

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Disiplin ilmu dalam penelitian ini adalah ilmu Biokimia dan Farmakologi.

4.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain penelitian *pre and post test control group design*.

4.3 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajahmada Yogyakarta pada bulan November 2012

4.4 Sampel Penelitian

4.4.1 Kriteria Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus *Sprague Dawley* yang dipelihara di pusat penelitian hewan coba Universitas Gajahmada Yogyakarta.

Kriteria inklusi:

1. Tikus *Sprague Dawley* jantan
2. Umur 6 sampai 8 minggu

3. Berat tubuh 200 - 250 gram
4. Gerak aktif dan tidak terdapat kelainan anatomis
5. Belum pernah digunakan dalam penelitian

Kriteria eksklusi adalah di luar dari kriteria inklusi.

Drop out adalah tikus mati selama masa adaptasi, sebelum pengambilan sampel darah dilakukan, atau pada saat perlakuan.

4.4.2 Besar sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 30 sampel yang terbagi atas 5 kelompok perlakuan, setiap kelompok terdiri atas 6 sampel hewan coba (tikus *Sprague Dawley* jantan). Ketentuan dari *World Health Organization* (WHO) jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ditambah 20% dari pada setiap kelompok perlakuan.

4.4.3 Pengambilan Sampel

Sampel tikus *Sprague Dawley* adalah tikus jantan yang memenuhi kriteria inklusi, pengambilan sampel tikus *Sprague Dawley* jantan secara acak (*randomize*). Sampel dipilih dan dibagi dalam 5 kelompok perlakuan yaitu :

1. Kelompok kontrol (hanya diberi Placebo)
2. Kelompok perlakuan dengan vitamin E dosis 20 mg/kgbb
3. Kelompok perlakuan dengan vitamin E dosis 30 mg/kgbb
4. Kelompok perlakuan dengan vitamin E dosis 40 mg/kgbb

5. Kelompok perlakuan dengan vitamin E dosis 50 mg/kgbb

Pengukuran variabel menggunakan serum darah tikus percobaan. Serum diperoleh dari darah yang diambil dengan pipet hematokrit pada regio *retroorbital* tikus percobaan. Darah *retroorbital* tanpa penambahan antikoagulan segera disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh serum. Kadar total bilirubin kemudian diukur menggunakan spektrofotometri dengan metode *Jendrostik Grof* di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajahmada Yogyakarta.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel Independent : Dosis Vitamin E

Variabel Dependent : Kadar total bilirubin

4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 3. Tabel Definisi Operasional Variabel

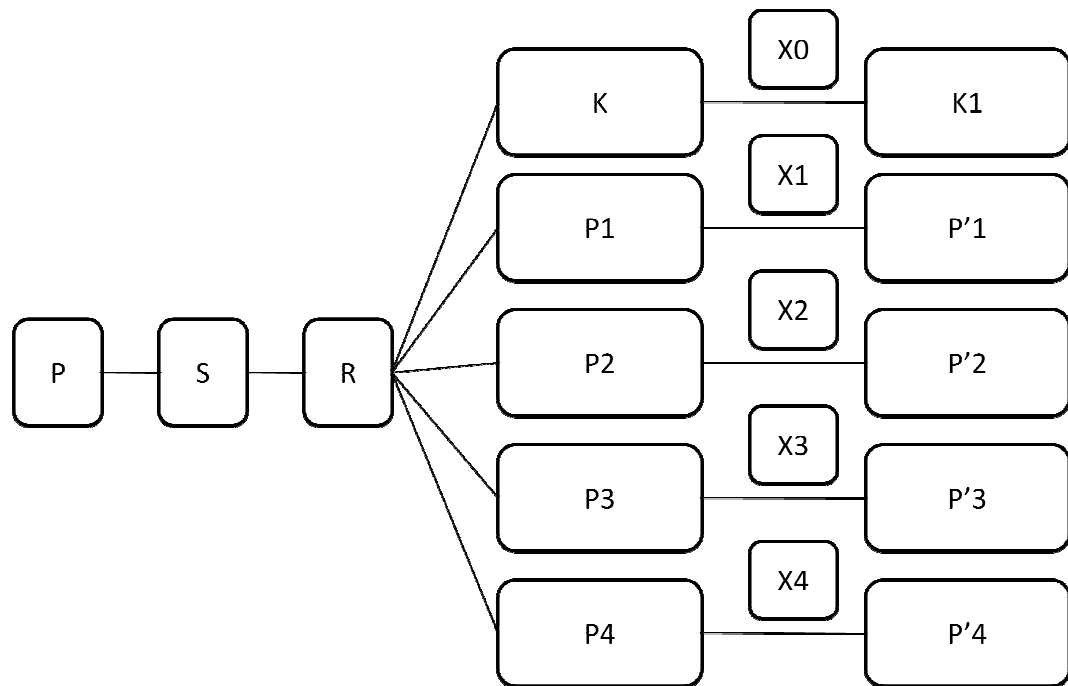
Variabel	Unit satuan	Skala
Dosis vitamin E	Mg/kgbb	Rasio
Dosis parasetamol	Mg/kgbb	Rasio
Kadar total bilirubin	Mg/dl	Rasio

