

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini memiliki ruang lingkup pada ilmu Farmakologi dan Biokimia.

#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

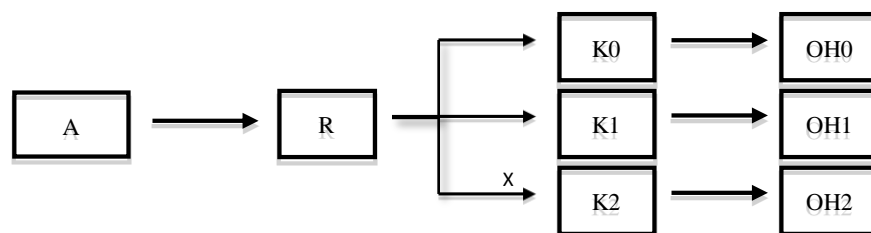
Tempat : Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT)  
 Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.  
 Laboratorium Kimia Fakultas Kedokteran  
 Universitas Diponegoro, Semarang

Waktu : Maret - Mei 2016

#### 3.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini berjenis *True Experimental* dengan rancangan *Post Test Only Control Group Design* yang menggunakan binatang coba sebagai subjek penelitian. Perlakuan yang diberikan yaitu ekstrak jintan hitam pada tikus Sprague Dawley yang diberi paparan asap rokok.

**Gambar 7.** Rancangan penelitian



Keterangan :

A : Adaptasi. Sampel hanya akan diberi pakan standar dan air minum *ad libitum* untuk beradaptasi selama tujuh hari pada tahap ini.

R : Randomisasi. Sampel akan dibagi ke dalam tiga kelompok secara acak.

K0 : Kelompok kontrol negatif. Sampel hanya akan diberi pakan standar AD II dan air minum RO *ad libitum* selama 28 hari.

K1 : Kelompok kontrol positif. Sampel akan diberi pakan standar AD II, air minum RO *ad libitum* dan paparan asap rokok melalui pembakaran empat batang rokok dalam sehari. Perlakuan ini dilakukan selama 28 hari.

K2 : Kelompok perlakuan. Sampel akan diberi pakan standar AD II, air minum RO *ad libitum* dan paparan asap rokok melalui pembakaran empat batang rokok dalam sehari selama 28 hari, sedangkan pemberian ekstrak jintan hitam melalui sonde lambung dengan dosis 500 mg/hari akan diberikan dari hari ke-8 sampai ke-28.

OH0 : Kadar hemoglobin kelompok K0.

OH1 : Kadar hemoglobin kelompok K1.

OH2 : Kadar hemoglobin kelompok K2.

### **3.4 Populasi dan Sampel**

#### **3.4.1 Sampel**

Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah 18 ekor tikus Sprague Dawley. Sampel dikandangkan pada kandang berbahan *stainless steel* dan mendapat makan pakan standar AD II dan minum RO *ad libitum*. Tikus Sprague Dawley dipilih karena memiliki karakteristik fisiologis dan metabolisme yang mirip dengan manusia.

#### **3.4.2 Kriteria Inklusi**

- 1) Tikus jantan Sprague Dawley,
- 2) Berat normal 200-250 gram,
- 3) Berusia tiga bulan.

#### **3.4.3 Kriteria Eksklusi**

- 1) Kelainan anatomis pada tikus,
- 2) Pada pengamatan visual tikus tampak tidak aktif dan sakit,
- 3) Perubahan perilaku (tidak mau makan, lemas),
- 4) Mengalami diare selama masa penelitian,
- 5) Tikus mati,
- 6) Mengalami penurunan atau peningkatan berat badan sebanyak lebih dari 10%.

#### **3.4.4 Cara Sampling**

Alokasi sampel dengan menggunakan metode *Simple Random Sampling*.

### 3.4.5 Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan enam ekor tikus untuk setiap kelompoknya, sebagai antisipasi apabila terdapat tikus yang *drop out* saat penelitian berlangsung. Mengingat terdapat dua kelompok kontrol dan satu kelompok perlakuan pada penelitian ini, maka total tikus yang dibutuhkan selama penelitian berjumlah 18 ekor. Penentuan jumlah tikus untuk masing-masing kelompok pada penelitian ini telah sesuai dengan ketentuan yang dikeluarkan oleh WHO yaitu minimal lima ekor tikus untuk setiap kelompoknya.

