

## BAB IV

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true eksperimental laboratorik* karena terdapat perlakuan dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus serta menggunakan randomiasasi. Desain penelitian ini menggunakan *Control Group Post Test Design* (Notoatmojo, 2002 dalam Mahlianoor, 2009). Berikut ini merupakan 4 jenis perlakuan dan 1 kontrol yang dilakukan selama penelitian:

- Kontrol (P0) : diberi pakan standar
- Perlakuan1 (P1) : diberi pakan aterogenik
- Perlakuan 2 (P2) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 1,3gr/3 ml
- Perlakuan3 (P3) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 2,6gr/3 ml
- Perlakuan4 (P4) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 5,2gr/3 ml

#### 4.2 Populasi dan Sampel

##### 4.2.1 Jumlah Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus putih jenis *Rattus novergicus strain Wistar*. Untuk menentukan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini, rumus yang digunakan adalah

$$\begin{aligned} (n - 1) (t - 1) &> 15 \\ (n-1) (5-1) &> 15 \\ n - 1 &> 3,75 \\ n &> 4,75 \\ n &> 5 \end{aligned}$$

Keterangan :

n : jumlah sampel

t : banyaknya perlakuan pada sampel

(Arkermen dan David, 2006 dalam Fadlia, 2011)

Dari hasil perhitungan diatas didapatkan jumlah sampel adalah 5 ekor tikus. Jadi jumlah tikus yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 30 ekor untuk 5 kelompok perlakuan dengan cadangan.

#### 4.2.2 Prosedur Pengambilan Sampel

Pemilihan sampel penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap), hal ini karena hewan coba, tempat percobaan dan bahan penelitian lainnya dapat dikatakan homogen. Teknik randomisasi dapat dilihat pada lampiran 1.

#### 4.2.3 Kriteria Subjek

##### a. Kriteria inklusi

1. Tikus putih jenis *Rattus norvegicus strain Wistar* jantan berusia 8–12 minggu
2. Berat badan 100–200 g
3. Anggota badan lengkap dan tidak cacat, gerakan aktif, matajernih
4. Warna bulu putih bersih
5. Tikus sehat

##### b. Kriteria eksklusi

1. Tikus yang selama penelitian tidak mau makan
2. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung.

### 4.3 Variabel Penelitian

#### 4.3.1 Variabel Bebas :

Jus terong ungu (*Solanum melongena L.*) dengan berbagai dosis.

#### 4.3.2 Variabel Tergantung :

Kadar LDL pada tikus putih jenis *Rattus novvergicus strain Wistar* jantan

### 4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian

#### 4.4.1 Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan hewan coba dan Laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengukuran kadar LDL darah pada tikus.

#### 4.4.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Desember – Februari 2012.

### 4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

#### 4.5.1 Bahan Penelitian

##### 1. Diet normal

Berupa comfeed PARS dan tepung terigu perbandingan 2 : 1 dengan ditambahkan air secukupnya (PARS 53%, tepung terigu 23,5%, air 23,5%).

Diet normal diberikan 40 gram setiap hari per tikus pada semua kelompok saat masa adaptasi dan pada kelompok kontrol negatif saat masa perlakuan (Murwani *dkk*, 2005 dalam Palupi, 2012)

## 2. Diet aterogenik

Diberikan 40 gram setiap hari per tikus (Murwani, 2006) atau sesuai dengan perhitungan kebutuhan energi tikus, diberikan pada kelompok perlakuan (P2, P3, P4) dan kelompok kontrol positif. Komposisi bahan diet aterogenik dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

**Tabel 4.1** Komposisi Bahan Diet Aterogenik (40 gram per sajian)

Bahan	%	Berat (gram)
Comfeed PARS	50	20
Tepung terigu	25	10
Kuning telur bebek	5	2
Lemak kambing	10	4
Minyak kelapa	1	0,4
Minyak babi	8,9	3,55
Asam kolat	0,1	0,05
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>40</b>

(Palupi, 2012)

## 3. Jus Terong Ungu

Terong ungu yang digunakan pada penelitian ini adalah terong ungu yang berbentuk lonjong. Jus terong ungu diberikan kepada tikus putih menggunakan sonde lambung. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Novita Fadli pada tahun 2011 dosis jus terong yang optimal adalah 2,6gr/3ml dengan memperhatikan faktor konversi berat badan manusia ke berat badan tikus (Fadlia, 2011). Volume cairan maksimal yang dapat diberikan per oral pada tikus adalah 5 ml/100 gr BB. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus putih dengan berat badan 200 gr adalah 0.018 (Ngatidjan, 1991 dalam Fadlia, 2011). Dosis terong ungu pada manusia 50 kg dikonversi ke tikus putih 200 gr adalah:

a. Dosis 100 gram/50 kg BB manusia

$$= 50/70 \times 100 \text{ gr} \times 0.018$$

$$= 1.3 \text{ gr}/200 \text{ gr BB tikus putih}$$

b. Dosis 200 gram/50 kg BB manusia

$$= 50/70 \times 200 \text{ gr} \times 0.018$$

$$= 2.6 \text{ gr}/200 \text{ gr BB tikus putih}$$

c. Dosis 400 gram/50 kg BB manusia

$$= 50/70 \times 400 \text{ gr} \times 0.018$$

$$= 5.2 \text{ gr}/200 \text{ gr BB tikus putih}$$

Sehingga, dosis jus terong yang digunakan pada penelitian ini adalah 1,3gr/3ml, 2,6gr/3ml dan 5,2gr/3ml.

