

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian ini adalah Histologi, Patologi Anatomi dan Farmakologi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) di laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Proses adaptasi mencit *Balb/c* selama 1 minggu, dilanjutkan dengan pemberian paparan asap obat nyamuk dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*) selama 4 minggu. Penelitian kemudian dilanjutkan dengan 2 minggu tanpa paparan dan pembuatan preparat . Dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES).

3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan penelitian *post test only control group design* yang menggunakan hewan coba mencit *Balb/c* jantan sebagai objek percobaan.

3.4 Populasi dan Sampel

3.4.1 Populasi Target

Populasi target adalah mencit *Balb/c* jantan.

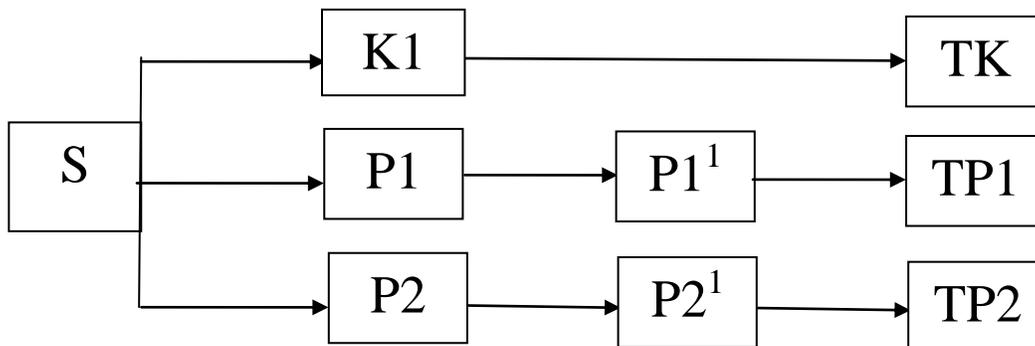
3.4.2 Populasi Terjangkau

Populasi terjangkau adalah mencit *Balb/c* jantan, umur 2-3 bulan, berat 25-35 gram, berat 25-30 gram, sehat, tidak ada abnormalitas anatomi yang tampak, dan diperoleh dari Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES).

3.4.3 Sampel

Sampel penelitian ini adalah mencit *Balb/c* jantan yang memenuhi kriteria inklusi dan kriteria eksklusi.

Skema dan racangan penelitian adalah sebagai berikut :



Keterangan :

S : Kelompok sampel

K1 : Kelompok kontrol 1

P1 : Kelompok perlakuan 1 (asap obat nyamuk)

P2 : Kelompok perlakuan 1 (asap obat nyamuk + ekstrak kulit manggis 4mg)

TK1 : Tes kelompok kontrol

P1¹ : Stop pemberian asap obat nyamuk pada kelompok perlakuan 1

P2¹ : Stop pemberian asap obat nyamuk dan ekstrak kulit manggis pada kelompok perlakuan 2

TP1 : Tes kelompok perlakuan 1

TP2 : Tes kelompok perlakuan 2

3.4.3.1 Kriteria Inklusi

- Mencit *Balb/c* Jantan usia 2-3 bulan
- Berat 25-30 gram
- Anatomi tampak normal
- Kondisi sehat dan aktif bergerak

3.4.3.2 Kriteria Eksklusi

- Tikus mati pada saat penelitian

3.4.4 Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan menggunakan cara simple random sampling. Randomisasi dilakukan pada mencit yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi serta telah diadaptasi pakan selama 1 minggu.

3.4.5 Jumlah Sampel

Penentuan besar sampel penelitian menggunakan ketentuan World Health Organization (WHO) dengan jumlah minimal sampel 5 binatang coba tiap kelompok. Penelitian ini menggunakan 15 ekor mencit yang dibagi dalam 3 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol dan 2 kelompok perlakuan.

3.5 Variabel Penelitian

3.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah

- a. Dosis pemberian ekstrak kulit manggis pada kelompok perlakuan 2 dengan menggunakan sonde lambung yaitu 4 mg selama 4 minggu
- b. Paparan asap obat nyamuk pada kelompok perlakuan 1 dan 2 selama 8 jam/ hari selama 4 minggu

3.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah, morfologi, dan motilitas spermatozoa.

