III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Subjek Penelitian

Hewan penelitian adalah tikus jantan galur wistar *(Rattus Norvegicus)*, umur 8-12 minggu dengan berat badan 200-300 gr. Sampel penelitian dipilih secara *Simple Random Sampling* berjumlah 24 ekor tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus jantan galur wistar. Selama penelitian selain perlakuan utama, semua tikus tetap diberi makan campuran pelet dan gabah dan diberi minum secukupnya.

Menurut Frederer, rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah

$$t(n-1) > 15$$

Dimana t merupakan jumlah kelompok percobaan dan n merupakan jumlah pengulangan atau jumlah sampel tiap kelompok. Penelitian ini akan menggunakan 4 kelompok perlakuan sehingga perhitungan sampel menjadi :

$$4(n-1) > 15$$

$$4n-4 > 15$$

$$4n > 19$$

$$n > 4,75$$

Jadi sampel yang akan digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 6 ekor (n > 4,75) dengan 1 tikus sebagai cadangan dan jumlah kelompok yang akan digunakan adalah 4 kelompok sehingga penelitian ini akan menggunakan 24 ekor tikus dari populasi yang ada.

3.1.1 Kriteria Inklusi

Kriteria inklusi pada penelitian ini adalah:

1) Tikus jantan galur wistar
2) Berumur 8-12 minggu
3) Berat badan rata-rata 200-300 gram
4) Didapatkan dari tempat pembiakan yang sama, pakan yang sama.

3.1.2 Kriteria Eksklusi

Kriteria ekslusi dari penelitian ini adalah:

1) Terlihat sakit selama masa adaptasi (gerak tidak aktif, bulu terlihat suram, kotoran cair, luka gigitan)
2) Penurunan berat badan selama adaptasi lebih dari 10%

3.2 Metode Penelitian

Metode penelitian meliputi tipe penelitian, variabel penelitian, definisi operasional variabel, instrumen penelitian, prosedur penelitian, rancangan analisis data, waktu dan tempat penelitian.

3.2.1 Tipe Penelitian

Tipe penelitian adalah studi eksperimental laboratorium dalam bidang Ilmu Faal dan Kesehatan Olahraga yang dilanjutkan dengan pemeriksaan darah. Eksperimen dilakukan di Eksperimen dilakukan di Laboratorium FK UNILA dan laboratorium klinik duta medika. Adapun tipe penelitian ini adalah *pre* dan *post-test design*.

Sebelum diberi latihan intensitas sedang, sebelum pemberian ekstrak daun suji (pre tes), kadar kolesterol diperiksa. Sedangkan postes adalah pengukuran kadar Kolesterol dilakukan setelah latihan intensitas sedang, setelah pemberian ekstrak daun suji selama 14 hari. Intervensi pada penelitian ini adalah latihan intensitas sedang, pemberian ekstrak daun suji pada tikus jantan galur wistar. Tikus dibagi dalam 6 kelompok; kelompok I (Tikus yang latihan intensitas sedang dan diberi ekstrak daun suji), kelompok II (Tikus yang diberi ekstrak daun suji), kelompok III (Tikus yang latihan intensitas sedang), kelompok IV adalah kontrol.

3.2.2 Variabel Penelitian

Variabel penelitian ini terdiri variabel perlakuan (*independent*) dan variabel respon (*dependent*).

1) Variabel perlakuan adalah latihan intensitas sedang, pemberian ekstrak daun suji

2) Variabel respon penelitian ini adalah kadar kolesterol tikus jantan galur wistar

3.2.3 Definisi Konsep dan Definisi Operasional Variabel

Untuk menjelaskan variabel-variabel yang terlibat dalam penelitian ini maka diberikan definisi konsep dan operasional sesuai konteks penelitian

Tabel 3.1 **:** Definisi Konsep dan Definisi Operasional Variabel
(Bahri Anwar, 2004, Feruzzia, 2006)

No.	Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Jenis Variabel	Keterangan
1	Latihan Intensitas Sedang	Usaha atau tenaga yang dilakukan mencapai 70-79% *Maximal Heart Rate (MHR)*	1 menit 10 detik/hari	Numerik	1 = diberikan
2	Ekstrak Klorofil Daun Suji	Daun suji yang telah di ekstraksi diberikan kepada tikus	15 mg/kg BB	Kategorik	0 = tidak diberikan 1 = diberikan
3	Kolesterol	Metabolik yang menandung lemak sterol Diukur secara pretest dan postest	Normal < 200 mg/dl Sedang 200-239 mg/dl Timggi > 240 mg/dl	Kategorik	0 = tidak meningkat 1 = meningkat

