

### BAB III

## METODE PENELITIAN

### 3.1. Ruang Lingkup Penelitian

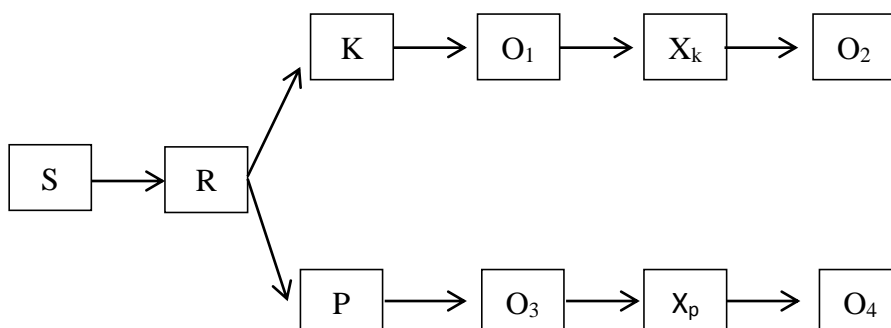
Ruang lingkup penelitian adalah anestesiologi khususnya terapi *intensive*.

### 3.2. Tempat dan Waktu

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Biologi UNES Semarang dimulai bulan Februari sampai April 2016.

### 3.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan *randomized control group pre-post test* dengan tujuan mengetahui pengaruh pemberian melatonin tablet via sonde terhadap kadar asam laktat pada model sepsis tikus wistar jantan. Sampel dibagi menjadi 2, yaitu kelompok kontrol (K) dan kelompok perlakuan (P).



**Gambar 6.** Rancangan penelitian

Keterangan :

S : Sampel

R : Randomisasi

K : Kelompok Kontrol

O<sub>1</sub> : Kelompok Kontrol yang diberi injeksi LPS dan placebo (aquadest)

X<sub>k</sub> : Kelompok Kontrol yang tidak mendapat melatonin

O<sub>2</sub> : Kadar Asam Laktat Kelompok Kontrol

P : Kelompok Perlakuan

O<sub>3</sub> : Kelompok Kontrol yang diberi injeksi LPS

X<sub>p</sub> : Kelompok Kontrol yang mendapat melatonin

O<sub>4</sub> : Kadar Asam Laktat Kelompok Perlakuan

### **3.4. Sampel**

Sampel penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang diambil dengan random alokasi yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

#### **3.4.1 Kriteria Inklusi**

- a. Tikus wistar jantan
- b. Umur 2-3 bulan
- c. Berat badan 150-300 gram
- d. Tidak tampak kelainan anatomis
- e. Tampak aktif selama masa adaptasi

#### **3.4.2 Kriteria Eksklusi**

- a. Tikus tampak sakit sebelum perlakuan (gerakan tidak aktif).
- b. Tampak terdapat kelainan anatomi.

### 3.4.3 Cara Sampling

Pemilihan subjek penelitian secara acak berdasarkan tabel angka *random*.<sup>50</sup>

### 3.4.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan ketentuan WHO yaitu minimal 5 ekor dan cadangan 2 ekor tikus tiap kelompok.<sup>51</sup> Pada penelitian ini jumlah tikus wistar jantan untuk setiap perlakuan sebanyak 6 ekor, sehingga jumlah tikus wistar jantan yang dibutuhkan adalah 12 ekor.

### 3.5. Kriteria Drop Out

Apabila tikus mati saat penelitian. Apabila ada kemungkinan terjadi *drop out* yang besarnya diperkirakan sebesar 10% (DO = 0,1), maka besar sampel dengan koreksi *drop out* adalah :

$$n_{do} = \frac{n}{1 - do} = \frac{5}{1 - 0,1} = 5,56 \approx 6$$

### 3.6. Cara Randomisasi

Alokasi sampel ke dalam kelompok dengan cara randomisasi sederhana berdasarkan tabel angka *random*.<sup>50</sup>

### 3.7. Variabel Penelitian

#### 3.7.1 Variabel Bebas

Pemberian suplementasi melatonin.

#### 3.7.2 Variabel Terikat

Kadar asam laktat tikus wistar.

