

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik, dengan rancangan percobaan *post-test only group design* yang menggunakan hewan uji sebagai objek penelitiannya (Riyadi, 2008).

B. Variabel Penelitian

Variable bebas : pemberian ekstrak *Echinacea* peroral

Variable tergantung : angka leukosit pada mencit terinfeksi, dilihat dari jumlah leukosit yang terdapat pada apusan darah mencit dengan menggunakan mikroskop cahaya.

Variable terkontrol :

- a. Subyek penelitian, mencit *swiss* berumur 2,5-3 bulan dengan berat badan 20-25 gram.
- b. Faktor genetik menggunakan mencit galur *swiss* dan dilakukan randomisasi.
- c. Kondisi kandang dan pakan sama

C. Definisi Operasional

- a. Infeksi *Plasmodium berghei* dilakukan dengan menginjeksi darah donor yang telah terinfeksi *Plasmodium berghei*. Mencit dibiarkan hingga *Plasmodium berghei* berhasil menginfeksi mencit sehingga mencit mengalami malaria. Proses ini memerlukan rentan waktu antara 22-25 jam.
- b. Pemberian *Echinacea* dilakukan melalui sonde dengan dosis 0,195 mg/gramBB/hari atau 5,58 gram/hari dan 0,39mg/gramBB/hari untuk mencit dengan BB 25 gram yang dilarutkan dalam aquadest steril sebanyak 2 ml (Riyadi, 2008). Pemberian *Echinacea* dilakukan setiap hari selama 10 hari.
- c. Angka leukosit yaitu estimasi jumlah leukosit yang diambil dari darah tepi yang diperiksa dengan menggunakan apusan darah tepi. penghitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 10. Perhitungan: penghitungan leukosit dilakukan di 3 area lapangan pandang, kemudian di ambil rata-ratanya. Pada manusia normal leukosit yang di temukan berkisar 20-30 leukosit per lapang pandang (Hoffbrand, 1987).

Angka leukosit dihitung setiap hari selama 10 hari, kemudian hasil penghitungan angka leukosit pada mencit yang diberi *Echinacea* dibandingkan dengan angka leukosit pada mencit yang diberi

Plasmodium berghei dan mencit yang tidak diberi perlakuan

- d. Variabel yang digunakan yaitu ordinal dan nominal. Variabel ordinal yaitu variable yang memiliki kategori yang tidak sederajat atau kategori yang bertingkat, pada penelitian ini yang merupakan variable ordinal adalah angka leukosit. Variabel nominal yaitu variable yang memiliki kategori yang sederajat atau kategori yang tidak bertingkat, pada penelitian ini yang merupakan variable nominal adalah perlakuan yang diberikan pada mencit (Aminah, 2011).

D. Subyek Penelitian

Plasmodium berghei didapatkan dari laboratorium parasitologi FK UGM, sedangkan mencit didapatkan dari unit laboratorium parasitologi FK UGM mencit dipelihara dalam kandang hewan laboratorium parasitologi FK UGM. Subyek uji yang digunakan adalah mencit *swiss* betina yang terinfeksi plasmodium berghei, galur *swiss*, rentan umur 2,5-3 bulan, berat badan 20-25 gram.

Kriteria Inklusi:

- a. Mencit jantan.
- b. Galur *swiss*.
- c. Berat badan 20-25 gram/ umur 2,5-3 bulan.
- d. Tidak ada abnormalitas anatomis yang tampak.

Kriteria Eksklusi:

- a. Tidak terkena malaria setelah injeksi *Plasmodium berghei*

- b. Mencit mati saat dikarenakan proses penyondean.

Menurut WHO dalam Riyadi (2008) besar minimal tiap kelompok berjumlah 5 ekor dan 2 ekor sebagai cadangan, mencit akan dibagi dalam 7 kelompok sehingga total mencit yang digunakan sebanyak 49 ekor.

E. Bahan Penelitian

1. *Echinacea* yang telah dijual bebas di pasaran (Nature's Health), *Echinacea* mengandung beberapa bahan aktif yang dapat meningkatkan system imun tubuh, diberikan dalam bentuk ekstrak per oral
2. Mencit yang berasal dari galur *swiss* di bagi menjadi 7 kelompok yaitu 4 perlakuan dosis *Echinacea*, 2 kelompok kontrol positif dosis *Phylantes*, dan kelompok kontrol negatif masing-masing 5 ekor ditambah 2 sebagai cadangan.
3. *Plasmodium berghei* merupakan parasit yang menginfeksi hewan pengerat dan mirip dengan *Plasmodium falciparum* yang kerap menginfeksi manusia
4. Akuades sebagai pengencer ekstrak *Echinacea* ataupun *Phylantes*
5. Cat giemsa digunakan untuk pengecatan pada objek glass untuk melihat leukosit, dengan pengenceran 1 : 9.
6. Anti koagulan EDTA

F. Alat Penelitian

1. Bede pemeliharaan mencit:

Kandang mencit terbuat dari logam dengan banyak lubang untuk aliran udara dan cahaya, alas kandang mencit berupa sekam untuk menjaga suhu dan sekaligus sebagai makanan mencit, tempat makanan langsung menyatu dengan alas kandang, tempat minuman berbentuk botol yang di beri selang pada bagian mulut borol untuk saluran air di letakkan di atas tutup mencit dengan posisi terbalik dengan selang masuk ke dalam kandang, kawat penutup terbuat dari logam berfungsi untuk menutup kandang.