3.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. Definisi Operasional Variabel

Jenis Variabel	Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala
Bebas	Asap Obat Nyamuk Bakar	Asap obat nyamuk yang digunakan adalah jenis <i>d-allethrine</i> dari obat nyamuk merk Baygon yang berbahan aktif <i>d-allethrin</i> . Paparan yang diberikan sejumlah 8jam/hari. Paparan diberikan dari pukul 10.00 – 18.00 ³⁹ Paparan diberikan pada kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 selama 4 minggu.	Nominal
Bebas	Ekstrak Kulit Manggis	Ekstrak kulit manggis diperoleh dari ekstraksi kulit manggis yang telah dikeringkan dan dibuat di laboratorium kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Dosis yang diberikan adalah 4mg/hari, peroral menggunakan sonde. Ekstrak kulit manggis diberikan pada kelompok perlakuan 2. ⁴⁰	Nominal

Terikat	Gambaran Mikroskopis Kerusakan Hepar	<p>Pembagian derajat kerusakan sel hepar menurut model scoring histopatologi <i>Manja Roenick</i> adalah sebagai berikut</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Normal : sel berbentuk bulat, sitoplasma utuh dan berwarna ungu, membran sel tidak rusak dan inti sel bulat tidak padat 2. Ringan : Degenerasi parenkimatososa, sitoplasma dalam sel hepar membentuk celah celah kecil 3. Sedang : Degenerasi hidropik, sitoplasma dalam sel hepar membentuk celah celah yang lebih besar 4. Berat : Nekrosis, membran sel rusak dan berbentuk tidak beraturan, sitoplasma kosong dan tidak berwarna, inti memadat berwarna ungu tua dan pekat <p>Preparat diamati dibawah mikroskop pada lima lapangan pandang yang berbeda dengan perbesaran 400x. Di setiap lapangan pandang dihitung 20 sel secara acak dan dinilai skor tiap sel menggunakan model scoring <i>Manja Roenick</i>. Kemudian dihitung rerata bobot skor tingkat kerusakan sel hepar dari lima lapangan pandang</p>	Ordinal
---------	--------------------------------------	---	---------

3.7 Cara Pengumpulan Data

3.7.1 Bahan

1. Tikus *Balb/c* sehat
2. Ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*)
3. Bahan makanan dan minuman mencit *Balb/c*
4. Bahan untuk pemeriksaan jumlah, motilitas, dan morfologi spermatozoa

3.7.2 Alat

1. Kandang mencit
2. Sonde lambung
3. Mikroskop cahaya dengan sumber arus listrik
4. Pipet
5. Alat untuk pembuatan preparat berupa pipet leukosit, bilik hitung, dan deck glass