### 3.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas : ekstrak jintan hitam

Variabel terikat : kadar hemoglobin tikus Sprague Dawley

### 3.6 Definisi Operasional

**Tabel 3.** Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional dan Cara Pengukuran	Unit	Skala
1	Ekstrak Jintan Hitam	Ekstrak jintan hitam didapatkan dari hasil pengolahan biji jintan hitam dengan metode Soxhletasi. Ekstrak jintan hitam diberikan pada tikus Sprague Dawley dengan dosis 500 mg/hari dan diencerkan dengan 4 ml aquades.	mg	Nominal
2	Kadar Hemoglobin	Senyawa protein yang kaya akan zat besi dan memiliki tugas utama mengatur transpor oksigen di dalam tubuh. Kadarnya ditentukan dengan pemeriksaan yang menggunakan metode sianmethemoglobin dengan $\lambda$ 545 nm.	g/dL	Rasio

### 3.7 Pengumpulan Data

#### 3.7.1 Alat

- 1) Kandang tikus,
- 2) Sonde lambung,
- 3) Timbangan,
- 4) Spuit,
- 5) Spektrofotometer,
- 6) Cuvet,
- 7) Mikropipet.

### 3.7.2 Bahan

- 1) Tikus Sprague Dawley,
- 2) Ekstrak jintan hitam,
- 3) Rokok kretek,
- 4) Pakan standar AD II dan air minum RO,
- 5) Larutan EDTA,
- 6) Larutan Dabkrin.

### 3.7.3 Jenis Data

Kadar hemoglobin setelah pemberian ekstrak jintan hitam dan paparan asap rokok merupakan data primer.

### 3.7.4 Prosedur Kerja

#### 3.7.4.1 Penentuan Dosis Terapi

Pada penelitian terdahulu diketahui bahwa pemberian ekstrak jintan hitam pada hewan coba berjenis tikus sebanyak 1-2 g/KgBB/hari selama 10 hari dapat menunjukkan efek terapeutik.<sup>12,11</sup> Pada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui dosis toksik akut juga diketahui bahwa pemberian ekstrak jintan hitam sebanyak 3 g/KgBB masih belum menunjukkan efek toksik dari ekstrak tersebut.<sup>41</sup>

Peneliti memutuskan untuk memberikan ekstrak jintan hitam dengan dosis sebesar 2 g/KgBB/hari berdasarkan hal-hal diatas. Sesuai dengan salah satu kriteria inklusi sampel, berat badan hewan coba berkisar antara 200-250 g, maka didapatkan dosis ekstrak jintan hitam yang harus diberi berkisar antara 400-500 mg/hari, namun guna memberikan kepastian dan kemudahan peneliti dalam

memberikan ekstrak tersebut, maka ditetapkan dosis terapi harian yang diberi menjadi 500 mg/hari untuk seluruh hewan coba.

#### **3.7.4.2 Perlakuan Terhadap Hewan Coba**

Seluruh sampel akan dikandangan secara berkelompok di LPPT UGM Unit IV. Selama penelitian, sampel akan mendapatkan pakan dan minum standar yang sama. Sampel hanya akan diberi pakan AD II dan air minum RO *ad libitum* selama masa adaptasi. Sampel kemudian dibagi secara acak ke dalam tiga kelompok yaitu,

1) Kelompok K0 (Kontrol Negatif)

Pada kelompok ini sampel hanya akan diberi pakan standar AD II dan air minum RO *ad libitum*.

2) Kelompok K1 (Kontrol Positif)

Sampel pada kelompok ini akan diberi pakan standar AD II, air minum RO *ad libitum* dan paparan asap rokok melalui pembakaran empat batang rokok dalam sehari.

3) Kelompok K2 (Perlakuan)

