

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Ruang lingkup penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini adalah Farmakologi, Biokimia, dan Ilmu Kesehatan Jiwa.

#### **3.2 Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi RS Kariadi Semarang untuk pengandangan, pemberian pakan, perlakuan hewan coba , dan pengujian sampel. Penelitian dan pengumpulan data pada penelitian ini akan dilaksanakan dari bulan Februari-April tahun 2016.

#### **3.3 Jenis dan rancangan penelitian**

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *quasi experimental* dengan rancangan penelitian *post test only controlled group design*. Perlakuan yang diberikan adalah dengan memberikan flufenazin dekanoat injeksi intramuskular dan ekstrak kulit manggis secara *ad libitum*, sedangkan luaran (*outcome*) adalah kadar enzim katalase hepar tikus wistar jantan.

### **3.4 Populasi dan sampel**

#### **3.4.1 Populasi target**

Dalam penelitian ini adalah seluruh tikus Wistar jantan berumur 3 bulan dengan berat badan kurang lebih 200 gram.

#### **3.4.2 Populasi terjangkau**

Seluruh tikur Wistar jantan berumur 3 bulan dengan berat badan kurang lebih 200 gram yang berada di lokasi penelitian dan memenuhi kriteria inklusi.

#### **3.4.3 Sampel**

##### **3.4.3.1 Kriteria inklusi**

- 1) Tikus wistar jantan
- 2) Berat badan kurang lebih 200 gram
- 3) Usia 3 bulan

##### **3.4.3.2 Kriteria ekslusi**

- 1) Sakit
- 2) Cacat fisik

##### **3.4.3.3 Kriteria *Drop Out***

- 1) Tikus mati

#### **3.4.4 Cara sampling**

Cara sampling yang digunakan adalah *simple random sampling*. Tikus wistar dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu kelompok K0, K1, P1, dan P2, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar jantan.

- a. Kelompok K0 (kontrol negatif) diberi diet standar dan injeksi *sesame oil* intramuskular.

- b. Kelompok K1 (kontrol positif) diberi diet standar, injeksi sesame oil intramuskular, dan ekstrak kulit manggis.
- c. Kelompok P1 diberi diet standar dan injeksi flufenazin dekanat 2 mg/kgBB/minggu.
- d. Kelompok P2 diberi diet standar, injeksi flufenazin dekanat 2 mg/kgBB/minggu, dan ekstrak kulit manggis.

### **3.4.5 Besar sampel**

Penentuan besar sampel menurut kriteria *World Health Organization* (WHO) untuk penelitian dan evaluasi obat tradisional yaitu tikus jantan minimal 5 ekor untuk masing-masing perlakuan.<sup>30</sup> Masing-masing kelompok diberi tambahan 1 ekor tikus. Dalam penelitian ini terbagi menjadi 4 kelompok, maka sampel yang digunakan adalah sebanyak  $4 \times 6$  ekor = 24 tikus.

## **3.5 Variabel penelitian**

### **3.5.1 Variabel bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah flufenazin dekanat dan ekstrak kulit manggis.

### **3.5.2 Variabel terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar katalase hepar tikus wistar.

### 3.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
Flufenazin dekanat	Obat antipsikotik golongan tipikal <i>long acting</i> . Obat tersebut dilarutkan terlebih dahulu dengan <i>sesame oil</i> yang telah disterilkan lalu diberikan secara injeksi intramuskular pada P1 dan P2 dengan dosis 2 mg/kgBB 1 kali tiap minggu	mg/kgBB	Rasio
Ekstrak kulit manggis	Cara pemberian secara <i>ad libitum</i> , dengan dosis sebesar 600 mg/kgBB dilarutkan pada etanol 1%.	Ya/tidak	Nominal
Kadar katalase hepar	Dilakukan setelah dilakukan terminasi dan pembuatan ekstrak organ. Pemeriksaan dilakukan dengan menambahkan H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> pada jus yang terbentuk pada ekstrak organ. Semakin tinggi nilai yang didapat menandakan terdapat reaksi antioksidan yang tinggi.	cm	Rasio

### 3.7 Cara pengumpulan data

#### 3.7.1 Bahan

- Ekstrak kulit manggis dosis 600 mg/kgBB<sup>13</sup>
- Flufenazin dekanat dosis 2 mg/kgBB<sup>31</sup>
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10%

- Ether
- Kapas
- NaCl 0,9%
- Etanol
- Sampel hepar tikus wistar

### **3.7.2 Alat**

- Mikropipet
- Gelas ukur
- Mistar
- *Stopwatch*

### **3.7.3 Jenis data**

Data yang dikumpulkan dalam penelitian ini adalah data primer hasil penelitian terhadap pengaruh ekstrak kulit manggis terhadap kadar katalase hepar tikus wistar jantan terpapar flufenazin dekanolat dari kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

