

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 asam laktat 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*.(Spriet,2014)

3.2. Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1. Waktu

Bulan Maret 2019 – Mei 2019

3.2.2. Tempat

Laboratorium Fisiologi FK UII

3.3. Populasi dan Subjek Penelitian

3.3.1. Populasi penelitian

Populasi penelitian adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diberikan *exercise*.

3.3.2. Sampel penelitian

Sampel penelitian diambil dari populasi sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi serta diambil dari lab Riset Fakultas Kedokteran UII.

3.3.2.1. Kriteria inklusi.

1. Berumur 2-3 bulan.
2. Berat badan 100-200 gram.
3. Jenis kelamin jantan.
4. Sehat dan tanpa cacat fisik
5. Belum pernah digunakan untuk penelitian.

3.3.2.2. Kriteria Eksklusi

1. Gerakan tidak aktif dan tampak lemah.
2. 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.

- a. Kelompok KF0 (tanpa pemberian kafein) terdiri dari 5 ekor tikus wistar tanpa diberi perlakuan.
- b. Kelompok KF1 (kontrol kafein dosis optimal) terdiri dari 5 ekor tikus wistar diberi perlakuan dengan pemberian kafein dosis optimal.
- c. 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 kadar asam laktat darah tikus wistar.

3.4.3. Variable pengganggu

- a. Variabel pengganggu yang dapat dikendalikan antara lain:
1. 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

Tabel 3. Definisi operasional

Variabel	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 <i>exercise</i> dengan dosis 7.56 mg untuk tikus 200 g.
Pemberian kafein dosis tinggi	Pemberian kafein sebelum tikus melakukan <i>exercise</i> dengan dosis 11.34 mg untuk tikus 200 g
<i>Exercise</i>	Olahraga tikus dengan cara memutar <i>Running Wheel</i> selama 25 menit dengan kecepatan 16-17,5m/menit
Asam laktat darah tikus	Asam laktat darah tikus pada vena orbital setelah <i>exercise</i> diukur dengan menggunakan laktat meter.

3.6. Instrumen Penelitian

1. Alat

1. Persiapan dan perlakuan hewan coba : tempat penampungan tikus sementara, sonde untuk memasukkan kafein, spidol untuk labeling, berserta 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 asam laktat darah.

2. Bahan

1. Persiapan dan perlakuan hewan coba : kafein.
2. Pengambilan sampel asam laktat darah hewan coba : darah dari vena orbital.

3.7. Alur Penelitian

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 maksimal).

2. Tahap Perlakuan

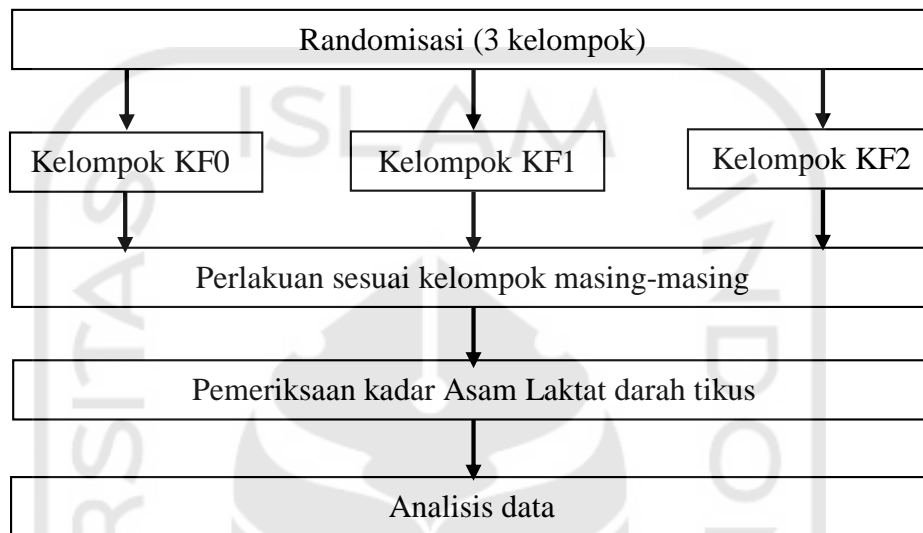
1. Kelompok Kontrol (KF0)
 1. Anastesi menggunakan ketamin dosis 1 mg/kgbb dengan cara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah guna pretest asam laktat.
 2. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.
 3. Dilakukan pemberian air 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde.
 4. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.

2. Kelompok yang diberi dosis optimal dengan dosis 7.56 mg/200g (KF1)
 1. Anastesi menggunakan ketamin dosis 1 mg/kgbb dengan cara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah guna pretest asam laktat.
 2. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.
 3. Dilakukan pemberian kafein dosis optimal yang dilarutkan dalam air dengan total 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde.
 4. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.

- b. Kelompok yang diberi dosis maksimal dengan dosis 11.34 mg/200g (KF1)
 1. Anastesi menggunakan ketamin dosis 1 mg/kgbb dengan cara injeksi intramuskular dan dilakukan pengambilan darah guna pretest asam laktat .
 2. Tikus diberi waktu 90 menit guna mengembalikan kondisi tikus ke semula untuk menghindari bias yang dikarenakan efek anastesi.
 3. Dilakukan pembeian kafein dosis tinggi dilarutkan dalam air dengan total 5cc 1 jam sebelum *exercise* menggunakan sonde.
 4. *Exercise* dengan cara memutar *Running Wheel* selama 25 menit.

3. Tahap Pemeriksaan Asam Laktat Darah

1. Tikus yang telah melalui perlakuan diambil darahnya melalui *plexus preorbitalis*.
2. Darah yang telah diambil langsung dilakukan pengukuran asam laktat dengan alat laktat meter.



Gambar 3.1 Alur penelitian

3.8. Rencana Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar asam laktat 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, lalu dilakukan uji lanjutan dengan uji post-hoc Tukey HSD . Apabila uji normalitas menunjukkan data tidak terdistribusi normal, maka analisis statistik data menggunakan uji Kruskal-Wallis. Data dinyatakan terdapat perbedaan bermakna jika asam laktat 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
 - 2.1 Menaruh hewan coba pada tempat yang layak.
 - 2.2 Memberi makan dan minum sesuai kebutuhan hewan coba.
 - 2.3 Melakukan perlakuan untuk penelitian sesuai dengan prosedur penelitian.
 - 2.4 Mematikan dengan cara memberi ketamin dengan dosis letal.
3. Setelah tikus mati maka dikuburkan di tempat yang telah ditentukan.
4. Jika tikus belum mati maka hewan akan dihibahkan ke laboratorium riset.

3.10 Jadwal Kegiatan

Tabel 4. 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 asam laktat darah tikus.																		
4	Analisis asam laktat darah tikus.																		
5	Penyusunan laporan																		