

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang lingkup penelitian

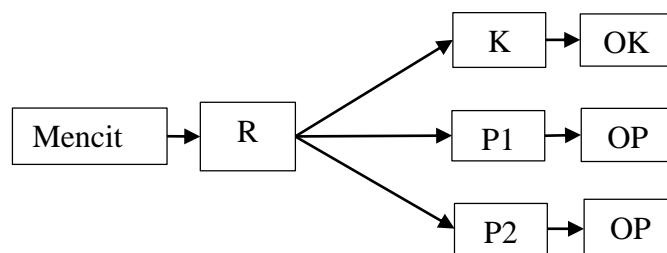
Ruang lingkup penelitian ini mencakup Farmakologi.

3.2 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Hewan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang untuk pengandangan, pemberian pakan, perlakuan hewan coba, dan pengujian sampel selama 20 hari pada bulan Juli 2017.

3.3 Jenis dan rancangan penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah *experimental* dengan rancangan penelitian *parallel group post test only design*. Skema rancangan penelitian ditampilkan pada gambar berikut:



Gambar 5. Rancangan penelitian

Keterangan :

R : randomisasi

K : kelompok kontrol

P1 : perlakuan 1

P2 : perlakuan 2

OK : pengukuran produksi ASI kelompok kontrol

OP1 : pengukuran produksi ASI kelompok perlakuan 1

OP2 : pengukuran produksi ASI kelompok perlakuan 2

3.4 Populasi dan sampel penelitian

3.4.1 Sampel penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria sebagai berikut :

3.4.1.1 Kriteria inklusi

- **Tikus indukan :**
 - 1) Tikus wistar betina
 - 2) Berat antara 150-200 gram
 - 3) Sedang dalam masa laktasi pada hari ke-3
- **Anakan Tikus :**
 - 1) Anakan kandung dari indukan
 - 2) Berat antara 5-10 gram

3.4.1.2 Kriteria eksklusi

- **Tikus indukan :**
 - 1) Sakit; yang diekspresikan dengan tikus tidak bergerak, bulu tampak kotor, atau anus tampak kotor karena diare
 - 2) Memiliki cacat pada puting yang tampak dengan pemeriksaan makroskopik
- **Anakan tikus :**
 - 1) Tidak memiliki kemampuan menyusu indukan

3.4.1.3 Kriteria *drop out*

- 1) Tikus mati sebelum observasi selesai (<20 hari)

3.4.2 Cara sampling

Cara pemilihan sampel adalah *simple random sampling*. Tikus wistar dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu K, P1, dan P2, dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus wistar betina.

- a. Kelompok K (kontrol) diberi pakan standar dan *intake normal saline* 0,5 mL per oral.
- b. Kelompok P1 (Perlakuan 1) diberi pakan standar dan konsumsi ekstrak rimpang *Cyperus Rotundus* L. sebanyak 300 mg/kgBB per oral.
- c. Kelompok P2 (Perlakuan 2) diberi pakan standar dan konsumsi ekstrak rimpang *Cyperus Rotundus* L. sebanyak 600 mg/kgBB per oral.

3.4.3 Besar sampel

Penentuan besar sampel menurut kriteria *World Health Organization* (WHO) untuk penelitian dan evaluasi obat tradisional yaitu tikus indukan minimal 5 ekor untuk masing-masing perlakuan.⁴¹ Masing-masing kelompok diberi tambahan 1 ekor tikus. Dalam penelitian ini terbagi menjadi 3 kelompok, maka besar sampel yang digunakan dirumuskan:

Besar sampel = Jumlah kelompok penelitian x 6 ekor/kelompok

$$= 3 \times 6 \text{ ekor}$$

$$= 18 \text{ ekor tikus indukan}$$

3.5 Variabel penelitian

3.5.1 Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak rimpang rumput teki (*Cyperus rotundus* L.).

3.5.2 Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kuantitas ASI.

3.6 Definisi operasional

Tabel 2. Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
1.	Ekstrak Rimpang Rumput teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.)	Ekstrak rimpang rumput teki (<i>Cyperus rotundus</i> L.) adalah produk material kering dari rimpang rumput teki yang merupakan hasil dari proses pembuatan ekstrak yang meliputi pencucian, pengeringan, pelumatan, perebusan, filtrasi, dan <i>lyophilization</i> .	mg/kgBB	Rasio
2.	Pakan standar	Pakan yang mengandung air, protein kasar, lemak kasar, serat kasar, abu, kalsium, dan <i>phospor</i> sebanyak ± 20 gram/hari serta air putih yang diberikan secara <i>ad libitum</i> .	gram	Nominal
3.	Kuantitas ASI	Adalah kuantitas keluaran ASI yang dihasilkan oleh tikus wistar (<i>Rattus norvegicus</i>). Pengukuran dilakukan dengan cara mengukur pertambahan berat dari anakan <i>Rattus norvegicus</i> .	gram/anak/hari	Rasio

