah mengalami aklimatisasi selama seminggu dengan pemberian makan standar dan minum *ad libitum* kemudian dibagi menjadi tiga kelompok melalui randomisasi.

3.4.4 Besar Sampel

Besar sampel hewan coba yang digunakan ditentukan berdasarkan kriteria WHO untuk perlakuan hewan dengan menggunakan herbal adalah 5

ekor perkelompok perlakuan.⁶³ Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan yang masing masing menggunakan lima ekor mencit, dan satu sebagai cadangan sehingga jumlah total mencit yang digunakan adalah 18.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kunyit (*Curcuma longa*).

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah eosinofil di jaringan paru.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 4. Daftar variabel

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Ekstrak kunyit	Ekstrak kunyit diperoleh dari proses ekstraksi yang dilakukan dengan pelarut etanol, pemberian dilakukan per oral menggunakan sonde lambung dengan dosis 100 mg/kgBB selama 16 hari pada hari ke-15 sampai 30	mg/kgBB	Nominal
Jumlah eosinofil	Jumlah eosinofil dihitung melalui sediaan preparat histopatologi dengan pengecatan HE dan diamati melalui mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x pada lima lapangan pandang		Rasio

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

1. Ovalbumin
2. Alumunium Hidroksida (Alum Adjuvant)
3. Ekstrak kunyit
4. Normal Saline
5. Makan strandar mencit dan minum *ad libitum*
6. Bahan-bahan untuk pembuatan preparat histopatologi yaitu :
 - a) Larutan buffer formalin 10%
 - b) Paraffin
 - c) Hematoksilin Eosin
 - d) Larutan xylol
 - e) Alkohol

3.7.2 Alat

1. Kandang hewan coba
2. Sonde lambung
3. Pipet ukur
4. Tabung reaksi
5. Sput
6. Nebulizer
7. Alat untuk pembuatan dan pembacaan preparat histopatologi (*deck glass, object glass, mikrometer, mikroskop*)

3.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer, yaitu data yang diperoleh dari penilaian jumlah eosinofil di jaringan paru mencit dari kelompok perlakuan yang dibandingkan dengan kelompok kontrol.

3.7.4 Cara kerja

3.7.4.1 Perlakuan Hewan Coba

1. 18 ekor mencit BALB/c yang memenuhi kriteria inklusi diadaptasikan selama tujuh hari dengan pemberian pakan standar dan air minum *ad libitum* di laboratorium
2. Secara random mencit-mencit tersebut dibagi menjadi tiga kelompok, setiap kelompok berjumlah enam ekor mencit dan dikandangan per kelompok
3. Kelompok Kontrol Negatif (K):

Enam ekor mencit diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama masa penelitian. Pada hari ke-31 dilakukan terminasi dan pengambilan sampel jaringan paru. Kemudian dilakukan pembuatan preparat dan pengecatan dengan HE.

4. Kelompok Kontrol Positif (K1):

Enam ekor mencit diinjeksi 10 µg OVA dan 2 mg alum adjuvant (Al(OH)₃) dalam 0,2 cc normal salin secara intraperitoneal pada hari ke-0, 7, dan 14. Selanjutnya diberikan

OVA 1% melalui inhalasi selama 30 menit per hari pada hari ke-19 sampai 22.

Mencit diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama masa penelitian. Setelah itu, pada hari ke-31 dilakukan terminasi dan pengambilan sampel jaringan paru. Kemudian dilakukan pembuatan preparat dan pengecatan dengan HE.

