

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang ilmu parasitologi, ilmu patologi anatomi, ilmu imunologi dan ilmu farmakologi

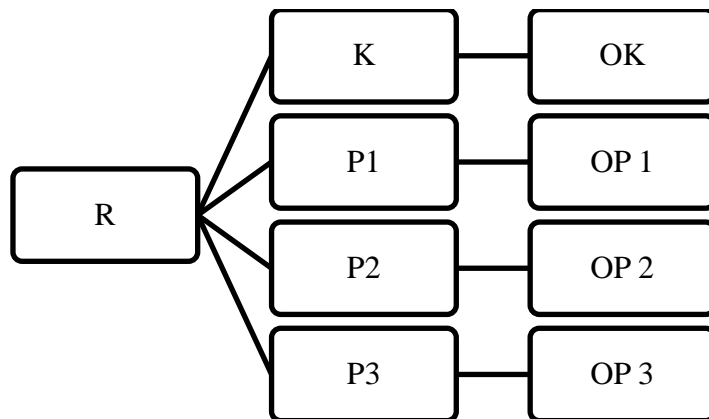
#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret sampai April 2016. Pengujian untuk membuktikan pengaruh *Annona Muricata* terhadap sebuka leukosit otak mencit malaria yang diterapi *Artemisinin based combination therapy* akan dilaksanakan di laboratorium parasitologi dan patologi anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### **3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian true experimental dengan rancangan *post test only control group design* yaitu dengan membandingkan hasil observasi pada kelompok kontrol dan perlakuan setelah diberi tindakan. Penelitian ini menggunakan 4 kelompok, yaitu 3 kelompok eksperimental dan 1 kelompok kontrol.

Skema rancangan penelitian adalah sebagai berikut :



Keterangan :

R : Randomisasi

K : Kontrol (Kelompok mencit yang hanya di infeksi PbA)

P1 : Perlakuan 1 (Kelompok mencit yang di beri terapi ekstrak *Annona muricata* saja)

P2 : Perlakuan 2 (Kelompok mencit yang di beri terapi *ACT* saja)

P3 : Perlakuan 3 (Kelompok mencit yang diberi terapi kombinasi *ACT* dan ekstrak *Annona muricata*)

OK : Pengamatan pada kelompok kontrol

OK 1 : Pengamatan pada kelompok perlakuan 1

OK 2 : Pengamatan pada kelompok perlakuan 2

OK 3 : Pengamatan pada kelompok perlakuan 3

### 3.4 Populasi Dan Sampel

#### 3.4.1 Populasi Target

Populasi target pada penelitian ini adalah mencit *swiss* yang memenuhi kriteria inklusi dikembangkan di laboratorium ITB.

### **3.4.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit *swiss* yang ada di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

### **3.4.3 Sampel**

#### **3.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Mencit *swiss* betina usia 8 minggu dengan berat badan 20 – 25 gram dalam keadaan sehat, anatomi yang tampak normal, dengan aktivitas dan tingkah laku normal.

#### **3.4.3.2 Cara Sampling**

Pengambilan sampel dilakukan secara simple random sampling dengan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi untuk menghindari bias. Sehingga semua objek populasi mempunyai kesempatan yang sama sebagai sampel. Pengelompokan dilakukan secara acak setelah 7 hari mencit diadaptasi di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

#### **3.4.3.3 Besar sampling**

Besar sampel menurut WHO adalah tiap kelompok minimal 5 ekor, dengan cadangan 10%. Pada penelitian ini terdapat 3 kelompok perlakuan dan 1 kelompok kontrol. Maka, tiap kelompok terdapat 6 ekor mencit sehingga besar sampel total yang digunakan adalah 24 ekor mencit.

### 3.5 Variabel Penelitian

#### 3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian terapi *Artemisinin based combination therapy* dan ekstrak *Annona muricata*

#### 3.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah sebukan leukosit otak

### 3.6 Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1	ACT(DHP)  Obat anti malaria yang digunakan untuk plasmodium falciparum. Diberikan dalam dosis 3mg dihydroartemisinin dan 24mg/kgBB	mg/kgBB	Nominal
2	<i>Annona muricata</i>  Ekstrak daun <i>Annona muricata</i> dengan dosis 150mg/kgBB	mg/kgBB	Nominal
3	Gambaran Sebukan leukosit otak mencit swiss	Score 1 = 1 - 3 limfosit perivascular Score 2 = 4 - 6 limfosit Score 3 = >6 limfosit	Ordinal

### **3.7 Cara Pengumpulan Data**

#### **3.7.1 Bahan**

1. Ekstrak *annona muricata*
2. *Artemisinin based combination therapy* (DHP)
3. Pelarut jamu CMCNa.
4. Parasit *P.berghei ANKA*.
5. Mencit betina *swiss* yang didapatkan dari Laboratorium ITB
6. Pakan dan minum standar.

