

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang lingkup penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang ilmu Histologi, Mikrobiologi dan Farmakologi.

#### **3.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro selama 2 bulan dan Laboratorium Sentral Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk pengulturan.

#### **3.3 Jenis dan rancangan penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Kelompok penelitian dibagi menjadi 5 kelompok Kontrol 1 (K1), Kontrol 2 (K2), Perlakuan 1 (P1), Perlakuan 2 (P2) dan Perlakuan 3 (P3). Adapun pembagian kelompok perlakuan adalah sebagai berikut :

K1: Kelompok kontrol 1

X1: Mencit hanya diberi 10 mg/mencit/hari ekstrak daun sirih merah per oral dengan cara disonde selama 14 hari.

K2: Kelompok kontrol 2

X2: Mencit hanya diinfeksi dengan *Salmonella Typhimurium* intraperitoneal sebanyak  $10^5$  CFU pada hari ke-10.

P1: Kelompok perlakuan 1

X3: Mencit diberi 10 mg/mencit ekstrak daun sirih merah peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal

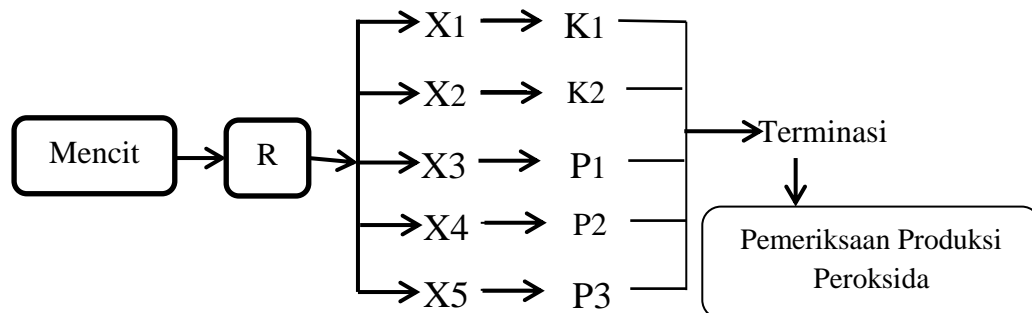
P2: Kelompok perlakuan 2

X4: Mencit diberi 30 mg/mencit ekstrak daun sirih merah peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal.

P3: Kelompok perlakuan 3

X5: Mencit diberi 100 mg/mencit ekstrak daun sirih merah peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal.

R: Randomisasi



**Gambar 5.** Skema rancangan penelitian

### 3.4. Populasi dan sampel

#### 3.4.1 Populasi Target

Mencit Strain Balb/c

### **3.4.2 Populasi Terjangkau**

Mencit jantan strain Balb/c dari Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya.

### **3.4.3 Sampel**

#### **3.4.3.1. Kriteria inklusi**

- mencit jantan strain Balb/c
- berat badan 20-25 gram
- umur 8-12 minggu
- sehat
- tidak terdapat kelainan anatomi
- selama observasi 7 hari sebelum perlakuan tidak sakit

#### **3.4.3.2. Kriteria eksklusi**

- mencit tampak sakit (gerakan tidak aktif)
- mati selama adaptasi dan perlakuan

### **3.4.4 Cara sampling**

Subyek penelitian adalah 25 ekor mencit Balb/c yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

### **3.4.5 Besar sampel**

Penentuan besar sampel berdasarkan rumus WHO yaitu jumlah sampel minimal lima ekor tiap kelompok yang diambil secara acak untuk hewan rodensia. Penelitian ini menggunakan lima ekor mencit tiap kelompok dan

dibagi menjadi lima kelompok sehingga jumlah sampel yang digunakan sebanyak 25 ekor.

### **3.5 Variabel penelitian**

#### **3.5.1 Variabel bebas**

Variabel bebas adalah ekstrak daun sirih merah.