3.7 Cara pengumpulan data

3.7.1 Bahan penelitian

1. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) betina laktasi hari ke-3 (induk) sebanyak 18 ekor
2. Anakan-anakan tikus wistar betina sebanyak 72-90 ekor
3. Ransum pakan standar
4. Ekstrak rimpang rumput teki 50 gram
5. Larutan *saline* fisiologis
6. Kertas saring
7. Air 2000mL
8. Larutan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 1%

3.7.2 Alat penelitian

1. Kandang hewan
2. Timbangan hewan
3. Timbangan rumput teki
4. Sonde lambung dan *syringe*
5. Penggiling mekanik
6. Saringan *mesh*
7. Alat pengering “*Freeze dryer*”

3.7.3 Jenis data

Jenis data pada penelitian ini seluruhnya adalah data primer yaitu data yang diambil langsung oleh peneliti dari sampel penelitian.

3.7.4 Cara kerja

3.7.4.1 Pembuatan ekstrak rimpang rumput teki

Rimpang rumput teki dicuci dengan air, lalu dikeringkan di tempat teduh dengan udara bebas, dilumat dengan penggiling mekanik dan dilewatkan di saringan *mesh* hingga didapatkan bubuk rimpang seberat 200 gram. Lalu, bubuk rimpang direbus dalam air sebanyak 2000mL air selama 15 menit. Setelah direbus, dilakukan filtrasi dengan kertas saring. Setelah itu, dilakukan proses *lyophilization* atau *freeze-drying* pada filtrat, lalu material kering ditimbang. Proses ini akan menghasilkan produk material kering sebanyak 50 gram. Setelah itu, material kering ini dibuat menjadi suspensi dengan dilarutkan di dalam larutan *Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 1%.

3.7.4.2 Pengelompokan

Setelah 1 minggu, tikus dibagi secara *random* dalam 3 kelompok sehingga masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Kelompok yang ada yakni kontrol (K), perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3).

3.7.4.3 Pemberian perlakuan

Tikus dibagi menjadi 3 kelompok yang mendapat perlakuan yang berbeda yaitu :

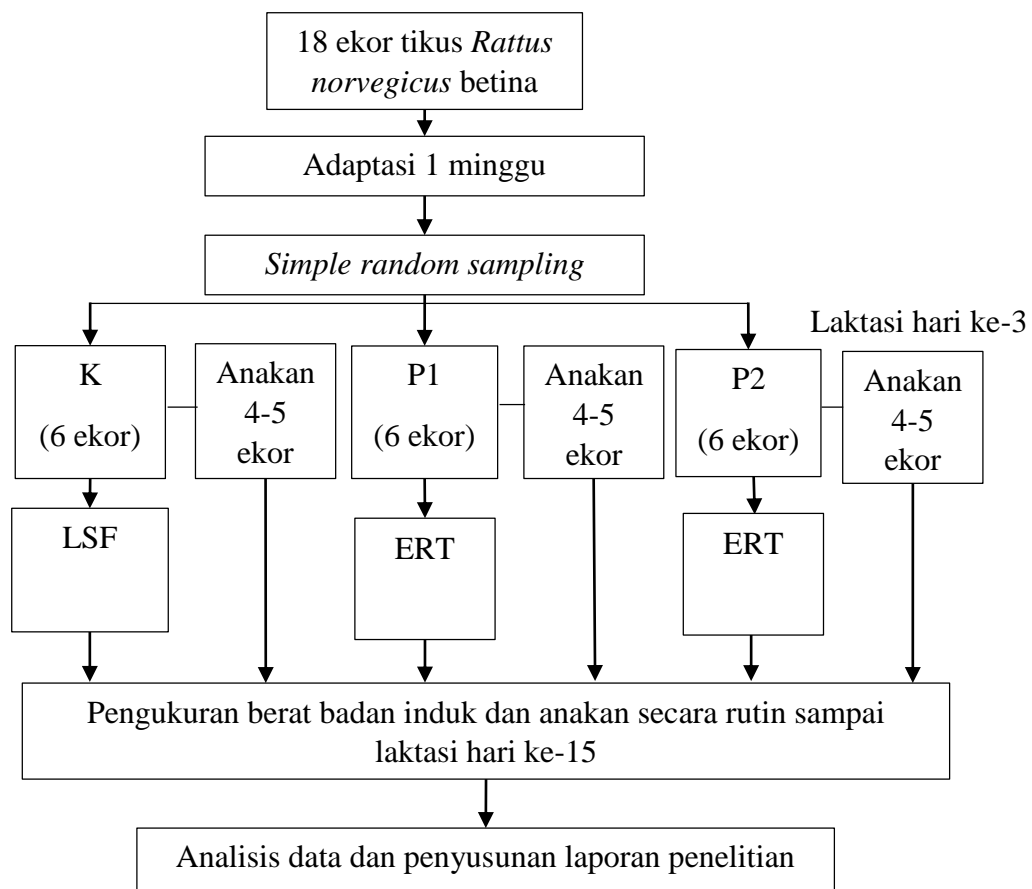
- Kelompok K (Kontrol) yang mendapat pakan standar dari laktasi mulai hari ke 3 sampai hari ke 15 dan *intake normal saline* 0,5 mL *per oral*.
- Kelompok P1 (Perlakuan 1) yang mendapat pakan standar dan *intake* ekstrak rimpang *Cyperus rotundus* L. 300 mg/kgBB *per oral*.
- Kelompok P2 (Perlakuan 2) yang mendapat pakan standar dan *intake* ekstrak rimpang *Cyperus rotundus* L. 600 mg/kgBB *per oral*.