2. Perlakuan pada mencit:

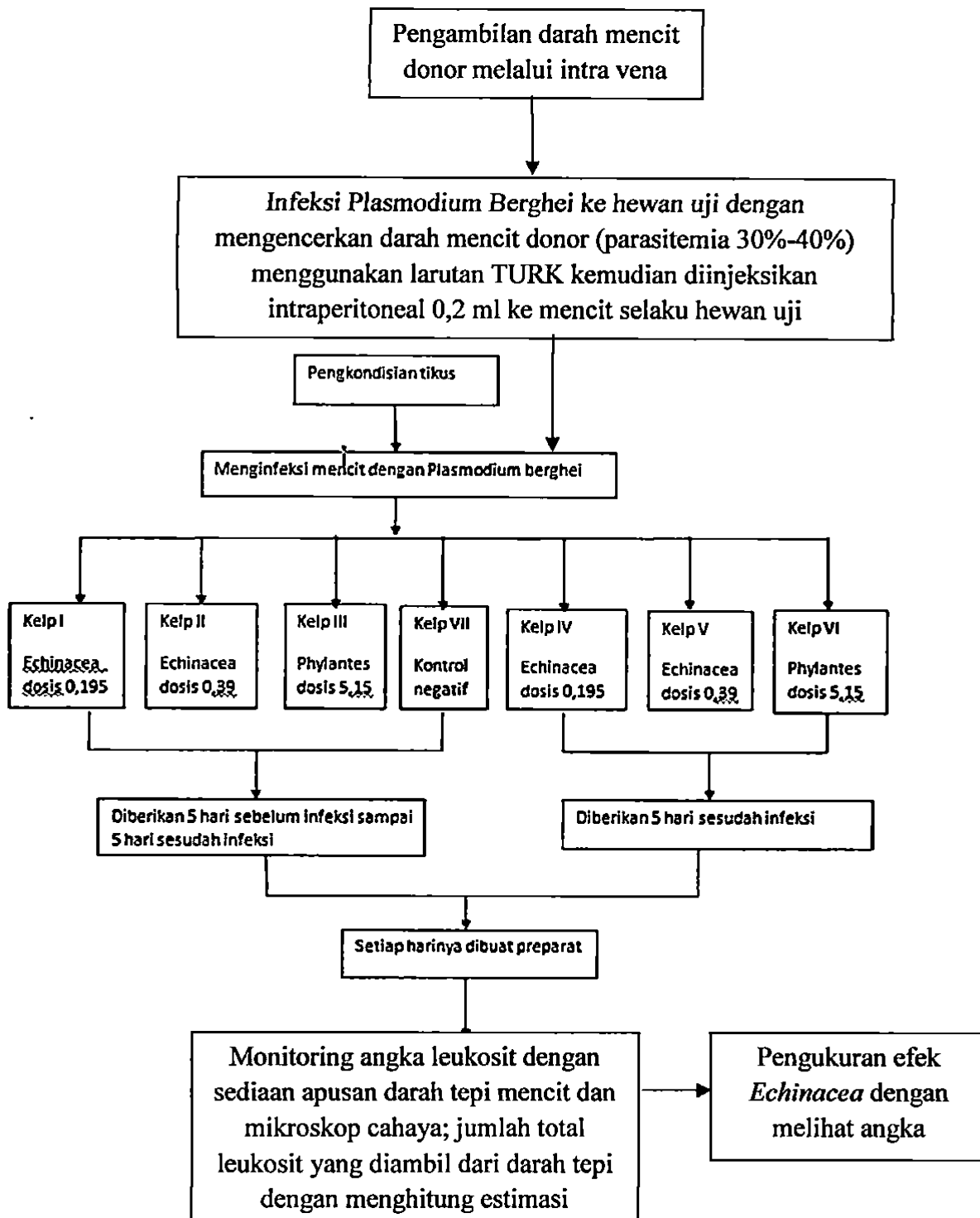
S spuit 1 ml dan jarum suntik g22 digunakan untuk menginfeksi mencit intraperitoneal, pipet tetes digunakan untuk mengambil bahan-bahan penelitian yang berbentuk cairan, sonde berukuran kecil digunakan untuk memasukkan obat langsung ke gaster mencit, porselen penggerus obat digunakan untuk menggerus obat menjadi puyer agar obat lebih mudah di larutkan dan di masukkan ke gaster, tissue untuk membersihkan daerah yang kotor, spidol/cat pewarna mencit digunakan untuk menandai mencit, sarung tangan untuk proteksi diri.

3. Pengambilan data

Gelas objek digunakan untuk membuat sekaligus sebagai media apusan darah tepi, mikroskop cahaya dengan pembesaran 10 x 10 di gunakan untuk menghitung estimasi jumlah leukosit, label untuk menandai gelas

objek agar tidak tertukar, apusan darah tepi di gunakan untuk mengestimasi jumlah leukosit.

G. Cara Penelitian



H. Analisis Data

Setelah mendapatkan hasil penghitungan angka leukosit dari ketujuh kelompok hewan uji kemudian dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Distribusi data diolah secara statistik menggunakan metode *kruskal wallis* untuk melihat hubungan antara kelompok perlakuan. Dilanjutkan dengan uji *post hoc mann whitney*, untuk membandingkan perbedaan antar kelompok menggunakan program SPSS versi 16.0 (Djati, 2009).