

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang keilmuan imunologi, farmakologi, dan pengobatan tradisional.

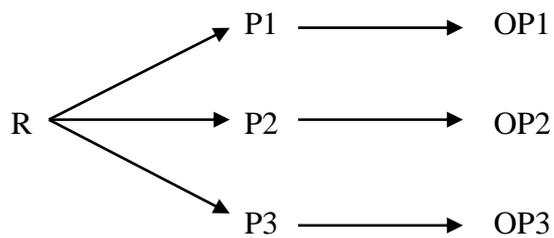
#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Riset Biomedik (Center for Biomedical Research / CEBIOR) Fakultas Kedokteran Undip.

Penelitian dan pengumpulan data dilaksanakan pada bulan Maret-April 2016.

#### 3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium murni dengan menggunakan desain *Post Test Only Controlled Group Design* yang menggunakan hewan percobaan mencit BALB/c jenis kelamin betina sebagai objek penelitian. Penelitian ini membandingkan respon imunologis tiga ramuan herbal.



**Gambar 5.** Rancangan Penelitian

Keterangan :

R : Randomisasi

K : Kontrol

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal A dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 7 hari

P1 : Perlakuan 1

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal B dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 7 hari

P2 : Perlakuan 2

Kelompok mencit yang diberi kombinasi herbal C dengan dosis 0,08 ml/hari peroral dengan sonde lambung selama 7 hari

OK : Pengamatan pada kelompok Kontrol

OP1 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 1

OP2 : Pengamatan pada kelompok Perlakuan 2

### **3.4 Populasi dan Sampel**

#### **3.4.1 Populasi Target**

Populasi target penelitian ini adalah mencit BALB/c.

#### **3.4.2 Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah mencit BALB/c yang diperoleh dari Laboratorium Pusvetma Malang.

#### **3.4.3 Sampel**

##### **3.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria Inklusi dari penelitian ini adalah :

- a. Mencit BALB/c betina sehat
- b. Dewasa (usia 6-8 minggu)
- c. Berat badan 25-35 gram
- d. Kondisi sehat

##### **3.4.3.2 Kriteria Drop out**

Kriteria drop out dari penelitian ini adalah:

- a. Mencit mati sebelum dilakukan observasi dan selama penelitian.

#### **3.4.4 Cara Sampling**

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara randomisasi sederhana (*simple random sampling*), dimana semua objek atau elemen populasi memiliki kesempatan yang sama untuk menjadi sampel penelitian. Pengelompokan dilakukan secara acak setelah tujuh hari diadaptasikan di kandang mencit Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Undip.

### **3.4.5 Besar Sampel**

Penentuan besar sampel menggunakan pedoman WHO yaitu jumlah sampel minimal lima ekor tiap kelompok yang diambil secara acak. Penelitian ini terdiri dari tiga kelompok yaitu tiga kelompok perlakuan. Besar sampel yang digunakan adalah lima ekor mencit ditambah satu ekor mencit cadangan pada tiap kelompok, sehingga jumlah sampel seluruhnya adalah 18 ekor mencit BALB/c betina.

## **3.5 Variabel Penelitian**

### **3.5.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemberian kombinasi herbal A, herbal B dan herbal C.

### **3.5.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kapasitas produksi IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  yang berasal dari limpa mencit BALB/c.

## **3.6 Definisi Operasional Variabel**

**Tabel 3.** Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
kombinasi herbal A	Kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan peroral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Nominal
kombinasi herbal B	Kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan per oral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Nominal
kombinasi herbal C	Kombinasi dari ekstrak beberapa tanaman herbal yang disediakan oleh PT. Sidomuncul, Ungaran. Diberikan peroral dengan dosis 0,08 ml/hari.	ml/hari	Nominal
TNF- $\alpha$	Kapasitas produksi TNF- $\alpha$ diukur dari produksi TNF- $\alpha$ pada limpa kultur limfosit dengan stimulator PHA metode ELISA	pg/ml	Rasio
IFN- $\gamma$	Kapasitas produksi IFN- $\gamma$ diukur dari produksi IFN $\gamma$ pada limpa kultur limfosit dengan stimulator PHA metode ELISA.	pg/ml	Rasio