#### **3.7.2 Alat**

1. Kandang hewan coba
2. Timbangan
3. Sonde lambung
4. Spuit untuk inokulasi kuman
5. Mikroskop
6. Deck glass
7. Object glass
8. Batang pengaduk
9. Tabung reaksi
10. Spreader

#### **3.7.3 Jenis Data**

Data pada penelitian ini bersifat primer karena pemeriksaan dilakukan sendiri oleh peneliti.

### 3.7.4 Cara Kerja

#### 3.7.4.1 Persiapan ACT (DHP) dan *A. muricata*

- Perhitungan dosis ACT (DHP):

Mencit : Manusia = 20 gram : 70 kg

Dosis harian = 70 x 3 mg *dihydroartemisinin* = 210 mg  
*dihydroartemisinin*

Mencit 20 gram = 210 x 0,0026 = 0,546 mg *dihydroartemisinin*

Mencit 30 gram = 30/20 x 0,546 = 0,819 mg *dihydroartemisinin*

- Perhitungan dosis *A. muricata* :

Pencegahan :

Mencit : Manusia = 20 gram : 70 kg = 0,0026 : 1

Dosis harian = 3 x 400 mg *A. muricata* = 1200 mg *A. muricata*

Mencit 20 gram = 1200 x 0,0026 = 3,12 mg *A. muricata*

Mencit 30 gram = 30/20 x 3,12 = 4,68 mg *A. muricata*

Pengobatan :

Mencit : Manusia = 20 gram : 70 kg = 0,0026 : 1

Dosis harian = 6 x 400 mg *A. muricata* = 2400 mg *A. muricata*

Mencit 20 gram = 2400 x 0,0026 = 6,24 mg *A. muricata*

Mencit 30 gram = 30/20 x 6,24 = 9,36 mg *A. muricata*

#### 3.7.4.2 Perlakuan

1. 24 ekor mencit *swiss* berumur 8 minggu diadaptasikan selama tujuh hari ( hari ke 1 – 7 ) di laboratorium di dalam kandang dan diberi pakan standar serta minum.

2. Setelah diadaptasikan, pada hari ke 8 mencit - mencit tersebut dibagi menjadi 4 kelompok kecil secara acak dan dikandangan per-kelompok.
3. Kelompok Kontrol (K) : enam mencit pada hari ke-8 sampai hari ke-14 diberi pelarut jamu CMCNa dan mendapatkan pakan minum standard. Hari ke-15 enam mencit tersebut diinokulasikan PbA  $10^7$ . Selama hari ke-15 sampai hari ke-21 mencit diberi perlakuan makan minum standard serta diberikan pelarut jamu CMCNa. Hari ke-22 mencit diterminasi.
4. Kelompok perlakuan 1 (P1) : enam mencit pada hari ke-8 sampai hari ke-14 diberikan pakan minum standar dan ditambah pemberian ekstrak *Annona muricata* dengan dosis 4,68 mg/hari. Hari ke-15 enam mencit tersebut diinokulasikan PbA  $10^7$ . Selama hari ke-15 sampai hari ke-18 diberi perlakuan pakan minum standard serta diberikan *Annona muricata* dengan dosis 4,68 mg/hari per hari. Hari ke-19 sampai hari ke-21 diberi perlakuan pakan dan minum standard serta diberikan *Annona muricata* dengan dosis 9,36 mg/hari. Hari ke-22 mencit diterminasi.
5. Kelompok perlakuan 2 (P2) : enam mencit pada hari ke-8 sampai hari ke-14 diberikan pakan minum standar dan tidak diberi perlakuan apapun. Hari ke-15 enam mencit tersebut diinokulasikan PbA  $10^7$ . Selama hari ke-15 sampai hari ke-18 tidak diberi perlakuan apapun hanya pakan minum standard. Hari ke-19 sampai hari ke-21 diberi

perlakuan pakan minum standard serta diberikan ACT(DHP) dengan dosis 0,819 mg/hari. Hari ke-22 mencit diterminasi.