#### **3.5.2 Variabel terikat**

Variabel terikat adalah produksi peroksida makrofag peritoneum

### **3.6 Definisi operasional**

- 1) Ekstrak daun sirih merah dosis bertingkat adalah zat yang dihasilkan dari proses ekstraksi daun sirih merah yang diberikan dalam jumlah dosis yang berbeda ke masing-masing kelompok perlakuan. Skala : ordinal
- 2) Produksi peroksida makrofag adalah jumlah peroksida yang terdapat dalam supernatan kultur makrofag peritoneum yang dites dengan menggunakan kit peroksida dan dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 340 nm. Skala : rasio

### **3.7 Cara pengumpulan data**

#### **3.7.1 Bahan**

1. Mencit jantan strain Balb/c
2. Ekstrak daun sirih merah [Lampiran 1]
3. Alkohol 70%
4. Ether
5. Bahan untuk mengisolasi makrofag mencit [Lampiran 3]

6. Bahan untuk memeriksa produksi peroksida makrofag peritoneum  
[Lampiran 4]
7. Kit Peroksida
8. Bakteri *Salmonella* Typhimurium
9. Makanan dan minuman mencit standar

### **3.7.2 Alat**

1. Kandang mencit
2. Sonde
3. S spuit untuk injeksi *Salmonella* Typhimurium
4. Alat untuk membuat ekstrak sirih merah [ liat lampiran 1]
5. Alat untuk mengisolasi makrofag mencit [liat lampiran 3]
6. Spektrofotometer

### **3.7.3 Jenis data**

Data yang dikumpulkan adalah data primer yang merupakan hasil pemeriksaan produksi peroksida makrofag peritoneum.

### **3.7.4 Cara kerja**

Dua puluh lima ekor mencit strain Balb/c diadaptasi di laboratorium dengan dikandangkan secara individual dan diberi pakan standar selama 1 minggu secara ad libitum.

Satu minggu setelah adaptasi mencit dibagi secara random menjadi lima kelompok dan diberi perlakuan sebagai berikut:

K1: mencit hanya diberi ekstrak daun sirih merah 10 mg/mencit per oral dengan cara disonde selama 14 hari.

K2: mencit hanya diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium intraperitoneal sebanyak  $10^5$  CFU pada hari ke-10.

P1: mencit diberi ekstrak daun sirih merah 10 mg/mencit peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal.