### **3.7.4 Cara kerja**

#### **3.7.4.1 Perlakuan hewan coba**

Sebelum diberi perlakuan, seluruh sampel diadaptasi terlebih dahulu selama 7 hari dengan pemberian pakan standar. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok berisi 6 ekor tikus yaitu kelompok K0 yang diberi diet standar dan injeksi *sesame oil* intramuskular. Kemudian kelompok K1 diberi diet standar, injeksi *sesame oil* intramuskular, dan ekstrak kulit manggis (600 mg/kgBB) secara *ad libitum* dilarutkan dengan etanol 1%,<sup>13</sup> kelompok P1 diberi diet standar dan

injeksi flufenazin dekanoat 2 mg/kgBB. Kelompok P2 diberi diet standar dengan injeksi flufenazin dekanoat 2 mg/kgBB disertai pemberian ekstrak kulit manggis secara *ad libitum*. Pemberian flufenazin dekanoat dilakukan dengan cara injeksi intramuskular pada *musculus gluteus* tiap 7 hari selama 28 hari.

Dosis pemberian didasarkan pada dosis terapi yaitu 2 mg yang diberikan 1 kali tiap minggu.<sup>31</sup> Pengenceran obat dilakukan dengan menambahkan *sesame oil* yang telah disterilkan. Kemudian dosis tersebut dikonversikan terhadap masing-masing berat tikus wistar.

#### **3.7.4.2 Pemberian ekstrak kulit manggis**

Pemberian ekstrak kulit manggis pada tikus wistar jantan diberikan secara *ad libitum*. Ekstrak kulit manggis 600 mg/kgBB dilarutkan menggunakan etanol 1%.<sup>13</sup> Dilarutkan dalam botol minum sebanyak 30 ml. Jika larutan ekstrak kulit manggis habis untuk hari itu, maka dilanjutkan dengan pengisian botol minum dengan air. Hal ini dilakukan tiap hari selama 28 hari.

#### **3.7.4.3 Tahap terminasi**

Setelah diberi perlakuan selama 28 hari, masing-masing tikus dimasukkan ke dalam toples berisi kapas yang sebelumnya diberi ether kemudian ditutup rapat. Setelah tikus dianggap sudah tidak berdaya dilakukan dislokasi leher. Hepar di ambil dan dicuci dengan NaCl 0,9%. Hepar ditimbang, kemudian hepar seberat 1 gram di masukkan ke dalam kontainer yang berisi NaCl 20 ml dan diblender.