Cara pembuatan jus terong ungu :

1) Terong ungu dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sesuai berat yang dibutuhkan:

a) Dosis I =  $1,3 \text{ gr} \times 6 \text{ ekor tikus putih}$

$$= 7,8 \text{ gr terong ungu}$$

b) Dosis II =  $2,6 \text{ gr} \times 6 \text{ ekor tikus putih}$

$$= 15,6 \text{ gr terong ungu}$$

c) Dosis III =  $5,2 \text{ gr} \times 6 \text{ ekor tikus putih}$

$$= 31,2 \text{ gr terong}$$

2) Terong ungu yang sudah ditimbang ditambahkan air sebanyak 10 ml kemudian diblender. Setelah terbentuk sediaan jus ditambahkan air sampai didapatkan volume 18 ml. Cara tersebut diulang untuk tiap dosis perlakuan sehingga akan didapatkan:

a) Dosis I : 3 ml jus yang mengandung 1,3gr terong ungu

b) Dosis II : 3 ml jus yang mengandung 2,6gr terong ungu

c) Dosis III : 3 ml jus yang mengandung 5,2gr terong ungu

#### 4.5.2 Alat/instrumen Penelitian

##### 1. Alat pembuatan makanan hewan coba

Timbangan, neraca analitik, waskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan dan nampan

##### 2. Alat pemeliharaan hewan coba

Bak plastik, kandang tikus terbuat dari anyaman kawat, botol air dan sekam

##### 3. Alat pengambilan sampel darah

- Jarum suntik dan spuit disposable
- Tabung untuk penyimpanan serum
- Mikropipet
- sentrifuge

##### 4. Alat untuk pengukuran serum LDL

- mesin Cobas Mira
- *cuvet disposable*
- rak *reagen*, rak sampel
- mikro pipet 100 $\mu$ l, mikro pipet 500 $\mu$ l, mikro pipet 1000 $\mu$ l
- *yellow tip* dan *blue tip*

#### 4.6 Definisi Operasional

##### 4.6.1 Diet Normal

Pakan yang diberikan pada tikus percobaan dengan komposisi Comfeed PARS, tepung terigu dan air secukupnya. Diberikan pada saat adaptasi selama satu minggu dan pada kelompok kontrol negatif selama 8 minggu (Palupi, 2012).

Alur pembuatan pakan diet normal terdapat pada lampiran 2.

#### 4.6.2 Diet Aterogenik

Pakan yang diberikan kepada tikus dengan komposisi Comfeed PARS, tepung terigu, kuning telur bebek, lemak kambing, minyak kelapa, minyak babi dan asam kolat yang diberikan kepada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan (P2, P3, P4) setelah masa adaptasi (Palupi, 2012). Alur pembuatan pakan diet aterogenik terdapat pada lampiran 3.