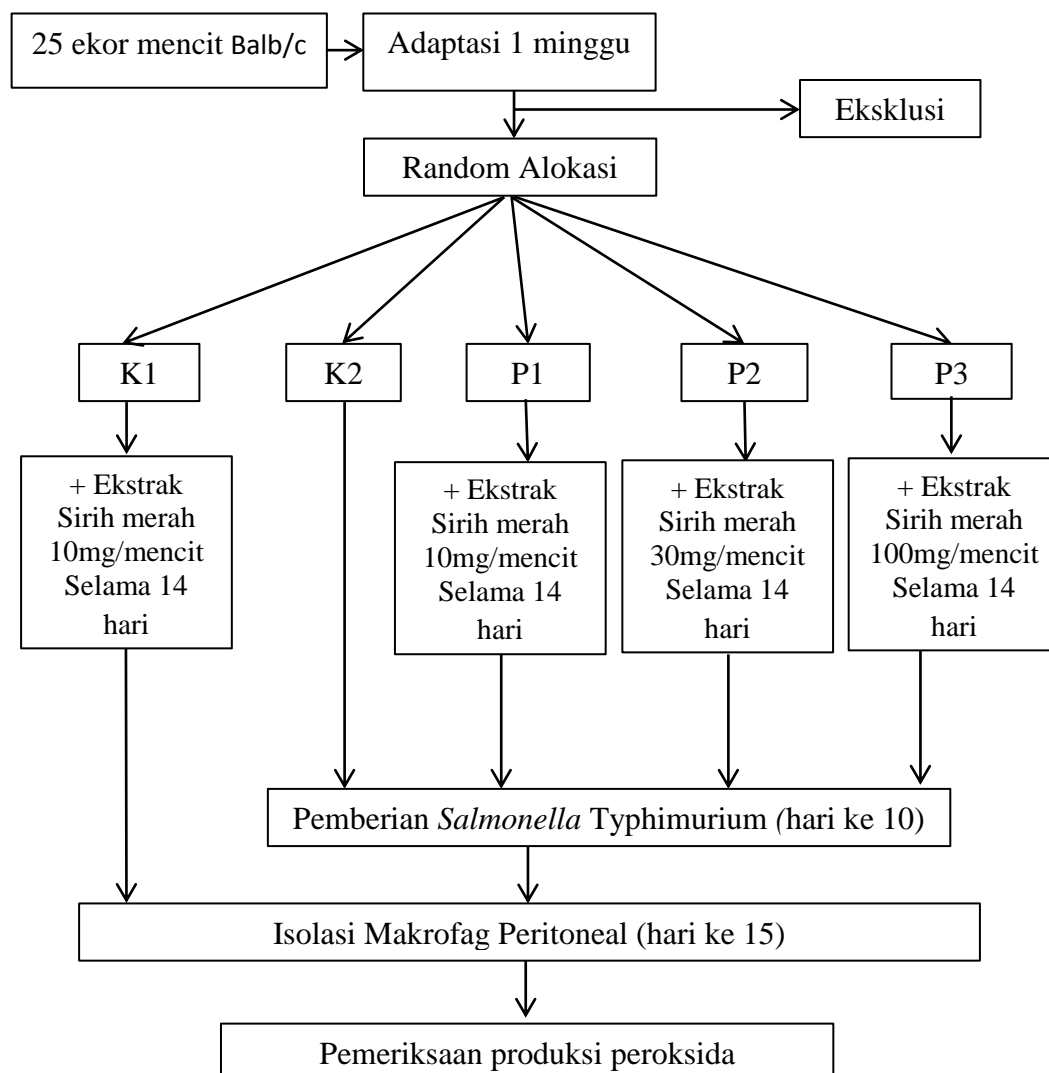
P2: mencit diberi ekstrak daun sirih merah 30 mg/mencit peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal.

P3: mencit diberi ekstrak daun sirih merah 100 mg/mencit peroral dengan cara disonde selama 14 hari, kemudian pada hari ke-10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium sebanyak  $10^5$  CFU intraperitoneal.

Masing-masing kelompok dikandangan secara individual dan mendapatkan pakan standar yang sama dan minum ad libitum.

Setelah perlakuan selesai, mencit dianestesi dengan ether selanjutnya mencit diterminasi dengan cara dislokasi cervicalnya, kemudian diambil cairan peritoneumnya. Selanjutnya cairan dikultur dan diperiksa produksi peroksidanya (Lampiran 3 dan 4).

### 3.7 Alur penelitian



**Gambar 6.** Alur penelitian

### 3.9 Analisis data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer dan dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Data yang memiliki distribusi normal dan varians sama dilanjutkan dengan uji beda hipotesis *One Way Anova*, jika  $P < 0.05$  dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Bila distribusi data tidak normal, atau varian data tidak sama,

maka data di transformasi. Jika setelah di transformasi tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal atau tidak sama, maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*, jika didapat  $P < 0.05$  dilanjutkan dengan menggunakan *Mann Whitney test*.

### **3.10 Etika penelitian**

Etika penelitian telah dimintakan sebelum penelitian dilakukan ke bagian Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Mencit Balb/c dipelihara di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Hewan coba diberi makan dan minum ad libitum. Hewan coba diberikan ekstrak daun sirih merah menggunakan sonde selama 2 minggu, pada hari ke 10 diinfeksi dengan *Salmonella* Typhimurium kemudian diterminasi dengan cara dianestesi terlebih dahulu baru dilakukan dislokasi cervical. Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian ditanggung oleh peneliti.