

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Ruang lingkup penelitian

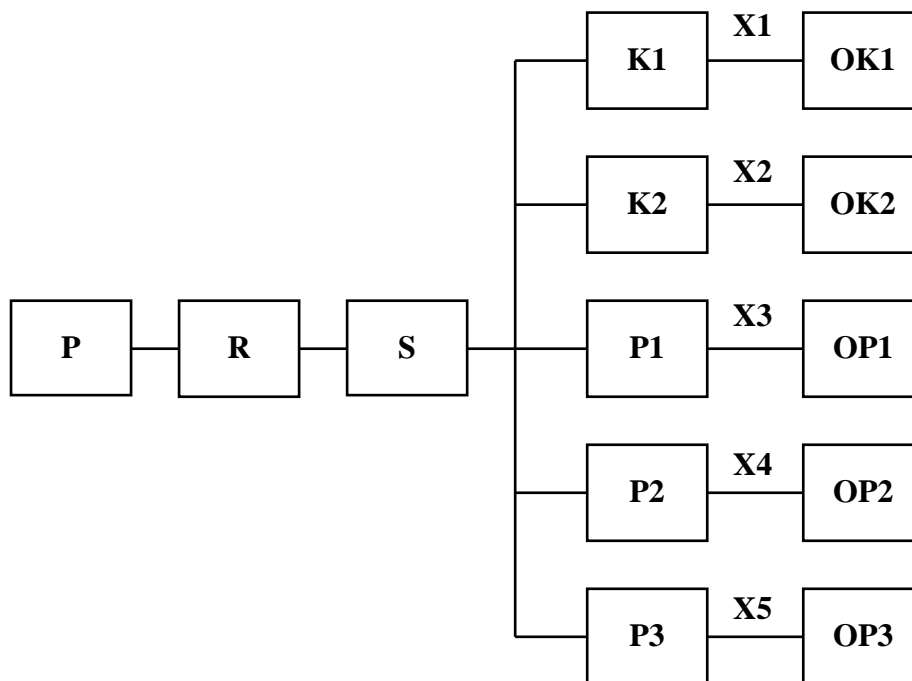
Penelitian ini mencakup bidang Ilmu Kedokteran khususnya ilmu Biokimia dan Farmakologi.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT - LP3HP) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Waktu yang diperlukan untuk melakukan penelitian adalah 11 minggu dari bulan Februari hingga Mei 2016.

3.3 Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini adalah penelitian *true experimental* dengan metode *post test only with control group design*. Sampel pada penelitian ini adalah binatang coba berupa tikus wistar. Binatang coba telah dirandomisasi dan kemudian `dibagi menjadi lima kelompok, satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif, dan tiga kelompok perlakuan. Tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kelompok kontrol negatif mendapat pakan standar, kelompok kontrol positif mendapat pakan standar dan induksi parasetamol, sedangkan kelompok perlakuan mendapat pakan standar, ekstrak *Actinidia deliciosa* dalam dosis yang berbeda untuk tiap kelompok dan diinduksi dengan parasetamol. Rancangan penelitian dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Skema dan rancangan penelitian.

Keterangan rancangan penelitian:

- P : Persiapan sampel
- R : Randomisasi
- S : Sampel setelah diadaptasi
- K1 : Kelompok kontrol negatif
- K2 : Kelompok kontrol positif
- P1 : Kelompok perlakuan 1
- P2 : Kelompok perlakuan 2
- P3 : Kelompok perlakuan 3
- X1 : Pemberian pakan standar

X2	: Pemberian pakan standar dan induksi parasetamol 1500 mg/kgBB
X3	: Pemberian pakan standar, ekstrak <i>Actinidia deliciosa</i> 100 mg/kgBB, dan induksi parasetamol 1500 mg/kgBB
X4	: Pemberian pakan standar, ekstrak <i>Actinidia deliciosa</i> 200 mg/kgBB, dan induksi parasetamol 1500 mg/kgBB
X5	: Pemberian pakan standar, ekstrak <i>Actinidia deliciosa</i> 400 mg/kgBB, dan induksi parasetamol 1500 mg/kgBB
OK1, OK2, OP1, OP2, OP3	: Pengukuran kadar ALT dan AST serum setelah diberi perlakuan

3.4 Populasi dan sampel

3.4.1 Populasi target

Populasi target dari penelitian ini adalah tikus wistar berusia minimal 8 minggu.

3.4.2 Populasi terjangkau

Populasi terjangkau dari penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang diperoleh dari LPPT - LP3HP Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Binatang coba kemudian dipilih secara acak dengan mempertimbangkan kriteria inklusi dan eksklusi.

3.4.3 Sampel

3.4.3.1 Kriteria inklusi

- Tikus wistar jantan
- Umur minimal 8 minggu sebelum diadaptasi
- Berat tubuh 140-250 gram
- Bergerak aktif
- Belum pernah digunakan untuk penelitian

3.4.3.2 Kriteria eksklusi

- Tampak memiliki kelainan anatomis
- Tikus mengalami diare
- Tikus tidak mau makan dan minum
- Mati selama masa adaptasi

3.4.4 Cara sampling

Sampel yang diteliti pada penelitian ini diambil secara *simple random sampling*.