### 3.8. Definisi Operasional

**Tabel 3.** Definisi Operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Melatonin Administrasi secara parenteral (injeksi intraperitoneal) melatonin dosis 4 mg/tikus 200 g 6 jam pasca injeksi LPS pada kelompok perlakuan, sedangkan pada kelompok kontrol tidak diberi melatonin tetapi diberi placebo.	mg	Nominal
2.	Kadar asam laktat Masing-masing kelompok dilakukan pengambilan darah melalui pembuluh darah vena tikus wistar. Kadar asam laktat diperoleh melalui pemeriksaan darah menggunakan alat strip test.	mmol/L atau mg/dl	Rasio

### 3.9. Alat, Bahan dan Cara Kerja

#### 3.9.1 Alat

- a. Blade
- b. Kaliper
- c. Tabung
- d. Sput

#### 3.9.2 Bahan

- a. Tikus wistar jantan
- b. Melatonin

Dosis : 4 mg/tikus 200 g dalam pengenceran aquadest 4 ml

Merk : Sea-Quill

Produksi : Amerika Serikat

c. LPS

Jenis kuman : *E.coli serotype O55*

Pengenceran : Diencerkan dengan aquadest 2 ml

Dosis : 2 mg/tikus 200 g

Penyimpanan : 2-8°C

Merk : Sigma-Aldrich

Produksi : Israel

d. Plasebo

e. Betadine

### 3.9.3 Jenis Data

Data yang didapatkan adalah data primer yang berasal dari pembacaan hasil pemeriksaan laboratorium kadar asam laktat darah tikus wistar.

### 3.9.4 Cara Kerja

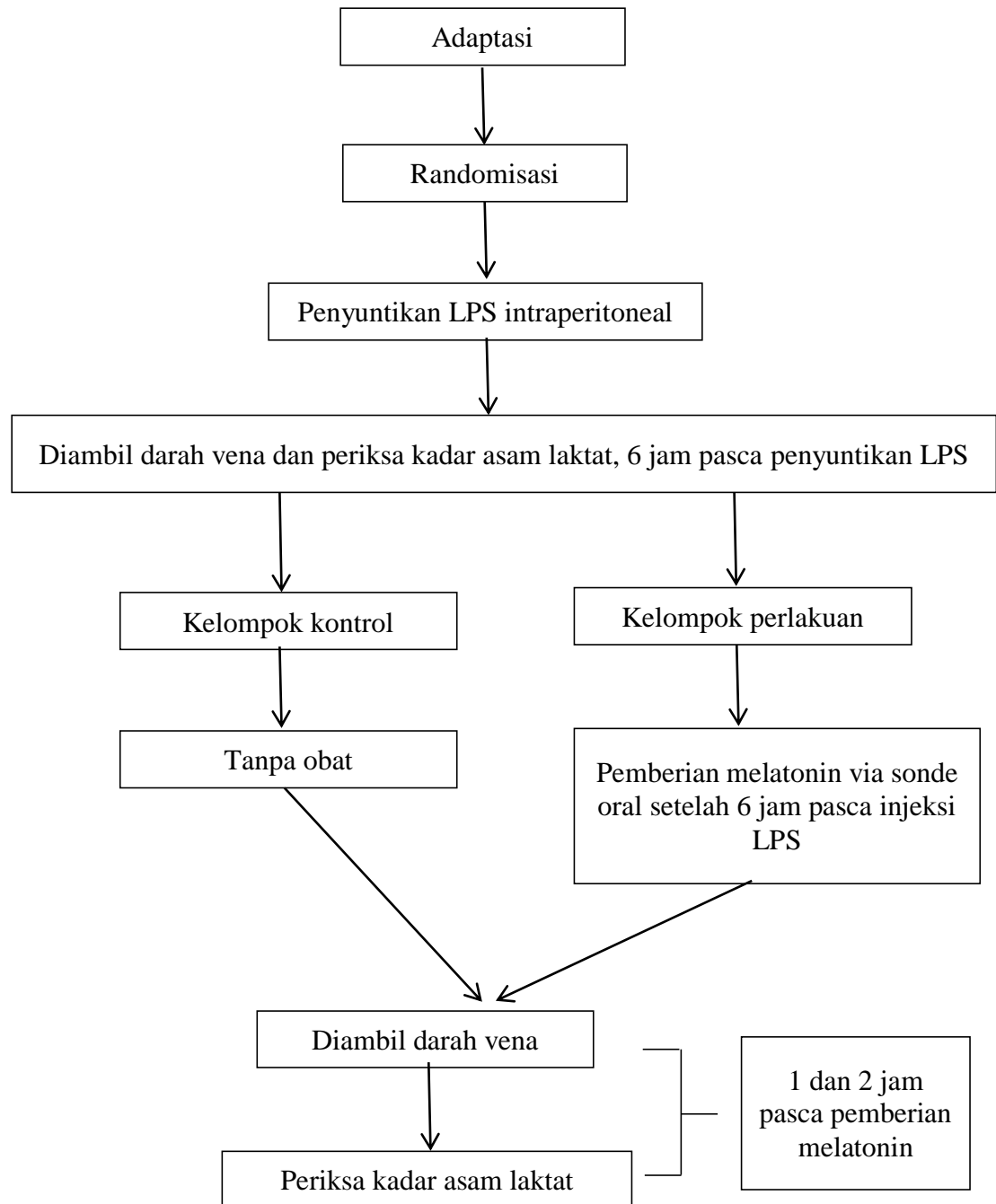
- a. Sebanyak 12 ekor tikus wistar jantan umur 2-3 bulan yang berasal dari Fakultas Biologi Universitas Negeri Semarang diadaptasikan selama 7 hari dengan dikandangkan dan diberi pakan pelet 594 dan minum air secara *ad libitum*.
- b. Semua tikus wistar jantan mendapat perlakuan sama dengan dibuat model sepsis. Tikus diberi injeksi LPS intraperitoneal 2 mg/tikus 200 g.
- c. Setelah 6 jam, kedua kelompok tikus wistar diambil darah vena untuk pengecekan kadar asam laktat saat kondisi sepsis.

