

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni dengan *pretest posttest control group design*, yaitu menilai perbedaan kadar trigliserida darah antara kelompok KF0 (tikus wistar tanpa pemberian kafein), KF1 (kontrol pemberian kafein dosis optimal), dan KF2 (kelompok tikus wistar uji dengan dosis tinggi). Perlakuan yang dilakukan adalah pemberian kafein sebelum *exercise* lalu diamati hasilnya setelah tikus wistar melakukan *exercise*.

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Waktu

Bulan Februari 2019 – Mei 2019

3.2.2. Tempat

Laboratorium Fisiologi FK UII dan Laboratorium Riset FK UII

3.3. Populasi dan Subjek Penelitian

3.3.1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang dibeli dari Laboratorium Hewan Coba FK UII. Pemilihan tikus wistar sebagai populasi penelitian dikarenakan biaya perawatan dan penanganan yang mudah, serta memiliki fisiologis yang mirip dengan fisiologis manusia.

3.3.2. Sampel penelitian

Sampel penelitian diambil dari populasi penelitian yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

a) Kriteria inklusi

- Berumur 2-3 bulan.
- Berat badan 100-200 gram.
- Jenis kelamin jantan.
- Sehat dan tanpa cacat fisik.

- Belum pernah digunakan untuk penelitian.

b) Kriteria Eksklusi

- Gerakan tidak aktif dan tidak lincah.
- Tikus mati selama perlakuan berlangsung.

3.3.3. Besar Sampel

Rumus besar sampel menurut Charan dan Biswas (2013), $E = \text{total hewan coba} - \text{total kelompok perlakuan}$. Total hewan coba pada penelitian ini sebanyak 15 hewan coba dengan tiga kelompok perlakuan. Nilai E tidak kurang dari 10 dan tidak lebih dari 20 sehingga didapatkan $E = 15 - 3$; $E = 12$. Total hewan coba dibagi menjadi tiga kelompok yaitu kelompok tanpa pemberian kafein, kontrol pemberian kafein dosis optimal, dan kelompok tikus wistar uji dengan kafein dosis tinggi.

3.3.4. Pembagian Kelompok

Subjek penelitian dibagi menjadi 3 kelompok sebagai berikut.

- Kelompok KF0 (tanpa pemberian kafein) terdiri dari 5 ekor tikus wistar diberi perlakuan dengan pemberian air.
- Kelompok KF1 (tikus wistar uji dengan kafein dosis optimal) terdiri dari 5 ekor tikus wistar diberi perlakuan dengan pemberian kafein dosis optimal.
- Kelompok KF2 (tikus wistar uji dengan kafein dosis tinggi) terdiri dari 5 ekor tikus wistar diberi perlakuan dengan pemberian kafein dosis tinggi.

3.4. Variabel Penelitian

3.4.1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah dosis pemberian kafein.

3.4.2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah trigliserida darah tikus wistar.

3.4.3. Variabel pengganggu

- Variabel pengganggu yang dapat dikendalikan antara lain:
 - Kuantitas dan kualitas kafein sama sesuai dengan perlakuan tiap kelompok.

2. Alat yang digunakan sama dan dilakukan pengecekan sebelum digunakan guna mengetahui adakah kerusakan atau tidak yang menyebabkan bias.

3.5 Definisi Operasional

- Kafein : Kafein dalam bentuk serbuk yang akan dilarutkan dalam air dan akan dimasukkan menggunakan sonde.
- Pemberian kafein dosis optimal : Pemberian kafein sebelum tikus melakukan *exercise* dengan dosis 7,56 mg untuk tikus 200 gram.
- Pemberian kafein dosis tinggi : Pemberian kafein sebelum tikus melakukan *exercise* dengan dosis 11,34 mg untuk tikus 200 gram.
- Exercise* : Olahraga tikus dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.
- Trigliserida darah tikus : Trigliserida darah tikus pada sinus orbitalis setelah *exercise* diukur dengan menggunakan trigliserida meter.

3.6 Instrumen Penelitian

3.6.1 Alat

1. Persiapan dan perlakuan hewan coba : kandang tikus, sonde untuk memasukkan kafein, spidol untuk labeling, beserta neraca analitik.
2. Perangkat *exercise* hewan uji : *running wheel*.
3. Pengambilan sampel darah hewan coba : tissue, kapas, mikropipet, tabung darah.
4. Seperangkat alat untuk pemeriksaan Trigliserida darah.

3.6.2 Bahan

1. Persiapan dan perlakuan hewan coba : kafein.
2. Pengambilan sampel Trigliserida darah hewan coba : darah dari sinus orbitalis, ketamin.

3.7 Alur Penelitian

3.7.1 Tahap Aklimatisasi dan Randomisasi

1. Sebanyak 15 tikus wistar ditaruh pada kandang sementara.
2. Randomisasi dilakukan dengan cara pengundian, didapatkan tiga kelompok perlakuan dengan kode KF0 (tikus wistar tanpa pemberian

kafein), KF1 (kontrol pemberian kafein dosis optimal), dan KF2 (kelompok tikus wistar uji dengan kadar kafein optimal).

