

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **4.1 Ruang lingkup penelitian**

Penelitian ini adalah penelitian di bidang Farmakologi, Farmasi, dan Biokimia.

#### **4.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang (UNNES). Pengukuran kolesterol HDL serum dilaksanakan di Balai Laboratorium Kesehatan Semarang. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei tahun 2013.

#### **4.3 Jenis dan rancangan penelitian**

Penelitian ini berjenis *true experimental* dengan *Pre and Post Randomized Controlled Group Design*. Perlakuannya adalah dengan memberikan jus kubis, sedangkan luarannya (*outcome*) adalah kadar kolesterol HDL serum pada tikus wistar yang diberi diet kuning telur.

#### **4.4 Populasi dan Sampel**

##### **4.4.1 Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES).

#### 4.4.2 Sampel Penelitian

##### 4.4.2.1 Kriteria inklusi

- 1) Tikus wistar jantan diberi diet kuning telur ayam
- 2) Umur 8 minggu
- 3) Berat badan 180-200 gram
- 4) Kondisi sehat (aktif dan tidak cacat)

##### 4.4.2.2 Kriteria eksklusi

- 1) Tikus tampak sakit selama masa adaptasi
- 2) Berat badan tikus menurun (<160 gram) atau mati selama masa adaptasi

#### 4.4.3 Cara sampling

Metode pemilihan sampel menggunakan *simple random sampling*.

#### 4.4.4 Besar sampel

Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan WHO, dimana jumlah minimal sampel per kelompok adalah 5 ekor tikus.<sup>25</sup> Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Sehingga berdasarkan ketentuan tersebut didapatkan jumlah kelompok adalah empat kelompok dan masing-masing kelompok sebanyak 5 ekor sehingga pada penelitian ini dibutuhkan minimal 20 ekor tikus jantan galur wistar. Pada setiap kelompok ditambah satu ekor tikus sehingga didapatkan total besar sampel sebanyak 24 ekor tikus.

## 4.5 Variabel Penelitian

### 4.3.1 Variabel bebas (Independen)

Jus kubis merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

### 4.3.2 Variabel tergantung (Dependen)

Kadar kolesterol HDL serum dan delta kadar kolesterol HDL.

## 4.6 Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi operasional	Unit	Skala
1	Jus Kubis	Jus yang dibuat dari bahan dasar kubis sebanyak 50 gram dengan cara diambil sarinya dengan <i>juice extractor</i> tanpa penambahan air sehingga didapatkan 25 cc jus kubis diberikan per oral menggunakan sonde lambung diberikan pada kelompok perlakuan dalam dosis bertingkat 2,5 ml, 3,75 ml dan 5 ml. Pemberian jus kubis disondekan 2 kali/hari yang pertama dilakukan pada pukul 09:00 kemudian diberi jeda 1 jam untuk pemberian kedua.	ml	rasio
2	Tikus dislipidemia	Tikus jantan galur wistar umur sekitar 8-12 minggu dengan abnormalitas kadar profil lipid dalam darah setelah pemberian diet kuning telur selama 14 hari, yaitu dengan kriteria kadar kolesterol total >240 mg/dl, kadar trigliserida >200 mg/dl, kadar HDL <35 mg/dl, dan kadar LDL >160 mg/dl. Darah diambil melalui pleksus retroorbitalis tikus.	ekor	nominal

Tabel 4. Definisi operasional variabel (lanjutan)

No	Variabel	Definisi operasional	Unit	Skala
3	Kadar kolesterol HDL serum	Kandungan kolesterol HDL serum yang diukur menggunakan metode <i>precipitation of LDL, VLDL and chylomicrons</i> dengan darah yang diambil melalui pleksus retroorbitalis tikus.	mg/dl	rasio
4	Delta kadar kolesterol HDL	Selisih kadar kolestrol HDL serum dari data pre dan post perlakuan	mg/dl	rasio

## 4.7 Cara Pengumpulan Data

### 4.7.1 Bahan

- 1) Kuning telur ayam
- 2) Kubis (*Brassica Olearacea var.capitata*)
- 3) Pakan dan minum standar tikus

### 4.7.2 Alat

- 1) Kandang untuk hewan coba
- 2) Sonde lambung
- 3) Timbangan merk OHAUSS™
- 4) Gelas ukur
- 5) *Juice extractor*
- 6) Spektrofotometer
- 7) Inkubator
- 8) Mikrotube serum
- 9) Alat untuk sentrifuge

10) Mikrohematokrit

11) Pengaduk

#### 4.7.3 Jenis data

Kadar kolesterol HDL serum setelah pemberian jus kubis merupakan data primer. Data delta kadar kolesterol HDL serum merupakan data sekunder yang diperoleh dengan menghitung selisih dari data pre dan post perlakuan.