- d. Tikus wistar kelompok P diberikan suplementasi melatonin via sonde oral dengan dosis 4 mg/tikus 200 g.
- e. 1 dan 2 jam pasca pemberian melatonin, seluruh kelompok dilakukan pemeriksaan kadar asam laktat.
- f. Kualitas sampel penelitian dikontrol dengan perawatan hewan coba sebagai berikut :
- 1) Tikus wistar jantan ditempatkan pada kandang khusus, dimana setiap kandang berisi 3-4 ekor tikus wistar jantan.
  - 2) Kandang hewan coba dibersihkan secara teratur dengan frekuensi dan kebersihan yang sama.
  - 3) Kandang hewan coba mendapat ventilasi dan pencahayaan yang memadai dengan kualitas yang sama untuk setiap kandang.
  - 4) Pakan dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Jenis pakan adalah pakan standar tikus wistar jantan berupa pelet 594.

**Tabel 4.** Konversi dosis manusia dan antarjenis hewan<sup>52</sup>

	Mencit (20 g)	Tikus (200 g)	Marmot (400 g)	Manusia (70 kg)
Mencit (20 g)	1,0	7,0	12,25	387,9
Tikus (200 g)	0,14	1,0	1,74	56,0
Marmot (400 g)	0,08	0,57	1,0	31,5
Manusia (70 kg)	0,0026	0,018	0,031	1,0

### 3.10. Alur Penelitian



**Gambar 7.** Alur Kerja Penelitian

### 3.11. Analisis Data

Setelah terkumpulnya data, dilakukan data *cleaning*, *coding*, dan *tabulasi*. Data diolah menggunakan program komputer kemudian dianalisa dalam bentuk rerata, standar deviasi, dan grafik. Data yang telah diolah dengan program komputer dilihat distribusinya apakah normal atau tidak dengan uji *Saphiro-Wilk*. Bila distribusi datanya normal, diuji beda dengan menggunakan statistik uji *parametric Paired t-Test* dan *Independent t-Test*. Bila distribusi datanya tidak normal, diuji beda dengan menggunakan statistik uji *non-parametric Mann-Whitney Rank Test*.<sup>53</sup>

- a. Jika  $p < 0,05$ ; maka ada perbedaan yang bermakna
- b. Jika  $p > 0,05$ ; maka tidak ada perbedaan yang bermakna

### 3.12. Etika Penelitian

Protokol penelitian akan dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Kariadi Semarang.



### 3.13. Jadwal Penelitian

**Tabel 5.** Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan (tahun 2015-2016)						
	Nov	Des	Jan	Feb	Mar	April	Mei
Studi literatur							
Penyusunan proposal							
Seminar proposal							
<i>Ethical clearance</i>							
Persiapan alat dan bahan							
<i>Screening</i> dan pengumpulan data							
Analisis data dan penyusunan hasil							
Seminar hasil							