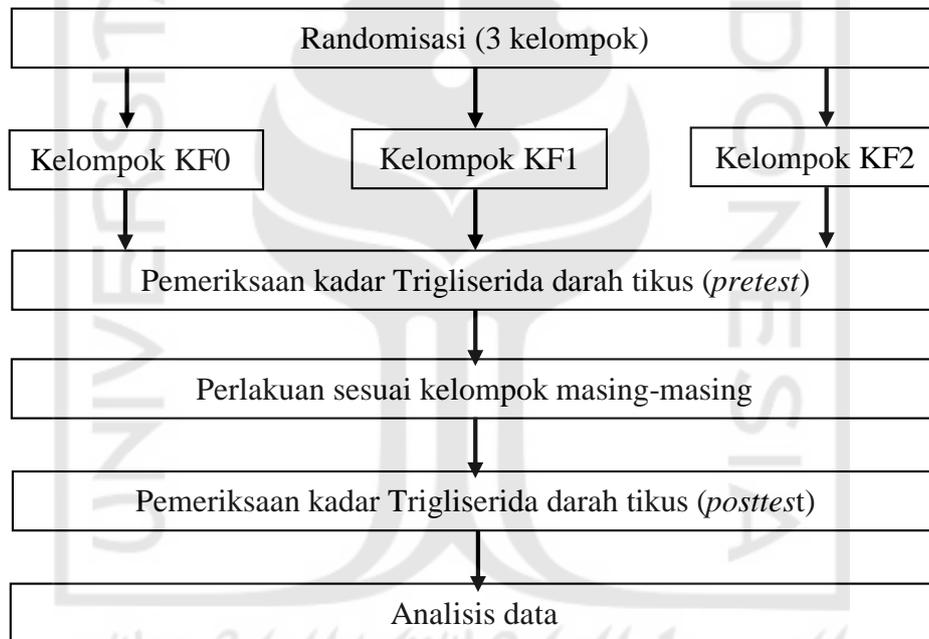
3.7.2 Tahap Perlakuan

1. Kelompok KF0 1-5
 - a. Anastesi menggunakan ketamin 0,1 ml secara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar trigliserida sebagai data *pretest*.
 - b. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.
 - c. Dilakukan pemberian air 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde.
 - d. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.
2. Kelompok KF1 1-5
 - a. Anastesi menggunakan ketamin 0,1 ml secara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar trigliserida sebagai data *pretest*.
 - b. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.
 - c. Dilakukan pemberian kafein dosis optimal yang dilarutkan dalam air dengan total 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde. Pemberian kafein 1 jam sebelum *exercise* dikarenakan untuk mencapai kadar puncak kafein dalam tubuh ialah sekitar 45 menit sampai 1 jam.
 - d. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.
3. Kelompok KF2 1-5
 - a. Anastesi menggunakan ketamin 0,1 ml secara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar trigliserida sebagai data *pretest*.
 - b. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.

- c. Dilakukan pemberian kafein dosis tinggi dilarutkan dalam air dengan total 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde. Pemberian kafein 1 jam sebelum *exercise* dikarenakan untuk mencapai kadar puncak kafein dalam tubuh ialah sekitar 45 menit sampai 1 jam.
- d. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.

3.7.3 Tahap Pemeriksaan Trigliserida Darah

1. Tikus yang telah melalui perlakuan diambil darahnya melalui *sinus orbitalis*.
2. Darah yang telah diambil langsung dilakukan pengukuran trigliserida dengan Trigliserida meter merk *Accutrend Plus*.



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

3.8 Rencana Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar Trigliserida darah tikus akan dianalisis menggunakan software SPSS. Uji normalitas data menggunakan uji *Saphiro Wilk*. Apabila uji normalitas didapatkan data terdistribusi normal, maka analisis statistik data menggunakan uji *One Way ANOVA*. Apabila uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal, maka analisis statistik data menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Data dinyatakan terdapat perbedaan bermakna jika Trigliserida darah antara kelompok kontrol dengan kelompok uji apabila diperoleh nilai $p < 0,05$ (Dahlan, 2009).

3.9 Etika Penelitian

1. Mengajukan persetujuan kepada Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
2. Perlakuan hewan coba
 - a. Menaruh hewan coba pada tempat yang layak.
 - b. Memberi makan dan minum sesuai kebutuhan hewan coba.
 - c. Melakukan perlakuan untuk penelitian sesuai dengan prosedur penelitian.
 - d. Membunuh dengan cara memberi ketamin secara injeksi intramuskular hingga dosis letal.
3. Setelah tikus mati maka dikuburkan di tempat yang telah ditentukan.
4. Jika tikus belum mati maka akan dihibahkan ke Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

3.10 Jadwal Kegiatan

Tabel 3. Jadwal Penelitian

| No. | Kegiatan | Bulan | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|---------------------------------------|-------|---|---|---|----|---|---|---|-----|---|---|---|----|---|---|---|---|---|
| | | I | | | | II | | | | III | | | | IV | | | | V | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 |
| 1 | Pembuatan proposal | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | | | | |
| 2 | Perlakuan | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Pemeriksaan trigliserida darah tikus. | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Analisis trigliserida darah tikus. | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Penyusunan laporan | | | | | | | | | | | | | | | | | ■ | ■ |