#### **3.7.4.4 Pembuatan ekstrak organ**

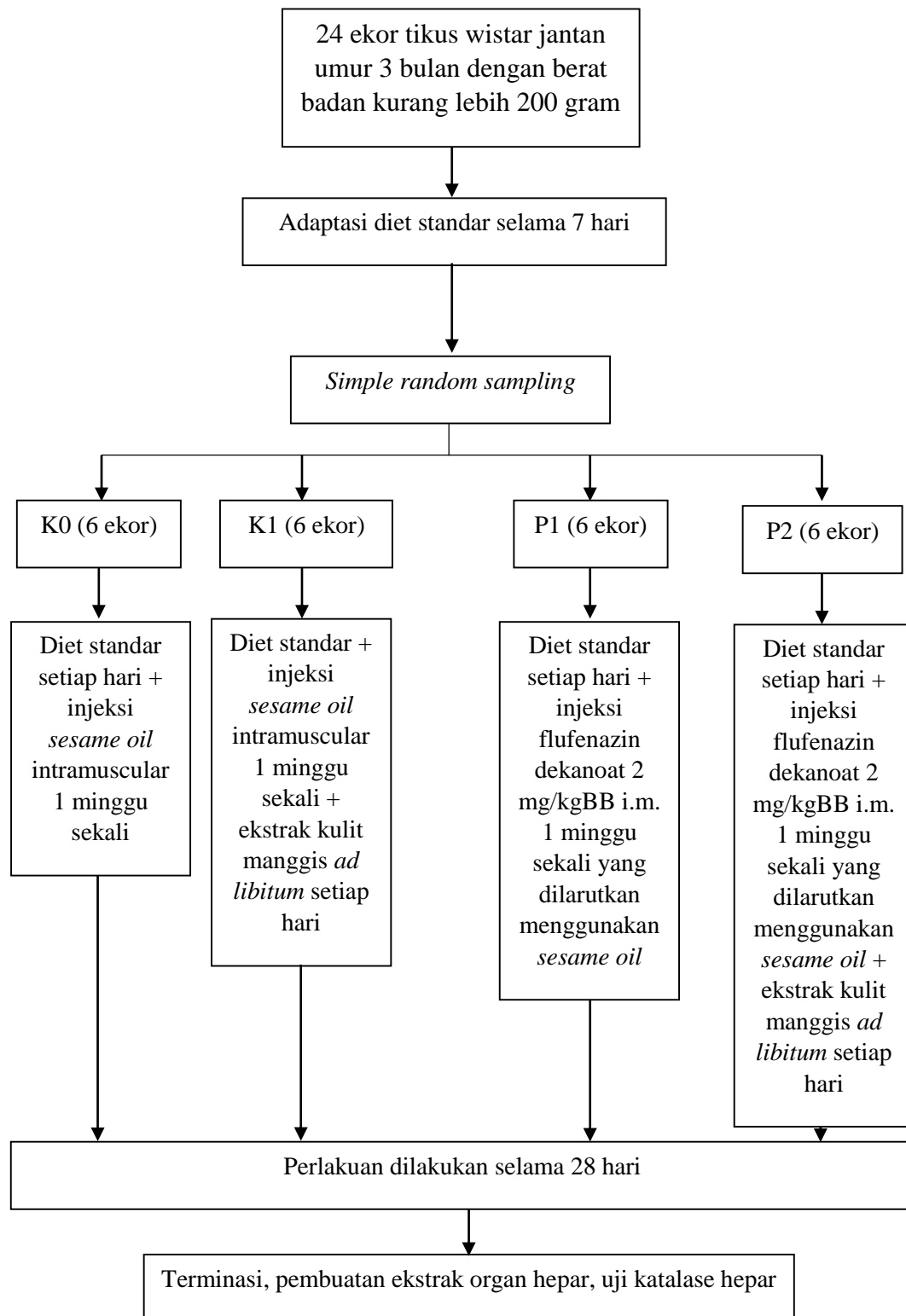
Setiap satu gram hepar ditempatkan dalam blender dengan 20 ml larutan fisiologis NaCl 0,9%). Semua bahan diblender sampai homogen. Setelah terbentuk

jus hepar ditunggu hingga jus terpisah antara endapan dan ekstraknya. Ekstrak hepar siap digunakan. Untuk mencegah kerusakan enzim katalase, sediaan di simpan dalam kotak es.

#### **3.7.4.5 Pengukuran kadar enzim katalase**

Menyiapkan gelas ukur bersih sebanyak 5 buah. Percobaan dilakukan menjadi tiga sesi yaitu sesi pertama untuk 5 sampel kontrol, kemudian untuk 5 sampel P1, dan terakhir untuk 5 sampel P2. Pada masing-masing tabung reaksi diisikan 100 ul ekstrak hepar.<sup>32</sup>Ditambahkan 100 ul larutan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10% ke dalam gelas ukur yang telah berisi ekstrak hepar. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada masing-masing sampel dilakukan secara bersamaan. Pada saat tersebut stopwatch juga dinyalakan dan diamati hingga menit ke 5. Setelah 5 menit gelembung yang muncul diamati dan dengan menggunakan mistar mengukur gelembung yang terbentuk mulai dari perbatasan larutan. Hasil yang didapat kemudian dicatat. Penilaian kadar katalase dilakukan oleh 2 orang untuk menghindari subjektivitas.

### 3.8 Alur penelitian



Gambar 4. Alur penelitian



### 3.9 Analisis data

Uji statistik dengan menggunakan program *software* statistik. Data diuji normalitas datanya menggunakan uji *Saphiro-wilk* dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Dilakukan uji hipotesis menggunakan *one-way* ANOVA dilanjutkan uji *post hoc Bonferroni* dengan nilai  $p < 0,05$ .

### 3.10 Etika penelitian

Ijin penelitian didapat dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang dengan nomor *ethical clearance* No.172/EC/FK-RSDK/2016. Pada penelitian ini digunakan dua puluh empat ekor tikus wistar jantan, umur 3 bulan, dengan berat badan badan sekitar 200 gram, diadaptasi di laboratorium dan diberi pakan standar. Perlakuan pada penelitian ada dua dimana diberikan secara injeksi intramuskular untuk flufenazin dekanoat dan diberikan ekstrak kulit manggis secara *ad libitum*. Hewan diterminasi dengan dianastesi menggunakan kapas ether dilanjutkan dengan dislokasi leher, kemudian dikubur oleh tenaga laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

### 3.11 Jadwal penelitian

Tabel 3. Jadwal penelitian

Kegiatan	Bulan		Bulan		Bulan		Bulan		Bulan		Bulan					
	11		12		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 & bahan																
Penelitian																
Analisis data & evaluasi																
Penulisan laporan																
Seminar hasil																