

BAB IV

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. Yang pertama yaitu di Laboratorium Universitas Negeri Semarang untuk pengandangan hewan, ekstraksi bahan dan uji penelitian. Dan yang kedua di laboratorium forensik AKPOL. Penelitian ini telah dilakukan sejak bulan april sampai bulan 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 menilai kadar psilocin dalam plasma dengan metode GC-MS (gas chromatografi mass spectrum)

4.4.1 Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1 Populasi Target Penelitian

Mencit Swiss Webster Jantan

4.4.2 Populasi Terjangkau Penelitian

Populasi terjangkau penelitian ini adalah mencit Swiss Webster jantan, umur 8 minggu, berat 20-25 gram, sehat, dan tidak ada kelainan anatomi, yang diperoleh dari Universitas Negeri Semarang.

4.4.3 Sampel Penelitian

1) 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)

2) 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.

4.4.4 Cara Sampling

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling*.

4.4.5 Besar Sampel

Sampel yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss Webster usia 8 minggu, berat 20-25 gram, dikandangkan dalam kandang dari bahan 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 esterogen 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 kali³⁸. 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

4.5.1 Variabel bebas (independen)

Ekstrak *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat.

4.5.2 Variabel terikat (dependen)

Deteksi psilocin dalam plasma.

4.5.3 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, proses pemberian perlakuan yang berhubungan dengan perilaku motorik pada hewan coba, 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	katégorik
2. Deteksi psilocin dalam plasma	Diukur dengan metode GC-MS	s	katégorik

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. spuit 5cc
- f. Stop watch
- g. Pengaduk
- h. GC-MS

4.7.3 Jenis Data

Deteksi psilocin dalam plasma setelah pemberian ekstrak jamur *Psilocybe cubensis* dosis bertingkat merupakan data primer.

4.7.4 Cara Kerja

1) 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 di kehendaki.

2) Perlakuan terhadap hewan coba

Seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari, diberi pakan standar rodentia dan minum air *ad libithum*. Selanjutnya sampel pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 diberi perlakuan berupa pemberian ekstrak jamur *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 m²), Km adalah 37. Untuk spesies laboratorium yang paling sering digunakan hewan Km rata-rata adalah sebagai berikut:

Tabel 3. Km rata-rata berbagai spesies³⁹.

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

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.⁵⁰

Maka, berdasarkan tabel tersebut, perhitungan dosis didapatkan:

1. Dosis ringan:

$$\text{PAD: } \frac{0,06 \times 37}{3} = 0,74 \sim 0,5 \text{ g/kg}$$

2. Dosis sedang:

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

3. Dosis berat:

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

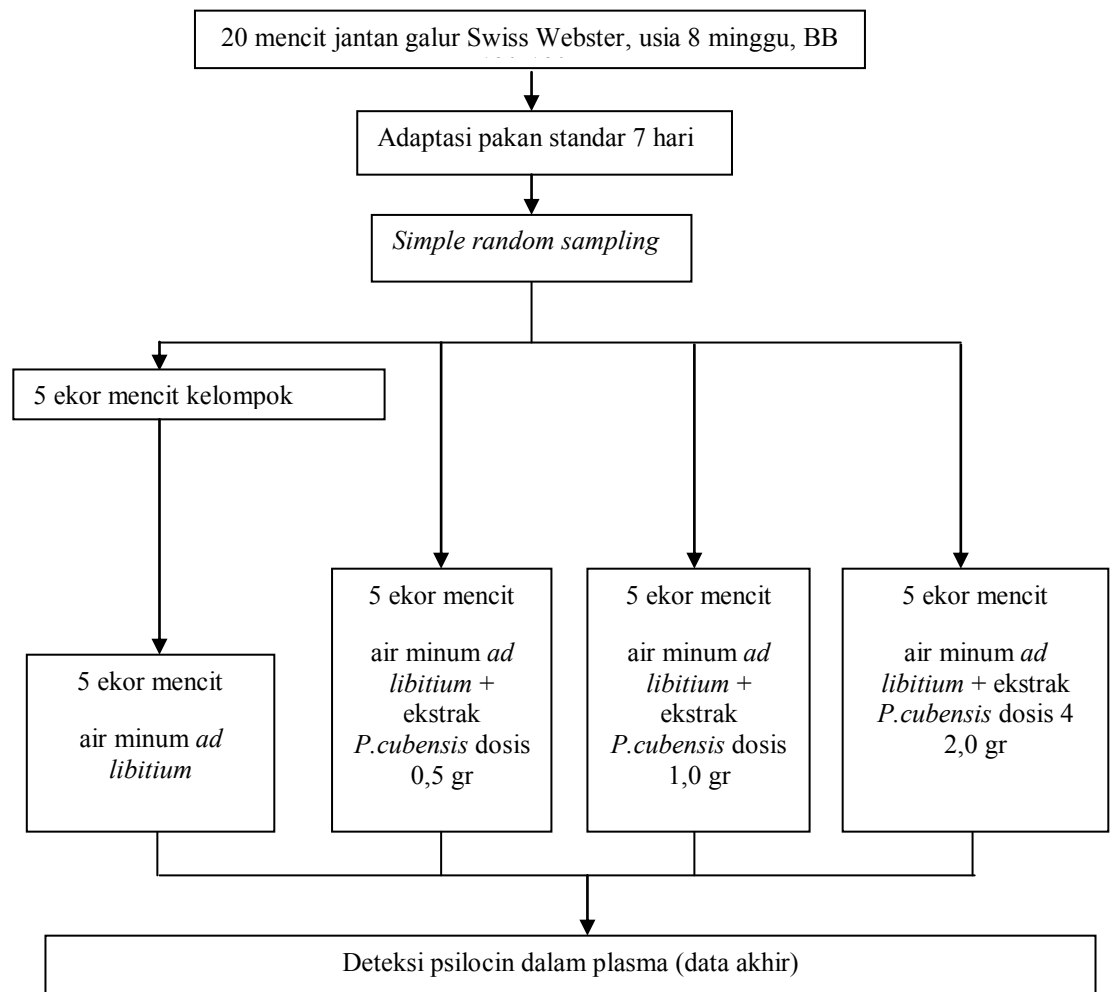
Pemberian dosis 60 menit sebelum dilakukan uji penelitian dengan HPLC, kemudian dinilai hasilnya yang dilaksanakan antara jam 09.00 dan 17.00 .

3) Pengambilan data

Data analisis GC-MS

Data diambil setelah dilakukan pemeriksaan dengan metode GC-MS. Hasil data analisa akan muncul pada layar GC-MS dalam bentuk grafik beserta nama senyawa yang terdeteksi.

4.8 Alur Penelitian



Gambar 4. Diagram alur penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang diperoleh diolah dengan program komputer. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Saphiro wilks*. Perbedaan aktivitas motorik pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol dianalisis dengan uji parametrik *independent t test*, dan apabila data tidak normal maka dilakukan transformasi data. Apabila data masih tidak normal dilakukan uji *non parametric mannwhitney*.

4.10 Etika Penelitian

Ethical clearance akan diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang/RS. Dr. Karyadi Semarang setelah proposal ini 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
Studi Literatur	■	■	■	■	■	■	■													
Penyusunan proposal	■	■	■	■	■	■	■													
Seminar Proposal								■												
Persiapan peminjaman laboratorium							■	■	■											
Persiapan alat dan bahan									■	■										
Penelitian											■	■	■	■	■	■				
Analisis data dan Evaluasi																	■	■		
Penulisan Laporan																	■	■	■	■
Seminar Hasil																				■