### 3.7 Cara Pengumpulan Data

#### 3.7.1 Alat dan Bahan pada Persiapan dan Perlakuan

##### 3.7.1.1 Alat

1. Timbangan
2. Sonde lambung
3. Kandang hewan coba
4. Tabung reaksi

5. Pipet ukur
6. Batang pengaduk
7. Spatula
8. Inkubator

#### **3.7.1.2 Bahan**

1. Kombinasi herbal A
2. Kombinasi herbal B
3. Kombinasi herbal C
4. Mencit strain BALB/c
5. Pakan dan minum standar

#### **3.7.1.3 Alat dan Bahan pada Proses Isolasi Makrofag**

Lampiran 1 hal. 51-53

#### **3.7.1.4 Alat dan Bahan pada Proses Isolasi Splenosit**

Lampiran 2 hal. 54-56

#### **3.7.1.5 Alat dan Bahan pada Pengukuran Produksi TNF- $\alpha$**

Lampiran 3 hal. 57-59

#### **3.7.1.6 Alat dan Bahan pada Pengukuran Produksi IFN- $\gamma$**

Lampiran 4 hal. 60-62

### 3.7.2 Jenis Data

Jenis data yang digunakan pada penelitian ini adalah data primer.

### 3.7.3 Cara kerja

#### 3.7.3.1 Prosedur Persiapan Sampel Penelitian

Prosedur penelitian ini meliputi beberapa langkah:

1. Mempersiapkan Alat dan Bahan
2. Perlakuan pada hewan coba.
  - a. Adaptasi pada hewan coba :

Mencit BALB/c yang berjumlah 18 ekor diadaptasikan selama 7 hari dan dikandangkan secara memadai pada suhu lingkungan normal serta diberikan pakan standar dan minum secara *ad libitum*.
  - b. Pengelompokan sampel :

Sehari setelah masa adaptasi selesai, dilakukan pengelompokan mencit BALB/c dalam empat kelompok, yaitu kelompok Kontrol, P1, P2, dan P3 yang masing-masing terdiri atas 5 sampel ditambah 1 sampel cadangan.
  - c. Perlakuan pada masing-masing kelompok :
    1. Kelompok Kontrol  
Mencit diberikan Herbal A dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.
    2. Kelompok P1  
Mencit diberikan Herbal B dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.
    3. Kelompok P2  
Mencit diberikan Herbal C dengan dosis 0,08 ml/hari selama 7 hari.

- d. Pada hari ke-8 mencit di terminasi dan dilakukan isolasi makrofag peritoneal dan isolasi splenosit limpa.