3.2.4 Alat dan Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

(1) Ekstrak daun suji

(2) Makanan Standar Tikus (pellet dan gabah)

(3) Aquabides

(4) Reagen untuk analisis - kolesterol79,80

Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah:

1) Tempat Berenang Tikus

2) Timbangan Tikus, Timbangan Analitik

3) Sonde untuk pemberian oral

4) Pipet Mikro (500 µl; Reagen, 100 µl; HDL)

5) Tik biru (untuk memindahkan Reagen) dan kuning (untuk memindahkan Serum)

6) Sentrifuge.

7) Tabung Reaksi, Tabung sampel darah

8) Spektrofotometer Sumifin 1904-F (*Semi Automatic*)

9) Alat tulis

3.2.5 Prosedur Penelitian

Tipe penelitian adalah studi eksperimental laboratorium dalam bidang Ilmu Faal dan Kesehatan Olahraga yang dilanjutkan dengan pemeriksaan darah. Eksperimen dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas kedokteran Universitas Lampung dan laboratorium klinik duta medika. Adapun tipe penelitian ini adalah *pre* dan *post-test design*.

Pretes pada penelitian ini adalah pengukuran kadar Kolesterol sebelum pemberian ekstrak daun suji, postes adalah pengukuran kadar Kolesterol setelah pemberian ekstrak daun suji selama 1 minggu. Intervensi pada penelitian ini adalah pemberian ekstrak daun suji pada tikus jantan galur wistar. Kelompok dibagi 2, kelompok A tikus jantan galur wistar dengan

pemberian ekstrak daun suji, kelompok B tikus jantan galur wistar hanya diberi pakan pellet dan gabah tanpa pemberian ekstrak daun suji

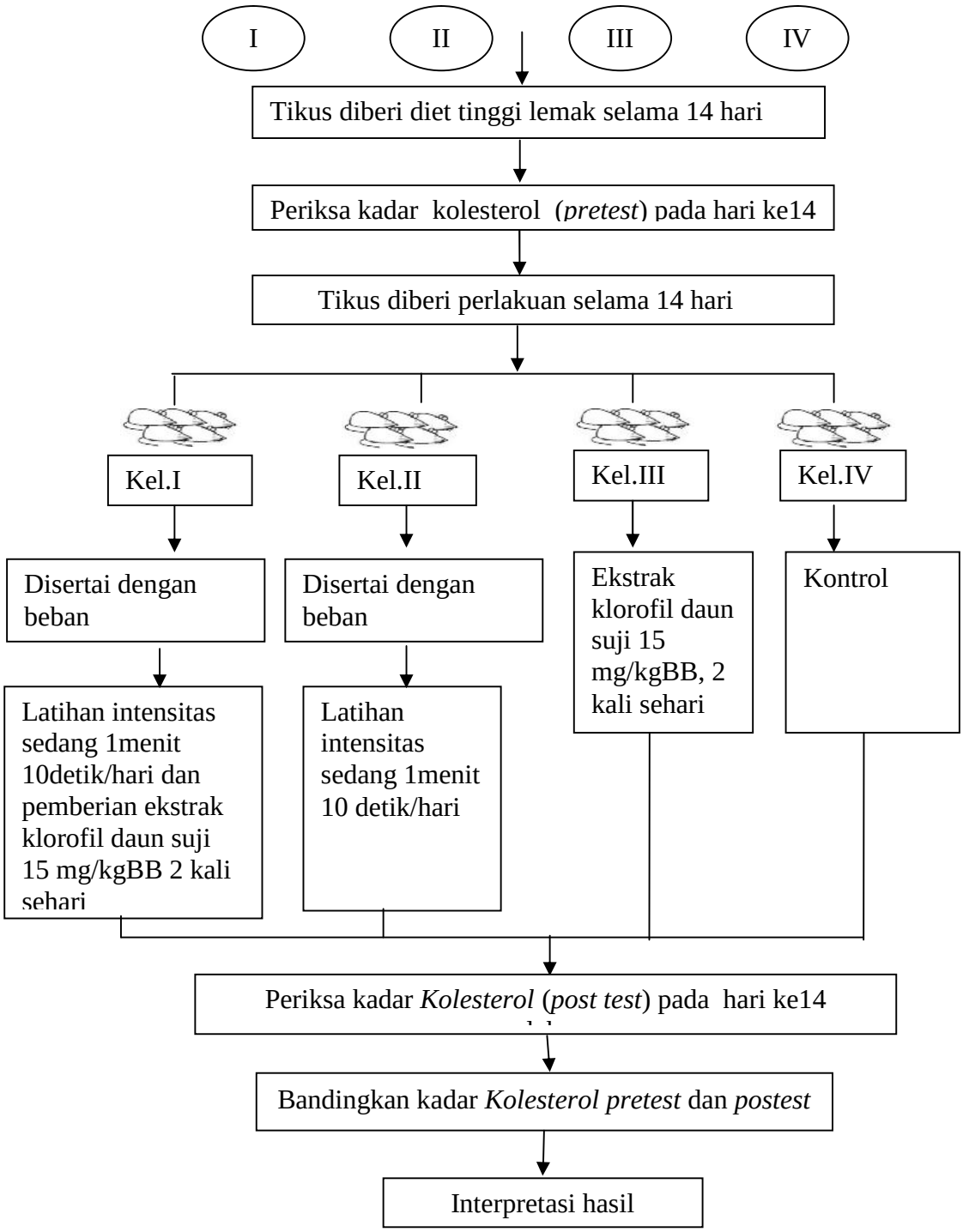
Untuk mengetahui perbedaan pengaruh latihan intensitas sedang dan pemberian ekstrak daun suji terhadap kadar Kolesterol pada tikus, dilakukan perlakuan latihan intensitas sedang, pemberian ekstrak daun suji pada tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok: kelompok I, II, III, dan IV. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, dengan total sampel 24 ekor.