3.7.4.4 Langkah kerja

- Langkah pertama yang dilakukan adalah aklimatisasi yang merupakan proses adaptasi kepada tikus yang diberikan dengan perawatan di kandang dengan ukuran 40 x 25 x 17 cm supaya dapat bergerak dengan bebas dan tidak stres, juga diberikan pakan standar dalam 1 minggu.
- 18 ekor tikus wistar betina dengan berat antara 150-200 gram pada laktasi hari ke-3 digunakan pada percobaan ini. Tikus-tikus tersebut dibagi menjadi 3 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus indukan di mana masing-masing tikus dipasangkan dengan 4-5 ekor anakan-anakannya. Masing-masing kandang terdiri dari 5-6 ekor tikus yang terdiri dari 1 tikus indukan dan 4-5 ekor anakan-anakannya.
- Semua tikus diberikan perlakuan secara rutin pada pukul 14.30 WIB. Produksi ASI akan diukur 23 jam setelah perlakuan. Produksi ASI diukur mulai dari laktasi hari ke-3 sampai hari ke-15. Produksi ASI, berat badan induk, dan penambahan berat badan dari anakan-anakan induk diukur setiap hari. Selama periode percobaan, anakan-anakan ditimbang secara rutin pada pukul 08.30 WIB (W1) dan diisolasi dari induk-induknya selama 4 jam. Pada pukul 12.30 WIB, anakan-anakan ditimbang kembali (W2) dan dikembalikan kembali bersama dengan induk-induknya, dan menyusui selama 1 jam. Setelah itu, anakan-anakan ditimbang kembali (W3) pada pukul 13.30 WIB. Produksi ASI selama 23 jam setelah perlakuan diperkirakan sebagai W3-W2. Produksi ASI rutin berkurang oleh berkurangnya berat badan anakan-anakan karena proses metabolismenya ketika

periode menyusui. Proses metabolisme ini diperkirakan sebagai $(W_2 - W_1)/4$. Selanjutnya, hasil ini dikalikan dengan lama anakan-anakan tersebut menyusui (dalam satuan jam). Setiap hari, penambahan berat badan anakan diukur dari W_2 .⁴²

3.8 Alur penelitian



Gambar 6. Alur penelitian

Keterangan :

K : kelompok kontrol

P1 : kelompok perlakuan 1

P2 : kelompok perlakuan 2

LSF : larutan *saline* fisiologis

ERT : ekstrak rumput teki

3.9 Analisis Data

Sebelum dilakukan pengolahan data, akan dilakukan pemeriksaan kebenaran dan kelengkapan data. Selanjutnya, data akan dimasukkan ke dalam komputer. Analisis data meliputi analisis deskriptif dan uji hipotesis. Pada analisis deskriptif, data pertambahan berat badan anakan tikus akan ditampilkan sebagai rerata dan simpang baku apabila berdistribusi normal atau dengan rentang minimal maksimal apabila data berdistribusi tidak normal. Uji normalitas distribusi akan menggunakan uji Saphiro Wilk oleh karena besar sampel kurang dari 50. Uji hipotesis akan menggunakan uji *one way* ANOVA. Uji tersebut dipilih oleh karena terdapat 3 kelompok penelitian dengan variabel terikat yang berskala kontinyu. Uji ANOVA akan dilanjutkan dengan uji *post hoc* Bonferroni untuk mencari perbedaan antarkelompok penelitian. Apabila data berdistribusi tidak normal maka akan menggunakan uji Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney. Nilai p dikatakan bermakna apabila $p < 0,05$. Analisis data akan menggunakan program komputer.

3.10 Etika Penelitian

Ethical clearance telah didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/RSUP Dr. Kariadi Semarang. No. 51/EC/H/FK-RSDK/VII/2017. Pemeliharaan dan perlakuan pada hewan akan dilaksanakan sesuai dengan Perjanjian Helsinki.

3.11 Jadwal Penelitian

Tabel 3. Jadwal Penelitian

Kegiatan	Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4				Bulan 5				Bulan 6			
	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																				
<i>Ethical clearance</i>																				
Penelitian																				
Analisis data dan Evaluasi																				
Penulisan Laporan																				
Seminar Hasil																				