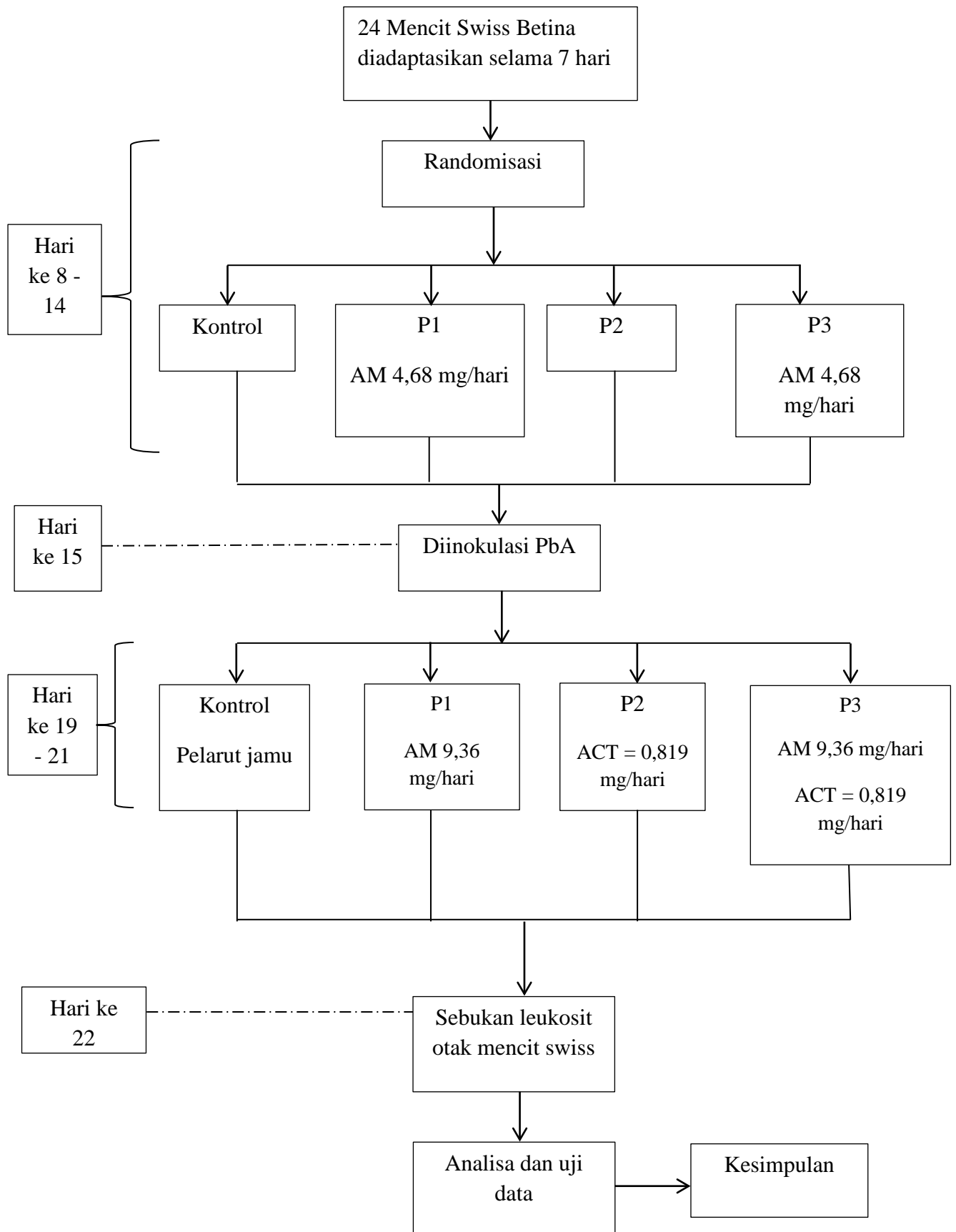
6. Kelompok perlakuan ke 3 (P3) : enam mencit pada hari ke-8 sampai hari ke-14 diberikan pakan minum standar dan ditambah pemberian ekstrak *Annona muricata* dengan dosis 4,68 mg/hari. Hari ke-15 enam mencit tersebut diinokulasikan PbA  $10^7$ . Selama hari ke-15 sampai hari ke-18 diberi perlakuan pakan minum standard serta diberikan *Annona muricata* dengan dosis 4,68 mg/hari per hari. Hari ke-19 sampai hari ke-21 diberi perlakuan pakan dan minum standard serta diberikan *Annona muricata* dengan dosis 9,36 mg/hari dan ACT(DHP) dengan dosis 0,819 mg/hari. Hari ke-22 mencit diterminasi.

#### **3.7.4.3 Isolasi organ otak**

1. Organ otak diambil dari kepala mencit
2. Organ otak dimasukkan ke dalam pot berisi buffer formalin
3. Dikirim ke bagian Patologi Anatomi untuk dilakukan parasit blok dan pembuatan slide dengan pewarnaan HE



### 3.8 Alur Penelitian



### **3.9 Pengolahan dan Analisis Data**

#### **3.9.1 Pengolahan data**

Langkah pertama dilakukan cleaning yaitu pembersihan data pada data penelitian, diteliti dahulu agar tidak terdapat data yang tidak diperlukan. Langkah kedua dilakukan editing untuk meneliti kelengkapan data, kesinambungan data dan keseragaman data sehingga validitas data terjamin, dilanjutkan dengan entrying yaitu memasukkan data dalam komputer untuk proses analisis data.

#### **3.9.2 Analisis data**

Data yang diperoleh diolah menggunakan program komputer *SPSS*. Analisis data meliputi uji hipotesis dan analisis deskriptif. Analisis deskriptif menampilkan nilai median (minimal – maksimal). Uji hipotesis yang digunakan adalah uji *Chi-Square* karena semua variabel bebas dan variabel terikat berskala kategorik (nominal dan ordinal). Jika syarat uji *Chi-Square* tidak terpenuhi maka uji yang digunakan adalah uji *kolmogrov-smirnov*.

### **3.10 Etika Penelitian**

Pelaksanaan penelitian sudah disetujui oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro