

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian

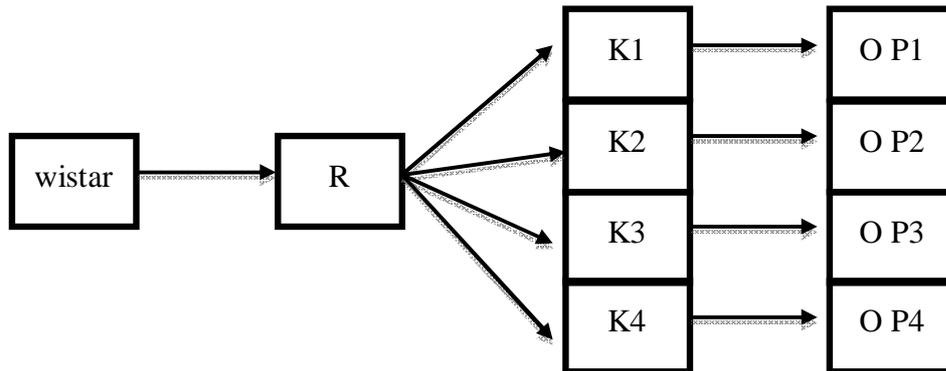
Penelitian ini adalah penelitian di bidang Biokimia, Gizi dan Farmakologi.

4.2. Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi FK UNDIP untuk pengandangan hewan coba, pembuatan ekstrak tape ubi ungu dilakukan di laboratorium Kimia Organik Fakultas Sains dan Matematika UNDIP, laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Negeri Semarang untuk pengambilan sampel darah dan perlakuan renang. Pemeriksaan dan analisis kadar AST dan ALT darah dilakukan di Laboratorium kimia organik Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan dimulai dari tahap penyusunan proposal.

4.3. Jenis Dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan desain *post test only control group design* pada tikus. Perlakuan yang diberikan yaitu dengan memberikan ekstrak tape ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.) dan pemberian aktivitas fisik maksimal, sedangkan keluarannya (*outcome*) adalah kadar AST dan ALT darah tikus.



Gambar 4. Skema Desain Penelitian

Keterangan:

R : Randomisasi.

K1 : Kontrol negatif yang diberi pakan standar dan sonde aquades selama 7 hari

K2 : Kontrol positif yang diberikan pakan standar dan sonde aquades selama 7 hari kemudian pada hari ke-8 diberikan aktivitas fisik maksimal.

K3 : Kontrol positif yang diberi pakan standar dan disonde ekstrak tape ubi ungu selama 7 hari.

K4 : Kelompok perlakuan yang diberikan pakan standar dan disonde ekstrak tape ubi ungu selama 7 hari kemudian pada hari ke-8 diberikan aktivitas fisik maksimal.

O P1 : Kadar AST dan ALT darah kelompok K1

OP2 : Kadar AST dan ALT darah kelompok K2

OP3 : Kadar AST dan ALT darah kelompok K3

OP4 : Kadar AST dan ALT darah kelompok K4

4.4. Populasi Dan Sampel

4.7.1. Sampel

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 24 ekor tikus wistar yang dikandangkan dalam kandang individual yang terbuat dari bahan *stainless steel* dengan siklus pencahayaan 12 jam, mendapat makan dan minum *ad libitum* dan suhu kandang 28-32°C. Tikus jantan dipilih karena memiliki karakteristik fisiologis dan metabolisme hampir sama dengan manusia. Sampel penelitian yang digunakan memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

Kriteria Inklusi

- Tikus wistar jantan
- Berat badan tikus normal (150-220 gram)
- Usia 7 minggu sebelum dilakukan adaptasi

Kriteria Eksklusi

- Pada pengamatan visual tikus tampak tidak aktif dan sakit

Kriteria Drop Out

- Tikus mengalami penurunan berat badan $> 10\%$ (berat badan kurang dari 150 gram)
- Mengalami diare selama masa penelitian
- Perubahan perilaku (tidak mau makan, lemas)
- Tikus mati saat penelitian.

4.7.2. Cara Sampling

Sampel didapatkan dengan mengalokasikan kelompok berdasarkan cara *random sampling allocation*.

4.7.3. Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan kriteria WHO *dalam Research Guideline for Evaluating The Safety and Efficacy of Herbal Medicines*, yaitu jumlah minimal 5 ekor tiap kelompok.

Penelitian ini menggunakan 6 ekor tikus wistar untuk setiap kelompok perlakuan sebagai antisipasi apabila terdapat tikus yang *drop out* saat adaptasi dan perlakuan. Terdapat satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan, sehingga berdasarkan ketentuan tersebut didapatkan jumlah sampel keseluruhan adalah 24 sampel.

4.5. Variabel Penelitian

4.7.1. Variabel Bebas

- Ekstrak tape ubi ungu (*Ipomoea batatas* L.)

4.7.2. Variabel Tergantung

- Kadar AST dan ALT darah

4.6. Definisi Operasional

Tabel 4. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Unit	Skala
1.	Ekstrak tape ubi ungu	Ubi ungu yang difermentasikan dengan ragi tape 0,5% selama 36 jam kemudian di ekstrak dengan metode maserasi (ekstrak dingin).	ml	Nominal
2.	Kadar AST/ALT	Parameter kerusakan sel hepar yang dapat diukur dalam darah. Pemeriksaan kadar AST dan ALT dengan metode IFCC tanpa Pyridoxal Phosphate 37 ⁰ C	IU/L	Rasio

4.7. Cara Pengumpulan Data

4.7.1. Alat

- a. Kandang tikus
- b. Sonde lambung
- c. Timbangan
- d. Tabung reaksi
- e. Scalpel
- f. Gunting tajam
- g. Bak lilin
- h. Mikropipet 100 ul
- i. Stop watch/ timer
- j. Rak tabung reaksi

- k. Spectrofotometer
- l. Sentrifuse
- m. Tabung eppendorf
- n. Kain kasa
- o. Kertas saring Whatman no 1
- p. Pemanas/kompor

4.7.2. Bahan

- a. Tikus jantan
- b. Ransum pakan standar untuk hewan coba
- c. Ekstrak tape ubi ungu

4.7.3. Jenis Data

Pemeriksaan kadar AST dan ALT setelah pemberian ubi ungu pada tikus pasca aktivitas fisik maksimal merupakan data primer yang bersifat kuantitatif.

4.7.4. Cara Kerja

1. Aktivitas Fisik Maksimal

Perlakuan aktivitas fisik maksimal berupa renang maksimal pada tikus sampai hampir tenggelam atau nampak tanda-tanda kelelahan berupa tenggelamnya hampir semua badan kecuali hidung dan melemahnya gerakan anggota gerak serta menurunnya waktu reaksi. Lamanya renang berkisar antara 45-50 menit

2. Pembuatan Ekstrak Tape Ubi Ungu

Tape ubi ungu dibuat dengan langkah sebagai berikut : ubi ungu disortasi untuk mendapat ubi yang bermutu baik, kemudian dikupas dan dibuang kulitnya, dipotong menjadi 2 bagian, dicuci dengan air mengalir dan dikukus selama 30 menit, setelah dingin difermentasi dengan ragi tape 0,5% dari berat bahan selama 36 jam pada suhu kamar (28-30⁰C). Ekstraksi tape ubi ungu dibuat dengan metode maserasi kemudian dilanjutkan dengan evaporasi agar alkohol yang terkandung dalam hasil ekstraksi dapat menguap. Proses pembuatan ekstrak tape ubi dimulai dengan membuat bubur tape ubi ungu. Kemudian bubur tape ubi dimasukan kedalam erlenmeyer, ditambahkan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan : pelarut (1:4), ditambah 8% asam sitrat, diekstraksi secara maserasi dengan waktu ekstraksi 18 jam. Setelah itu pelarut diuapkan dengan evaporator sampai larutan bebas pelarut.

3. Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Seluruh sampel dikandangan secara berkelompok di laboratorium Parasitologi FK UNDIP. Selama penelitian, wistar mendapat pakan dan minum standar yang sama. Untuk adaptasi, selama 7 hari seluruh wistar hanya diberi pakan dan minum standar *ad libitum*. Pada hari ke-8, wistar dibagi secara acak ke dalam 4 kelompok yaitu, K1 : Kontrol negatif yang diberi pakan standar dan sonde aquades selama 7 hari, K2 : Kontrol positif yang

diberikan pakan standar dan sonde aquades selama 7 hari dan diberi aktivitas fisik maksimal di hari ke-8, K3 : Kontrol positif yang diberi pakan standar dan ekstrak tape ubi ungu selama 7 hari, K4 : Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak tape ubi ungu dan pakan standar selama 7 hari dan diberikan aktivitas fisik maksimal pada hari ke-8. Perlakuan aktivitas fisik maksimal dan pengambilan sampel darah dilakukan di laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Matematika UNNES. Pemberian ekstrak tape ubi ungu sebesar 3,5 ml sesuai dengan faktor konversi dari mencit ke tikus, dimana pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa pemberian 0,5 ml ekstrak ubi ungu tanpa fermentasi berhasil menurunkan kadar MDA darah mencit secara signifikan.