4.7 Prosedur Kerja dan Cara Pengumpulan Data

4.7.1 Rancangan Kerja

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan desain *pre and post test control group design*. Tikus yang telah menjalani adaptasi selama 1 minggu dibagi menjadi 5 kelompok secara acak. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor, kemudian dilakukan pengukuran variabel penelitian sebanyak 2 kali yaitu sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan (*pre test and post test*).

Gambar rancangan penelitian



Gambar 6. Rancangan Penelitian

Tabel 4. Keterangan Rancangan Penelitian

P	Persiapan sampel
S	Sampel setelah adaptasi
R	Randomisasi
X0	Perlakuan untuk kelompok kontrol placebo+paracetamol 1500mg/kgbb.
X1	Perlakuan 1 vitamin E dosis 20mg/kgbb + parasetamol 1500mg/kgbb.
X2	Perlakuan 2 vitamin E dosis 30mg/kgbb + parasetamol 1500mg/kgbb.
X3	Perlakuan 3 vitamin E dosis 40mg/kgbb + parasetamol 1500mg/kgbb.
X4	Perlakuan 4 vitamin E dosis 50mg/kgbb + parasetamol 1500mg/kgbb
K ,P1, P2, P3, P4,	Hasil pengukuran variabel Total Bilirubin sebelum perlakuan.
K1 ,P' 1, P'2, P'3, P'4,	Hasil pengukuran variabel Total Bilirubin setelah perlakuan.

4.7.2 Alat dan Bahan yang Digunakan

1. Tikus *Sprague Dawley* jantan
2. Kandang Hewan coba

3. Pakan: *Comfeed Ayam Advan II*
4. Preparat parasetamol
5. Preparat vitamin E
6. Sonde lambung (untuk perlakuan dan pemberian parasetamol)
7. S spuit injeksi untuk mengambil sampel
8. Perlengkapan pemeriksaan total bilirubin
9. Tabung reaksi
10. Sentrifus
11. Spektrofotometri
12. Alat-alat keperluan pencatatan

4.7.3 Jenis Data

Data yang akan diperoleh adalah data primer yang diperoleh langsung dari hasil pengukuran variabel.

4.7.4 Cara Kerja

Persiapan :

1. Penyusunan Proposal dan revisi proposal
2. Pengurusan *Ethical Clearance* dan Izin Penelitian
3. Persiapan hewan coba dan adaptasi dengan lingkungan penelitian selama seminggu
4. Pembuatan preparat paracetamol dan vitamin E