3.7.2 .1 Alat Pemberi Perlakuan

3.7.2.2 Alat untuk Pemeriksaan Mikroskopis

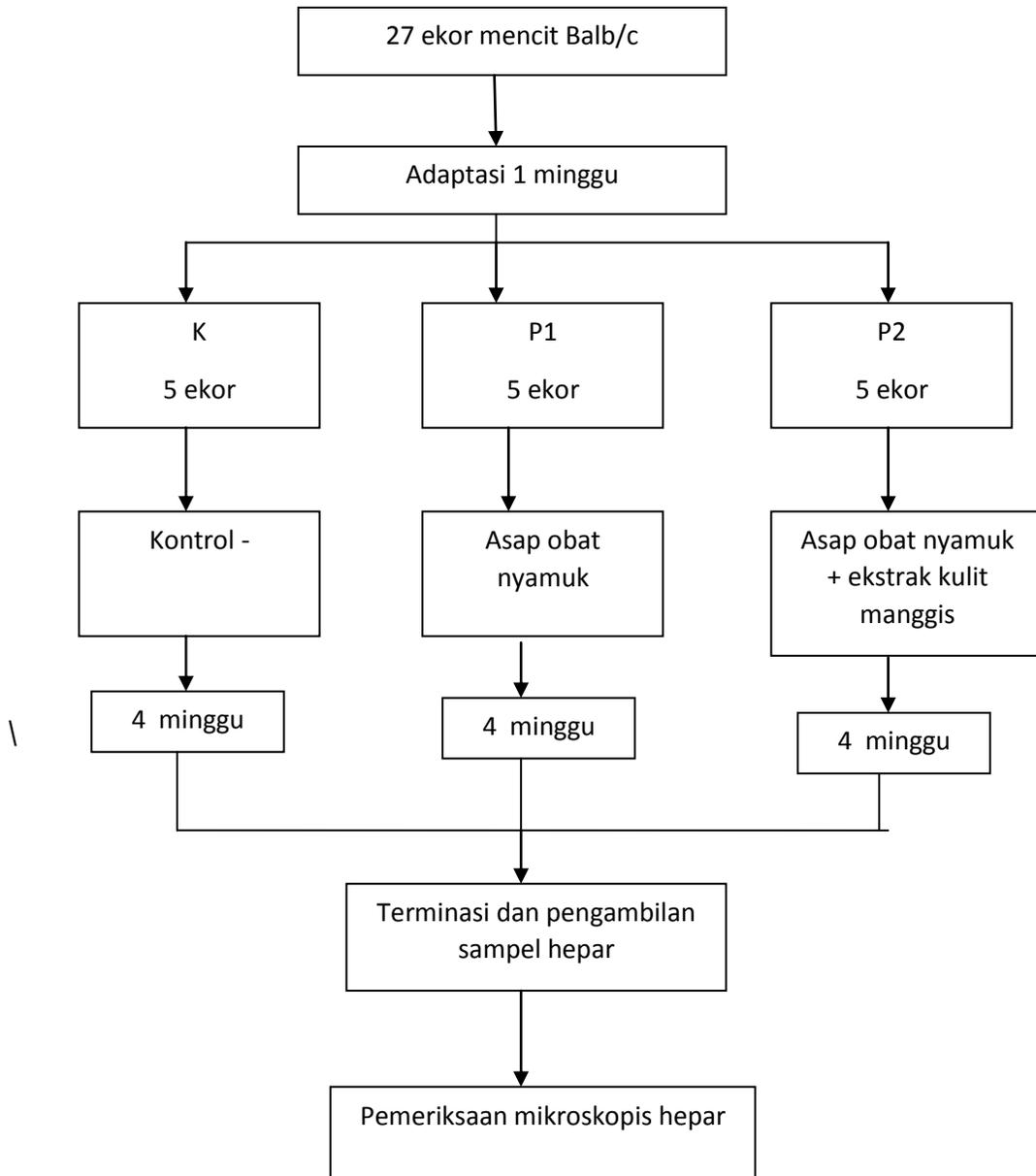
3.7.3 Jenis Data

Jenis data yang dikumpulkan adalah data primer yang diperoleh dari penelitian terhadap gambaran mikroskopik hepar mencit *Balb/c* yang termasuk dalam kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yang diberikan paparan asap obat nyamuk dan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L.*)

3.7.4 Cara Kerja

- a. Melakukan proses adaptasi terhadap 27 ekor mencit *Balb/c* jantan selama 7 hari di laboratorium dengan kandang tunggal lalu diberi pakan standar, dan minum *ad libitum*.
- b. Pada minggu pertama membagi mencit menjadi 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit yang dipilih secara acak. Kemudian memberi tanda dengan asam pikrat pada daerah yang berbeda yaitu kepala dan punggung.
- c. Menimbang berat badan masing-masing mencit
- d. Mulai minggu pertama sampai ke empat pada kelompok K (kontrol) diberikan pakan standart dan air minum *ad libitum* tanpa diberi paparan apapun. Pada kelompok perlakuan 1 (P1) diberikan pakan standart, minum *ad libitum*, dan paparan asap obat nyamuk. Pada kelompok perlakuan 2 (P2) diberikan pakan standart, minum *ad libitum*, paparan asap obat nyamuk dan ekstrak kulit manggis.
- e. Pemberian paparan asap obat nyamuk dan atau ekstrak kulit manggis pada kelompok perlakuan 1 dan 2 dihentikan pada akhir minggu ke empat. Kemudian seluruh hewan coba dimatikan.
- f. Organ hepar mencit strain *Balb/c* jantan diambil untuk dilakukan pemeriksaan mikroskopis jaringan.

3.8 Alur Penelitian



Gambar 9. Alur Penelitian

3.9 Analisis Data

Data tingkat kerusakan hepar ditabulasi, diberi kode, kemudian dianalisis menggunakan *software statistic*. Dilakukan uji komparasi kategorik 3 kelompok tidak berpasangan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dan setelah didapatkan hasil signifikan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok perlakuan. Perbedaan bermakna jika didapatkan hasil $p < 0,05$. Hasil analisis disajikan dalam tabel.

3.10 Etika Penelitian

Sebelum penelitian ini dilaksanakan, telah dimintakan *Ethical Clearence* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Mencit *Balb/c* yang dipelihara di Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Hewan coba diberi makanan dan minuman *ad libitum*. Untuk pemberian ekstrak kulit manggis dilarutkan dalam air kemudian diberikan dengan sonde. Sebelum proses terminasi dilakukan, mencit dianestesi terlebih dahulu dengan eter supaya mencit tidak merasakan nyeri ketika dilakukan proses terminasi. Proses terminasi hewan coba dilakukan dengan dislokasi leher. Setelah proses terminasi, dilakukan pengambilan sampel prepat hepar dari hewan percobaan. Seluruh biaya selama penelitian ditanggung oleh peneliti.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 4. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan							
	Jan	Feb	Mar	Ap	Mei	Jun	Jul	Aug
Penyusunan proposal	✓							
Pengujian proposal		✓						
Pelaksanaan penelitian			✓	✓				
Pengolahan data					✓	✓		
Pengujian hasil akhir							✓	