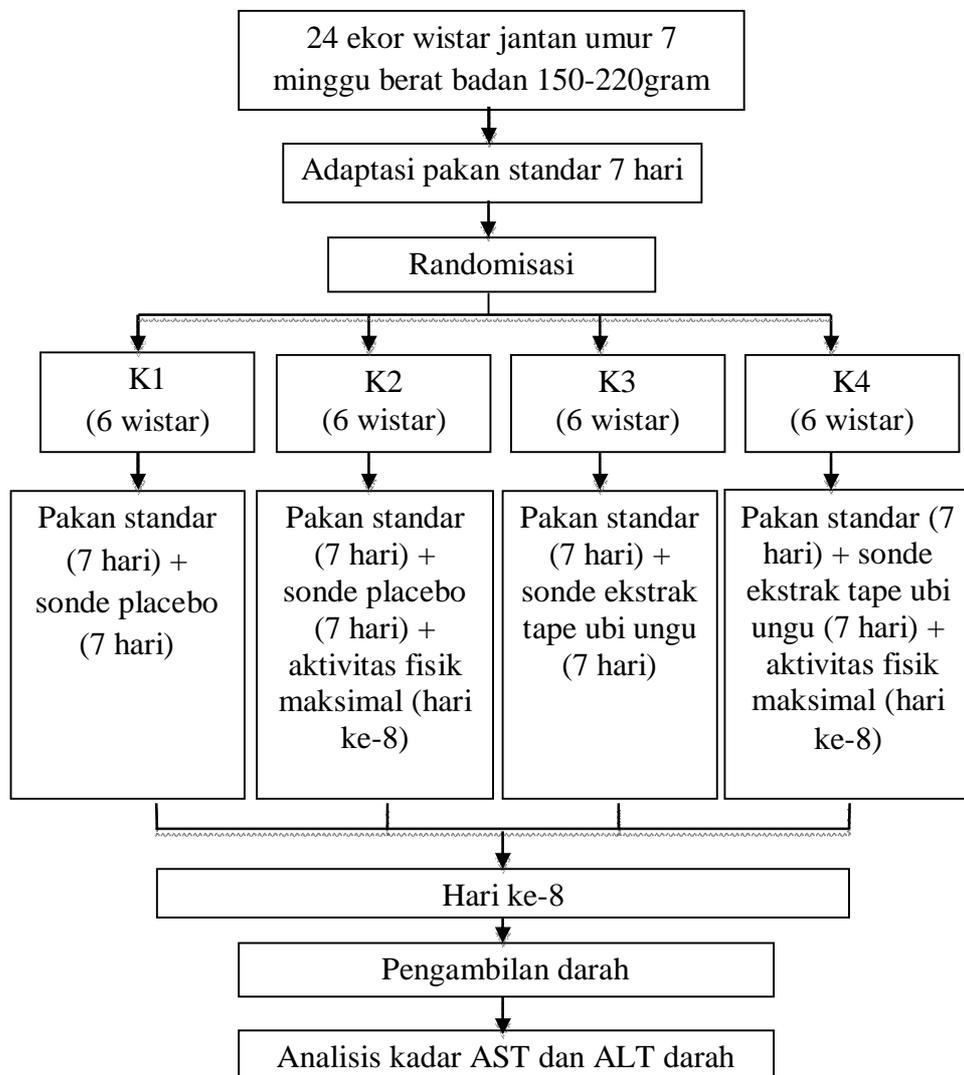
Perlakuan dilakukan per hari mulai hari ke-1 sampai ke-7. Pada hari ke-8 dilakukan pengambilan sampel darah untuk kelompok K1, K2, K3 dan K4.

4.7.5. Pengambilan Data

Pengambilan darah tikus melalui medial canthus sinus orbitalis. Sampel darah sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan untuk mendapatkan serumnya. Tabung reaksi yang berisi darah tanpa antikoagulan dibiarkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Serum di atas sel-sel darah yang menggumpal selanjutnya diambil dengan pipet mikro dan

dimasukkan ke dalam tabung ependorf. Serum dibaca kadar AST dan ALT dengan metode IFCC (international Federation of Clinical Chemistry) tanpa Pyridoxal Phosphate 37⁰C. Skala yang digunakan adalah skala rasio.

4.8. Alur Penelitian



Gambar 5. Diagram Alur Penelitian

4.9. Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS 18. *for Windows*. Data primer yang didapatkan dilakukan uji normalitas data dengan uji *Shapiro-Wilk* untuk melihat sebaran distribusi data dan uji *Levene's test* untuk melihat homogenitas data. Apabila data berdistribusi normal dilakukan uji *one way Anova* untuk menganalisis perbedaan antar kelompok, bila terdapat perbedaan yang bermakna akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk uji perbedaan 2 kelompok. Apabila data tidak berdistribusi normal dilakukan uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*, dengan nilai derajat kemaknaan adalah apabila $p \leq 0,05$ pada interval kepercayaan 95%.

4.10. Etika Penelitian

Telah dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP Dr. Kariadi Semarang.

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	■	■																		
Survei Laboratorium			■	■																
Penulisan Proposal			■	■	■	■	■													
Seminar Proposal								■												
Revisi Proposal									■	■										
Penelitian												■								
Analisis data dan Evaluasi													■	■						
Penulisan Laporan															■	■	■	■	■	
Seminar Laporan																				■