3.4.5 Besar sampel

Penentuan besar sampel dilakukan menurut ketentuan WHO, yaitu minimal 5 ekor tikus per kelompok. Dalam penelitian ini tikus yang telah digunakan sebanyak 7 ekor tiap kelompok untuk mempertimbangkan kemungkinan *drop out*.

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak *Actinidia deliciosa* dengan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB.

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar enzim hepar (ALT dan AST) serum tikus wistar terinduksi parasetamol setelah pemberian ekstrak *Actinidia deliciosa*.

3.6 Definisi operasional

Tabel 4. Definisi operasional

No	Variabel	Unit	Skala
1.	Pemberian ekstrak <i>Actinidia deliciosa</i> Buah <i>Actinidia deliciosa</i> yang diekstraksi dengan pelarut etanol dan kemudian diberikan kepada binatang coba menggunakan sonde lambung dalam dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB.	mg/kgBB	Nominal
2.	Kadar ALT serum Enzim ALT pada sampel darah pleksus	mg/dL	Nominal

retroorbitalis yang telah diukur dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer.			
3.	Kadar AST serum	mg/dL	Nominal
Enzim AST yang telah diukur pada sampel darah pleksus retroorbitalis dengan metode kolorimetri menggunakan spektrofotometer.			

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan

- Hewan coba tikus galur wistar jantan 35 ekor
- Pakan standar
- Preparat parasetamol
- Preparat ekstrak *Actinidia deliciosa*
- Reagen pencuci *cuvette* khusus (Extran)
- Reagen kit AST (Diasys)
 - Reagen 1: Tris Ph 7,65
L-aspartat
MDH
LDH
 - Reagen 2: 2-Oxoglutarat
NADH
- Reagen kit ALT (Diasys)
 - Reagen 1: Tris pH 7,15
L-alanin

LDH

- Reagen 2: 2-Oxoglutarat

NADH

- Heparin
- Aquadest
- Garam fisiologis

3.7.2 Alat

- Kandang hewan coba
- Timbangan hewan
- Tabung reaksi
- Spektrofotometer
MICROLAB 300
- *Cuvette*
- Injeksi spuit
- Mikropipet (+ *yellow*
dan *blue tip*)
- Vortex-mixer
- Alkohol swab 70%
- Kapas
- *Sentrifuge*
- Tabung *sentrifuge*
- Sonde lambung
- Gunting
- Label
- Alat tulis
- Komputer

3.7.3 Jenis data

Jenis data yang diperoleh adalah data primer yakni data yang diambil langsung oleh peneliti dari sampel penelitian.

3.7.4 Cara Kerja

3.7.4.1 Persiapan

- Pembuatan ekstrak dilakukan dengan mengumpulkan *Actinidia deliciosa* yang kemudian dikirim ke Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Unit 1 Universitas Gadjah Mada Yogyakarta untuk dibuat ekstraknya.³⁰

3.7.4.2 Aklimatisasi dan pengelompokan

- Binatang coba diadaptasikan di kandang jeruji kelompok agar tidak stress dan dapat bergerak bebas.
- Binatang coba juga diberi pakan standar selama 1 minggu.
- Binatang coba dibagi secara *simple random sampling* ke dalam 5 kelompok berisikan 7 ekor menjadi kelompok kontrol negatif (K1), kontrol positif (K2), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3).