#### 4.7.4 Cara kerja

1) Cara pembuatan jus kubis

Kubis dimasukkan ke dalam *juice extractor* kemudian di ekstrak kandungan jus kubisnya tanpa campuran air sehingga didapatkan 50 gram kubis menjadi 25 cc jus kubis. Jus kubis akan diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung.

2) Cara pembuatan diet kuning telur ayam

Kuning telur ayam yang sebelumnya telah dipisahkan dari putih telurnya, dibuat emulsi dengan cara mengocok perlahan. Emulsi kuning telur ayam tersebut kemudian ditimbang, diet kuning telur ditentukan sebesar 3-4% berat badan tikus atau sekitar 3,5 cc ( $\pm$  5 gram), diberikan secara per oral menggunakan sonde lambung selama 14 hari.<sup>26</sup>

3) Perlakuan terhadap hewan coba

a. Pemeliharaan dan pemberian pakan hewan coba

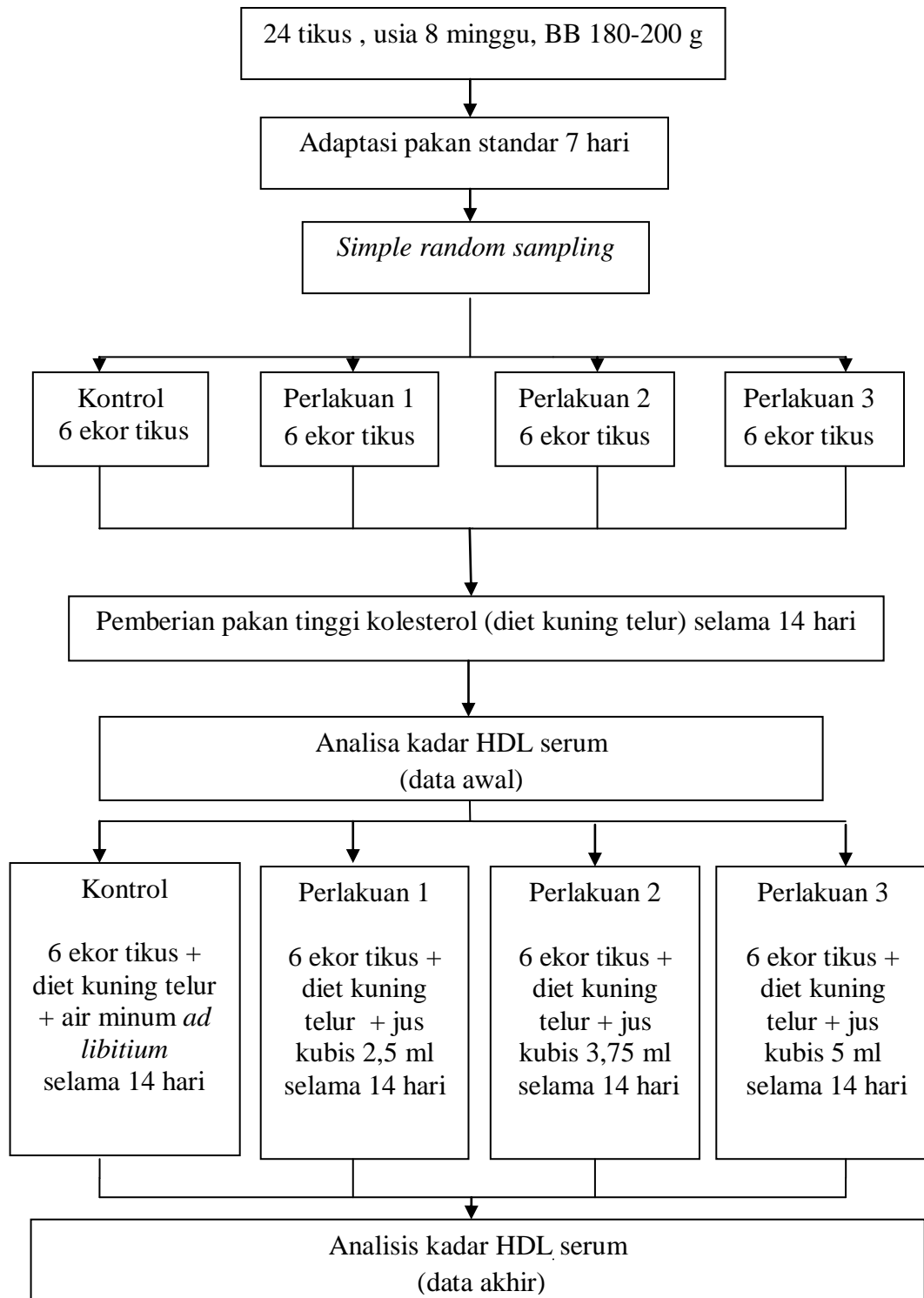
Sebelum diberi perlakuan, seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, diberi pakan standar rodentia dan air minum *ad libitum*. Setelah dilakukan adaptasi, sampel dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. Seluruh sampel diberi pakan tinggi kolesterol selama 14 hari. Kemudian sampel diukur kadar kolesterol HDL serumnya sehingga didapatkan data awal. Pada kelompok kontrol diberikan pakan tinggi kolesterol dan air minum *ad libitum*, kelompok perlakuan 1 diberi perlakuan berupa pakan tinggi kolesterol dan jus kubis sebanyak 2,5 ml, kelompok perlakuan 2 diberi perlakuan berupa pakan tinggi kolesterol dan jus kubis sebanyak 3,75 ml dan kelompok perlakuan 3 diberi perlakuan berupa pakan tinggi kolesterol dan jus kubis sebanyak 5 ml selama 14 hari. Kemudian diukur kadar kolesterol HDL serum setelah 14 hari perlakuan sehingga didapatkan data akhir.