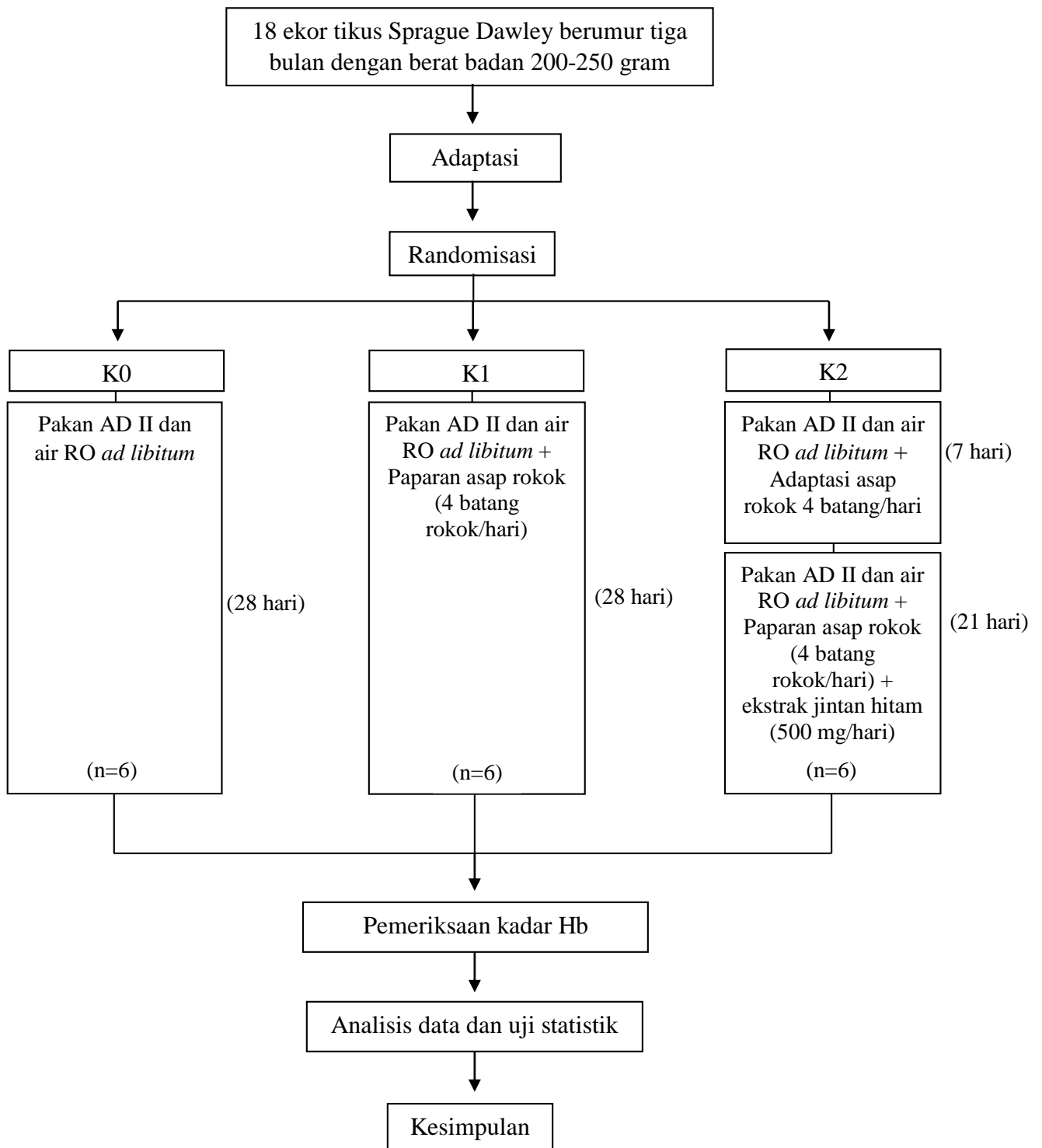
Sampel pada kelompok ini akan diberi pakan standar AD II, air minum RO *ad libitum*, ekstrak jintan hitam melalui sonde lambung dengan dosis 500 mg/hari dan paparan asap rokok melalui pembakaran empat batang rokok dalam sehari.

### 3.8 Analisis Data

Analisis data primer yang didapat akan dilihat sebaran distribusi datanya melalui uji normalitas distribusi data dengan uji *Shapiro-Wilk* dan dilihat juga homogenitas datanya melalui *Levene's test*. Apabila data berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan melakukan uji *One-way ANOVA* guna menganalisis perbedaan antar kelompok, lalu bila terdapat perbedaan yang bermakna akan dilanjutkan dengan uji *Post hoc*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan melakukan uji *Kruskal Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*, dengan nilai derajat kemaknaan adalah apabila  $p \leq 0,05$  pada interval kepercayaan 95%.



### 3.9 Alur Penelitian



**Gambar 8.** Alur penelitian

### **3.10 Etika Penelitian**

*Ethical Clearance* diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang/RSUP Dr. Kariadi dengan nomor 620/EC/FK-RSDK/2016.



