

## **BAB 4**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

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

Penelitian ini mencakup bidang Ilmu Kedokteran Forensik dan Medikolegal, serta bidang Ilmu Farmakologi.

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

Penelitian dilaksanakan di dua tempat yaitu Laboratorium Universitas Negeri Semarang untuk pengandangan hewan, ekstraksi bahan sedangkan penelitian selanjutnya akan dilaksanakan di laboratorium forensik akademi kepolisian kota semarang. Penelitian dilaksanakan selama lima bulan, dari bulan April sampai dengan Agustus.

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

Jenis penelitian ini adalah *true experimental* dengan *post test only with control group design*. Perlakuan yang diberikan dengan pemberian ekstrak jamur *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat, sedangkan luaran (*outcome*) adalah deteksi *Psilocin* di dalam urin dengan menggunakan metode GC-MS.

## 4.4 Populasi dan Sampel Penelitian

### 4.4.1 Populasi Sampel

Mencit Swiss Webster jantan

### 4.4.2 Sampel Penelitian

a. Kriteria Inklusi :

- 1) Mencit jantan galur Swiss Webster
- 2) Umur 8 minggu
- 3) Berat badan 20-25 gram
- 4) Kondisi sehat (aktif dan tidak cacat)

b. Kriteria eksklusi :

- 1) Mencit tidak bergerak secara aktif
- 2) Mencit mati selama masa adaptasi
- 3) Bobot mencit menurun (bobot mencit menjadi kurang dari 100 gram)
- 4) Mencit mati selama masa adaptasi dan perlakuan.

### 4.4.3 Cara Sampling

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling*.

### 4.4.4 Besar Sampel

Sampel yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss Webster usia 8 minggu, berat 20-25 gram, dikandangkan dalam kandang dari bahan plastik dan alas serbuk gergaji dengan siklus pencahayaan 12 jam, mendapat makan dan minum *ad libitum* dan suhu kandang 28-32°C. Galur Swiss Webster jantan dipilih karena tidak terdapat hormon estrogen yang dapat mempengaruhi efek pemberian *Psiloybe*

*cubensis* terhadap mencit. Karakteristik mencit ini juga mirip manusia dari data dasar fisiologis.

Penentuan besar sampel menggunakan ketentuan WHO yaitu jumlah minimal pengulangan setiap sampel per kelompok adalah 5 kali.<sup>50</sup> Pada penelitian ini terdapat tiga kelompok perlakuan dan satu kelompok kontrol. Berdasarkan ketentuan tersebut didapatkan jumlah sampel keseluruhan adalah 4 sampel dengan masing-masing dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Pada penelitian ini dibutuhkan minimal 20 ekor mencit jantan galur Swiss Webster.

#### 4.5 Variabel Penelitian

##### 1. Variabel bebas (independen)

Ekstrak *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat.

##### 2. Variabel terikat (dependen)

Deteksi *Psilocybe cubensis* di dalam urin

##### 3. Variabel terkontrol

Galur mencit hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba, pakan hewan coba, kandang individu hewan coba yang berhubungan dengan aktivitas fisik hewan coba dan dapat menampung urin hewan coba, proses pemberian perlakuan, dan berat badan hewan coba.

#### 4.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 2. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
----------	----------------------	------	-------

1. Ekstrak <i>Psilocybe cubensis</i> dosis bertingkat	Sediaan jamur yang dibuat infusa dengan suhu 90°C selama 15 menit.	mg/ kg	Ordinal
2. Deteksi <i>psilocybe cubensis</i> di dalam urin	Diukur dengan menggunakan metode GC-MS	s	Nominal

## 4.7 Cara Pengumpulan Data

### 4.7.1 Bahan Penelitian

- a. Ekstrak *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat
- b. Serbuk gergaji
- c. Pakan dan minum standar mencit

### 4.7.2 Alat Penelitian

- a. Kandang untuk hewan coba
- b. Sonde lambung
- c. Timbangan merk OHAUSS™
- d. Gelas ukur
- e. Kandang khusus untuk menampung urin
- f. Pengaduk
- g. Blender
- h. GC-MS

### 4.7.3 Jenis Data

Pemeriksaan kadar konsentrasi *Psilocybe cubensis* dosis bertahap merupakan data primer.