3.7.4.3 Pelaksanaan

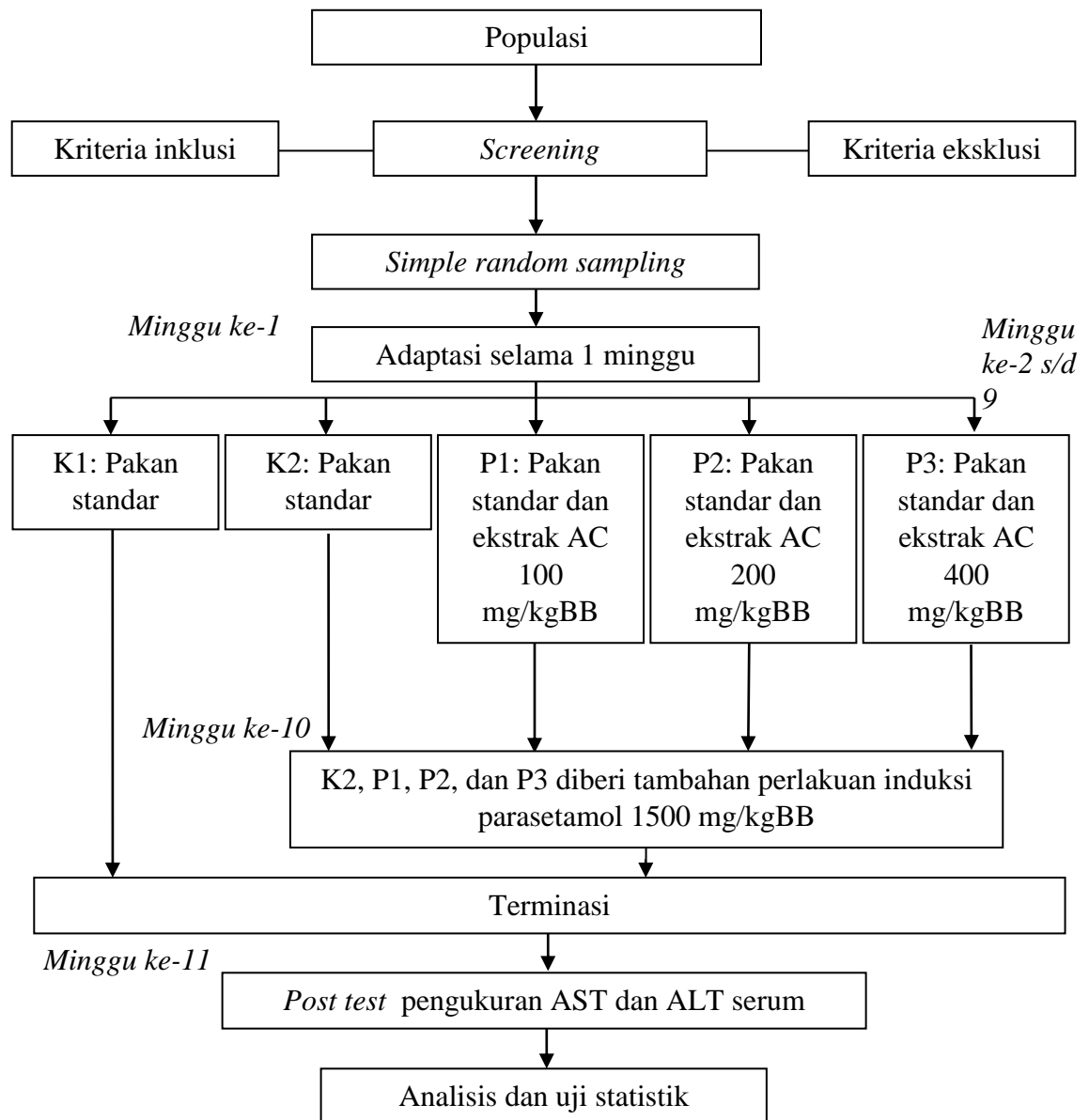
- Binatang coba dalam kelompok diberikan intervensi sesuai kelompoknya.

- K1 sebagai kontrol negatif diberi pakan standar dan aquadest *ad libitum*. K2 diperlakukan seperti K1.
- Kelompok P1 diberi pakan standar dan ditambah ekstrak *Actinidia deliciosa* dosis 100 mg/kgBB.
- Kelompok P2 diberi pakan standar dan ditambah ekstrak *Actinidia deliciosa* dosis 200 mg/kgBB.
- P3 diberikan pakan standar dan ekstrak *Actinidia deliciosa* dosis 400 mg/kgBB. Perlakuan diberikan selama delapan minggu.
- Selama tiga hari, seluruh kelompok kecuali kontrol positif diinduksi dengan parasetamol 1500 mg/kgBB untuk merangsang kerusakan hepar.

3.7.4.4 Pengambilan data

- Seluruh tikus pada masing-masing kelompok diterminasi lalu diambil darah pada pleksus retroorbitalis untuk pemeriksaan kadar AST dan ALT serum untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Actinidia deliciosa* terhadap kadar AST dan ALT serum.^{32,33,34,35}
- Serum digunakan untuk pemeriksaan kadar AST dan ALT serum dengan kolorimetri kinetik yang telah dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu – Layanan Penelitian Pra Klinik Pengembangan Hewan Percobaan (LPPT - LP3HP) Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.8 Alur penelitian



Gambar 8. Alur penelitian

3.9 Analisis data

Data yang terkumpul telah terlebih dahulu dimasukkan ke dalam file *Microsoft Excel*. Pengelolaan data lebih lanjut telah menggunakan program *IBM SPSS Statistics*.

Data primer berupa kadar ALT dan AST serum yang diperoleh setelah dilakukan intervensi diolah menggunakan uji normalitas data *Shapiro-Wilk*. Apabila uji normalitas menunjukkan persebaran data yang normal dan uji homogenitas menunjukkan data yang homogen maka dilakukan pengolahan data dengan uji *one way Anova* dan *post hoc LSD*. Apabila data tidak berdistribusi normal maka data dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney-U*.

Uji hipotesis dianggap signifikan secara statistik apabila $p < 0.05$ dengan interval kepercayaan sebesar 95%.

3.10 Etika penelitian

Ethical clearance dimintakan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro dan/atau RSUP Dr. Kariadi sebelum penelitian dilakukan. Dalam penelitian ini digunakan binatang coba berupa 35 ekor tikus wistar yang diadaptasi dalam laboratorium dan diberi pakan standar serta ekstrak *Actinidia deliciosa*. Pada penelitian ini juga dilakukan induksi parasetamol pada beberapa kelompok. Setelah perlakuan selesai, binatang coba diterminasi dengan diberikan eter sebelum sampel darah diambil dari pleksus retroorbitalis. Binatang coba kemudian dikubur oleh ahli dari LPPT - LP3HP Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.