b. Pengambilan data kadar kolesterol HDL serum

Darah diambil dari *plexus retroorbitalis* tikus wistar jantan sebanyak 3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung bersih. Selanjutnya darah diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifuge sampai serum keluar lalu dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol HDL serum. Kadar HDL diukur dengan menggunakan metode *precipitation of LDL, VLDL and*

*chylomicrons*. Kadar kolesterol total diukur dengan metode CHOD-PAP dan trigliserida dengan metode GPO-PAP.<sup>27,28,30</sup>

#### 4.8 Alur Penelitian



Gambar 3. Diagram alur penelitian



#### 4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer. Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro Wilks*. Kemudian dilakukan uji beda antara data pre dan data post pada masing-masing data yang didapat dari kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 menggunakan uji parametrik *paired t-test* jika data terdistribusi normal, tetapi jika didapatkan data yang tidak normal akan menggunakan uji non parametrik dengan uji *Wilcoxon*.

Data delta kadar kolesterol HDL yang diperoleh dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro Wilks*. Kemudian dilakukan uji beda masing-masing pada kelompok kontrol dengan perlakuan 1, kelompok kontrol dengan perlakuan 2, kelompok kontrol dengan perlakuan 3, kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 2, kelompok perlakuan 1 dengan perlakuan 3, dan kelompok perlakuan 2 dengan perlakuan 3. Apabila distribusi data normal uji beda dilakukan dengan uji *one way ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji *Post hoc* jika didapatkan perbedaan yang bermakna pada uji *one way ANOVA*. Apabila distribusi data tidak normal uji beda dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* jika didapatkan perbedaan yang bermakna pada uji *Kruskal-Wallis*.<sup>29</sup>

#### 4.10 Etika Penulisan

*Ethical clearance* diperoleh dari KEPK Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atau RS Dr. Kariadi.

Pada penelitian ini digunakan dua puluh empat ekor tikus wistar jantan, umur 8 minggu, dengan berat badan 180-200 gram, diadaptasi di laboratorium secara berkelompok dan diberi pakan standar selama 7 hari secara *ad libitum*. Perlakuan selama 28 hari diberikan dengan cara disonde. Hewan akan dibunuh dengan cara dislokasi sendi *atlanto-occipital*, kemudian dikubur oleh tenaga ahli dari Laboratorium Biologi Universitas Negeri Semarang (UNNES).

#### 4.11 Jadwal Penelitian

Tabel 5. 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																				■