#### 4.7.4 Cara Kerja

a. Pembuatan ekstrak *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat

Jamur *Psilocybe cubensis* dikeringkan kemudian diserbukan. Serbuk jamur ini kemudian dibuat infusa 10%. Cara pembuatan infusa cukup mudah dan praktis dengan menggunakan alat yang cukup sederhana. Caranya yaitu dengan mencampur serbuk jamur dalam panci air secukupnya, panaskan di atas tangas air selama 15 menit terhitung suhu mencapai 90° C sambil sekali-sekali diaduk. Serkai (saring) selagi panas melalui kain flanel, tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infusa yang dikehendaki.

b. Perlakuan terhadap hewan coba

Seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, diberi pakan standar rodentia dan minum air *ad libitum*. Selanjutnya sampel pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 diberi perlakuan berupa pemberian ekstrak *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat, sedangkan pada kelompok kontrol tidak diberikan apapun. Dosis pemberian didasarkan pada dosis *Psilocybe cubensis* yang dapat memberikan tingkatan efek *psychedelik* pada manusia yaitu untuk efek ringan dosisnya adalah dari 0,25 gram - 1 gram *Psilocybe cubensis* untuk efek moderat dosisnya adalah 1 gram - 2,5 gram *Psilocybe cubensis*, dan 2,5 gram - 5 gram *Psilocybe cubensis* untuk efek kuat. Kemudian dosis ini dikonversikan dengan Human Equivalent Doses (HED dalam mg / kg) = Dosis Hewan (mg / kg) × Hewan Km ÷ Km Manusia, di mana Km adalah faktor koreksi yang mencerminkan hubungan antara berat badan dan luas permukaan tubuh. Untuk orang dewasa yang khas (berat badan 60 lb, luas permukaan tubuh 1,6 m<sup>2</sup>) Km adalah 37. Untuk

spesies laboratorium yang paling sering digunakan hewan Km rata-rata adalah sebagai berikut:

Tabel3.Km rata-rata berbagai spesies.<sup>51</sup>

<i>Mouse</i>	<b>3</b>
<i>Rat</i>	<b>6</b>
<i>Guinea Pig</i>	<b>8</b>
<i>Rabbit</i>	<b>12</b>
<i>Dog</i>	<b>20</b>
<i>Human Adult</i>	<b>37</b>

Berdasarkan perbandingan luas permukaan tubuh dosis 0,5; 1,0; dan 2,0 g/kg bb pada mencit ini setara dengan dosis 0,06; 0,12; dan 0,24 g/kg bb pada manusia.<sup>50</sup>

Maka, berdasarkan tabel tersebut, perhitungan dosis didapatkan:

1) Dosis ringan:

$$\text{PAD: } \frac{0,06 \times 37}{3} = 0,74 \sim 0,75 \text{ g/kg}$$

2) Dosis sedang:

$$\text{PAD: } \frac{0,12 \times 37}{3} = 1,48 \sim 1,5 \text{ g/kg}$$

3) Dosis berat:

$$\text{PAD: } \frac{0,24 \times 37}{3} = 2,96 \sim 3 \text{ g/kg}$$

Pemberian dosis 60 menit sebelum dilakukan uji penelitian dengan metode GC-MS, kemudian dilakukan uji konsentrasi urin dengan metode GC-MS yang dilaksanakan antara jam 09.00 dan 17.00. Mencit dimasukkan kedalam kandang plastik secara berkelompok berukuran (10,5 x 6 x 6 cm) sesuai pemberian dosis.

Mencit swiss Webster dikelompokkan menjadi 4 kelompok atau kandang, disetiap kandang terdapat wadah yang digunakan untuk menampung urin sehingga setelah perlakuan, urin tersebut dapat tertampung, kemudian akan diperiksa dengan menggunakan metode GC-MS.