### **3.7.3.2 Cara Kerja pada Proses Isolasi Makrofag**

Terlampir

### **3.7.3.3 Cara Kerja pada Proses Isolasi Splenosit**

Terlampir

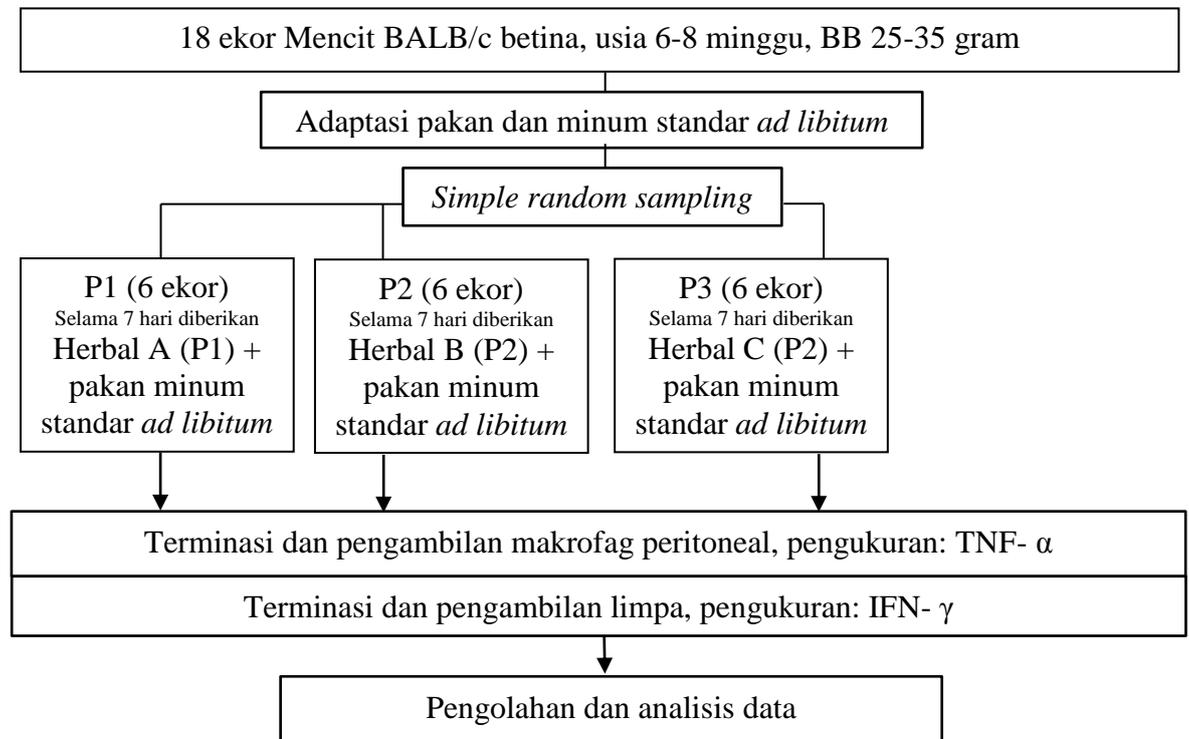
### **3.7.3.4 Cara Kerja pada Pengukuran Produksi TNF-alfa**

Terlampir

### **3.7.3.5 Cara Kerja pada Pengukuran Produksi IFN- $\gamma$**

Terlampir

### 3.8 Alur penelitian



**Gambar 6.** Alur penelitian

### 3.9 Pengolahan data dan Analisis data

#### 3.9.1 Pengolahan data

##### 3.9.1.1 Cleaning

Dilakukan pembersihan data pada data penelitian. Diteliti dahulu agar tidak terdapat data yang tidak diperlukan.

##### 3.9.1.2 Editing

Dilakukan editing untuk meneliti kelengkapan data, kesinambungan data dan keseragaman data sehingga validitas data terjamin.

##### 3.9.1.3 Coding

Dilakukan untuk memudahkan dalam pengolahan data termasuk pemberian skor.

#### **3.9.1.4 Entry**

Memasukkan data dalam komputer untuk proses analisis data.

#### **3.9.2 Analisis data**

Data yang diperoleh dan telah dilakukan Editing, Coding, Entry dalam file komputer selanjutnya diolah dengan program komputer yaitu *SPSS 20.00 for windows*. Penilaian sebaran data dilakukan secara deskriptif sehingga didapatkan nilai mean, median, varian, standar deviasi, minimum, maksimum dan range serta disajikan dalam bentuk diagram *box-plot*. Karena jumlah sampel kurang dari 50 buah, maka dilakukan uji normalitas data dengan uji *Saphiro-wilk* dengan nilai normal  $p > 0,05$ . Jika sebaran normal, dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One way Anova*. Jika nilai  $p < 0,05$  berarti terdapat perbedaan, nilai  $p > 0,05$  berarti tidak terdapat perbedaan bermakna. Nilai signifikansi  $p < 0,05$  dilanjutkan uji *Post hoc-Bonferroni* yaitu uji t tidak berpasangan. Data dengan sebaran abnormal, diuji dengan tes *Kruskall-Wallis*, dengan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

#### **3.10 Etika penelitian**

Pelaksanaan penelitian dilakukan dengan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan RSUP dr Kariadi Semarang.

#### **3.11 Jadwal Penelitian**

**Tabel 4.** Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4				Bulan 5					
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4		
Studi Literatur	■	■	■	■	■	■	■															
Penyusunan Proposal	■	■	■	■	■	■	■															
Seminar Proposal							■															
Persiapan Peminjaman Laboratorium						■	■	■														
Persiapan Alat dan Bahan									■	■												
Penelitian											■	■	■	■								
Analisis Data dan Evaluasi															■	■						
Penulisan Laporan															■	■	■	■				
Seminar Hasil																					■	