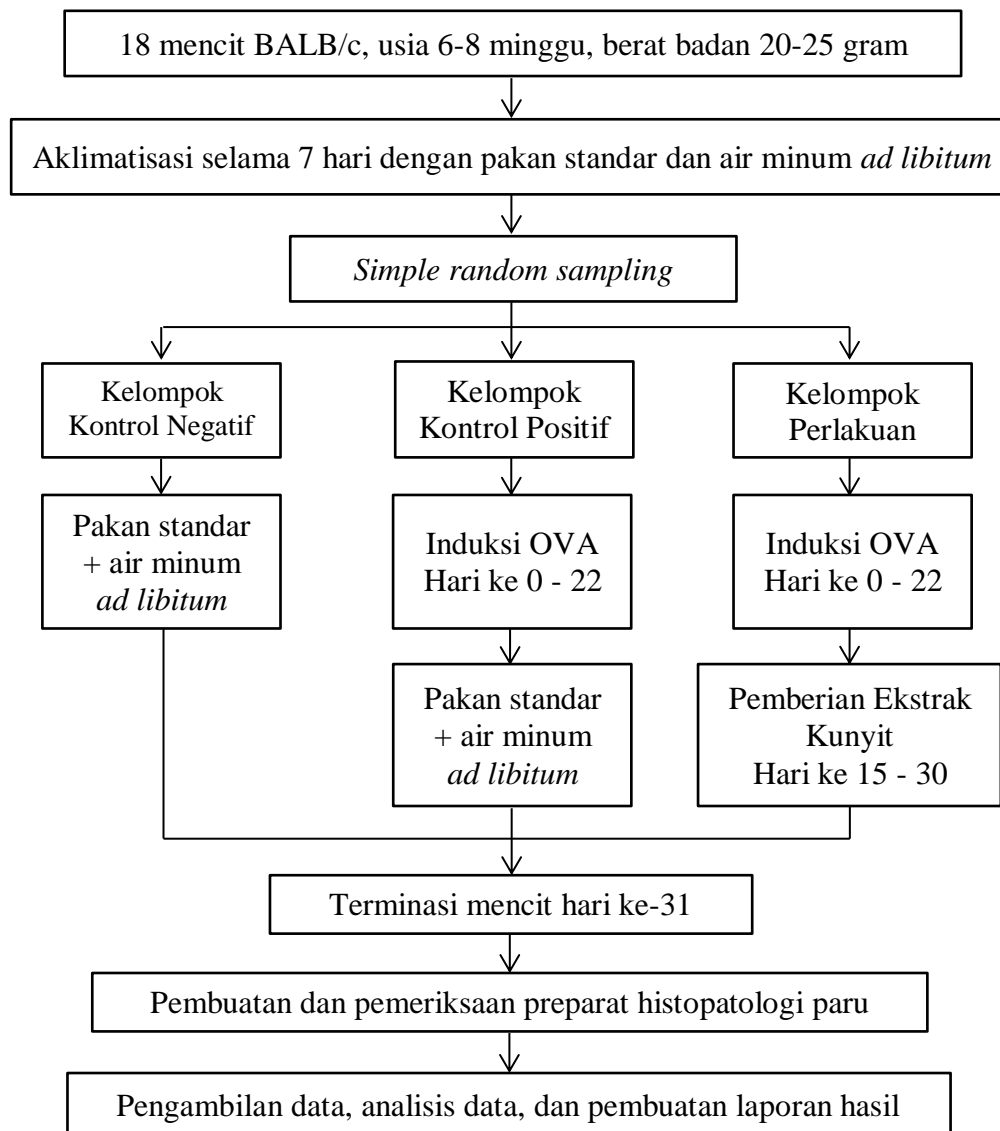
5. Kelompok Perlakuan (P):

Enam ekor mencit diinjeksi 10 µg OVA dan 2 mg alum adjuvant ($Al(OH)_3$) dalam 0,2 cc normal salin secara intraperitoneal pada hari ke-0, 7, dan 14. Selanjutnya diberikan OVA 1% melalui inhalasi selama 30 menit per hari pada hari ke-19 sampai 22.

Keenam mencit tersebut diberikan ekstrak kunyit dosis 100 mg/kgBB/hari secara oral menggunakan sonde lambung dengan pelarut aquadest selama 16 hari setelah injeksi OVA intraperitoneal yaitu pada hari ke-15 sampai 30.

Mencit diberikan pakan standar dan air minum *ad libitum* selama masa penelitian. Setelah itu, pada hari ke-31 dilakukan terminasi dan pengambilan sampel jaringan paru. Kemudian dilakukan pembuatan preparat dan pengecatan dengan HE.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 7. Diagram Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data primer yang telah diperoleh diolah melalui proses *cleaning*, *editing*, *coding* dan *entrying*, kemudian dilakukan uji normalitas, uji homogenitas dan uji hipotesis. Uji normalitas dilakukan untuk melihat sebaran distribusi data yang secara analisis diuji dengan uji *Saphiro-Wilk*,

sedangkan uji homogenitas untuk menilai variasi data menggunakan uji *Levene*. Uji hipotesis dipilih berdasarkan pemenuhan syarat untuk uji parametrik. Hasil penelitian ditemukan distribusi data tidak normal, maka dilakukan transformasi data untuk menormalkan data menggunakan fungsi *squareroot*. Setelah distribusi data normal, data dianalisis dengan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk menganalisis perbedaan lebih dari dua kelompok, kemudian ditemukan perbedaan yang bermakna, dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* untuk uji perbedaan antar dua kelompok. Data dianggap bermakna dalam penelitian jika $p < 0,05$ dengan interval kepercayaan 95%.

3.10 Etika Penelitian

Ethical clearance telah diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro atau RSUP Dr. Kariadi dengan nomor 529/EC/FK-RSDK/2016 pada tanggal 2 Mei 2016.

Selama penelitian mencit dirawat secara berkelompok dan diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*. Induksi ovalbumin dilakukan melalui injeksi intraperitoneal dan inhalasi. Pemberian ekstrak kunyit dilakukan per oral menggunakan sonde lambung. Mencit di terminasi dengan mendislokasi sendi atlantooccipital dan dilakukan pengambilan organ paru mencit, kemudian dikubur.