#### 4.6.3 Jus Terong Ungu

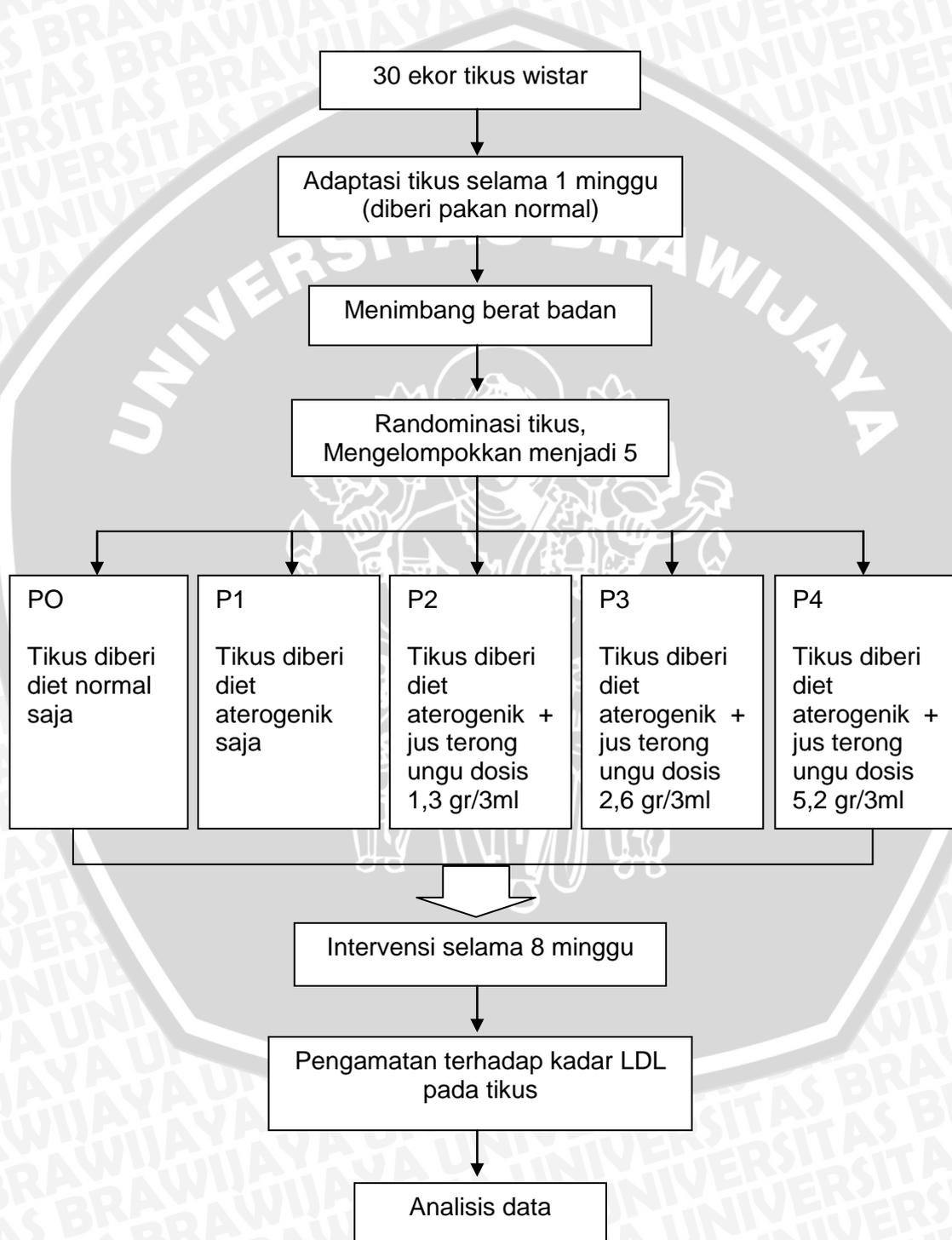
Jus terong ungu adalah buah terong ungu yang diblender sehingga menjadi sediaan jus. Terong ungu yang dipakai dalam penelitian ini adalah terong ungu yang berbentuk lonjong. Jus terong ungu diberikan kepada tikus putih menggunakan sonde lambung (Fadlia, 2011).

#### 4.6.4 Kadar LDL

Kadar LDL yang diperiksa didapatkan dari sampel darah tikus putih yang diambil dari organ jantung dengan jarum suntik dan spuit dispondable kemudian sampel darah dipindahkan ke vacutainer dan siap untuk diperiksakan. Sampel darah dicentrifuge, kemudian darah yang sudah dicentrifuge menjadi serum darah siap dimasukkan ke dalam alat yang bernama *Biosystem* yang selanjutnya hasil pemeriksaan darah yang salah satunya adalah kadar LDL akan muncul dilayar komputer (Faal, 2012).

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Langkah-langkah Pelaksanaan Penelitian



Penjelasan terkait alur penelitian terdapat pada lampiran 4

#### 4.7.2 Prosedur Pemeriksaan Kadar LDL Darah

1. Pengambilan sampel darah dilakukan di organ jantung dengan menggunakan spuit kemudian dicentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sebanyak 2 kali pada suhu ruang.
2. Kemudian dianalisis dengan alat *analyzer* Cobasmira dengan metode enzimatis-kolorimetrik.
3. Pembacaan hasil.

#### 4.8 Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan pengambilan darah tikus dan perhitungan kadar LDL darah pada tikus. Data yang dikumpulkan meliputi:

1. Berat badan tikus yang diperoleh dari penimbangan tikus setiap hari
2. Data asupan makanan perhari dihitung dari sisa makanan yang diberikan pada hewan coba setiap harinya
3. Kadar LDL darah tikus yang diperoleh dari pengambilan darah pada tikus

#### 4.9 Analisis Data

Data yang didapat dianalisis dengan program SPSS (*Statistical Pockagefo Social Science*) for windows versi 16 secara statistik dengan menggunakan uji *one-way* ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan derajat perlemakan hati pada masing-masing kelompok perlakuan. Jika terdapat perbedaan maka dapat dilanjutkan dengan uji Tuckey untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok. Uji statistik dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ), perbedaan dikatakan bermakna jika  $p < 0,05$ .