c. Prinsip kerja GC-MS

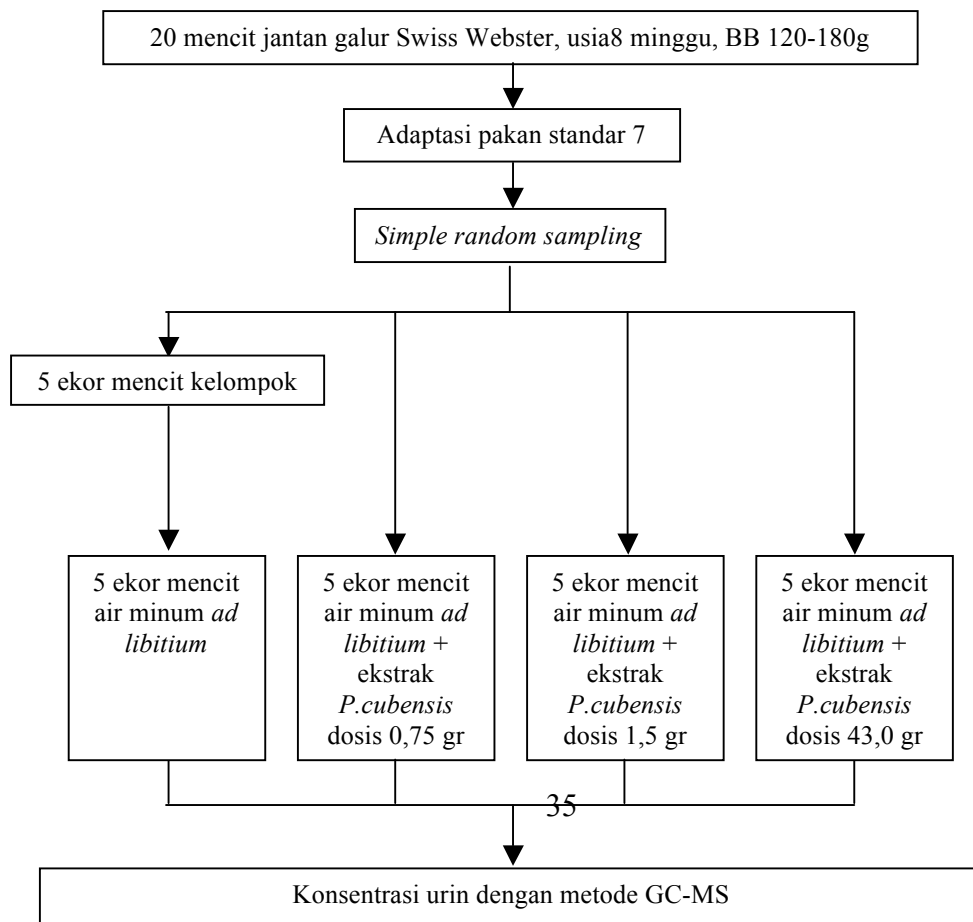
Kombinasi antara GC dengan MS, akan didapatkan sebuah metode analisis yang sangat bagus. Peneliti dapat menganalisis larutan organik, memasukkannya ke dalam instrumen, memisahkannya menjadi komponen tinggal dan langsung mengidentifikasi larutan tersebut. Selanjutnya, peneliti dapat menghitung analisa kuantitatif dari masing-masing komponen. Pada Gambar 4, sumbu z menyatakan kelimpahan senyawa, sumbu x menyatakan spektrum kromatografi, dan sumbu y menyatakan spektrum spektroskopi massa. Untuk menghitung masing-masing metode dapat divisualisasikan ke dalam grafik dua dimensi.

Pada metode analisis GC-MS (Gas Cromatografy Mass Spektroskopy) adalah dengan membaca spektra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa, yaitu terlihat dari banyaknya puncak (*peak*) dalam spektra GC tersebut. Berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel.

d. Pengambilan data

Pengambilan data dilakukan setelah urin yang mengandung *Psilocybe cubensis* dimasukkan ke dalam alat GC-MS dan kemudian hasil akan keluar berupa nominal atau angka langsung.

#### 4.8 Alur Penelitian



**Gambar 4. Alur Penelitian**

**4.9 Analisis Data**

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer. Data tersebut diujinormalitasnya dengan uji Saphirowilks. Perbedaan aktivitas motorik pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dianalisis dengan uji parametrik *indepent t test*, dan apabila data tidak normal maka dilakukan transformasi data. Apabila data masih tidak normal dilakukan uji *nonparametric mannwhitney*.

**4.10 Etika Penelitian**

*Ethical clearance* diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang/RS.Dr. Karyadi Semarang dan telah disetujui.

**4.11 Jadwal Penelitian**

**Tabel 4. 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
StudiLiteratur	■	■	■	■	■	■	■	■												
Penyusunan proposal	■	■	■	■	■	■	■	■												
Seminar Proposal									■											
Persiapan peminjaman									■	■	■									