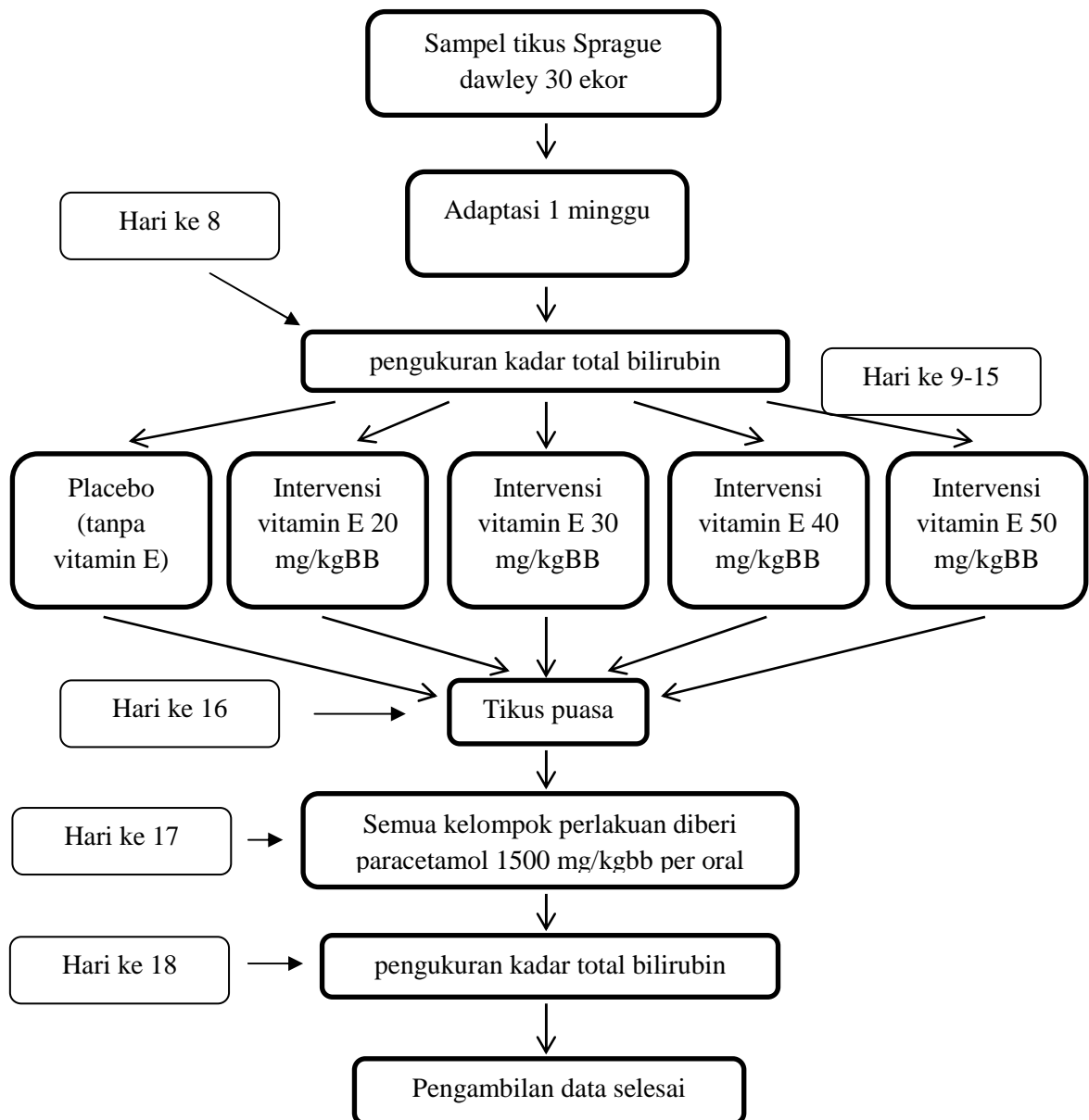
Preparat paracetamol : tablet paracetamol di haluskan kemudian dilarutkan dengan *Sodium Carboxymethyl Celulose* hingga tercampur secara homogen

Preparat vitamin E : menggunakan kapsul vitamin E

Pelaksanaan :

Tikus *Sprague Dawley* jantan diadaptasi terlebih dahulu selama satu minggu. Kemudian dilakukan pengambilan sampel darah sebelum dilakukan perlakuan (*pre test*). Pada hari ke sembilan tikus *Sprague Dawley* diberikan perlakuan sesuai kelompok yang telah dirandomisasi. Perlakuan diberikan vitamin E dengan dosis tersebut selama tujuh hari. Sedangkan kelompok kontrol hanya diberikan placebo. Kemudian pada hari ke 16 tikus dipuaskan dan tetap diberi air minum. Hari ke 18 tikus diberi parasetamol dengan dosis 1500mg/kgbb dan dalam waktu 24 jam dilakukan pengambilan sampel darah kembali untuk mengukur kadar bilirubin total (*post test*). Hasil pengukuran variabel dicatat untuk pengolahan data selanjutnya.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 7 Alur Penelitian

4.9 Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan program komputer SPSS. Uji normalitas data menggunakan *Shapiro –Wilk*. Bila distribusi data normal maka data akan di uji beda menggunakan statistik parametrik *One Way Anova*, jika didapat $P < 0.05$ dilanjutkan dengan uji *Post Hoc*. Apabila distribusi data tidak normal maka data akan ditransformasi terlebih dahulu. Apabila setelah ditransformasi tetap tidak normal maka data akan diuji beda menggunakan statistik non parametrik *Kruskal Wallis*, jika didapat $P < 0.05$ dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney-U*.

Jika nilai $P < 0.05$ maka ada perbedaan bermakna pada rerata nilai masing-masing kelompok perlakuan.

Jika nilai $P > 0,05$ maka tidak ada perbedaan bermakna pada rerata nilai masing-masing kelompok perlakuan.

4.10 Etika Penelitian

Penelitian telah mendapat *ethical clearance* dari Komisi Ethical Clearance Untuk Penelitian Praliniik Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gajahmada Yogyakarta.