Tikus dari kelompok I, II, III, dan IV dipelihara dalam kondisi yang sesuai selama 7 hari dan diberi pakan pelet dicampur gabah dan minum yang cukup. Kemudian diberi makan tinggi lemak dan kolesterol selama 14 hari. Pada hari ke 15 diambil darah dari ekor tikus (kelompok I, II, III, dan IV) sebanyak 2 cc untuk pemeriksaan kadar kolesterol (Pre tes).

Selanjutnya adalah perlakuan pada tikus jantan galur wistar selama 14 hari pada kelompok yang telah ditentukan, yaitu kelompok I (latihan intensitas sedang dan diberi ekstrak daun suji 15 mg / bb, 2 kali sehari), kelompok II (diberi ekstrak daun suji 15 mg / bb, 2 kali sehari), kelompok III (latihan intensitas sedang), dan kelompok IV adalah kontrol.

Pada hari ke 15, diambil darah dari ekor tikus dengan cara memotong bagian ujung ekor tikus (kelompok I, II, III, dan IV) sebanyak 2 cc untuk pemeriksaan kadar kolesterol (Post tes). Kemudian data ditabulasi untuk menganalisa secara statistik pengaruh pemberian ekstrak daun suji

terhadap kadar kolesterol pada tikus yang diberi latihan intensitas sedang dan selanjutnya hasil pemeriksaan ditabulasi dan dianalisis statistik.



Tabel 3.2. Diagram alur penelitian

3.2.6 Rancangan Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan program *SPSS V. 17.0 for windows* dengan tingkat signifikasi p< 0.05, langkah-langkahnya sebagai berikut:

1) Uji Normalitas Data (p> 0,05)

Pengujian normalitas data menggunakan *Kolmogorov-Smirnov z test* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak normal. Hasil uji normalitas ini untuk menentukan analisis berikutnya, yaitu analisis parametrik bila data berdistribusi normal atau non parametrik bila data tidak berdistribusi normal.

2) Uji Homogenitas Data (p> 0,05)

Pengujian homogenitas data menggunakan *Leven's* untuk mengetahui data homogen atau tidak homogen. Hasil uji homogenitas ini untuk menentukan analisis berikutnya, yaitu analisis parametrik bila data homogen atau non parametrik bila data tidak homogen.

3) Uji Parametrik *(Dependent t-test)*

Untuk menguji pengaruh perlakuan pada kelompok I, kelompok II, kelompok III, kelompok IV terhadap kadar Kolesterol pada tikus.

4) Uji Parametrik *(One-Way Anova)*

Untuk menguji perbedaan pengaruh kelompok I, kelompok II, kelompok III, dan kelompok IV terhadap kadar Kolesterol pada tikus.

3.2.7 Tempat dan Waktu Penelitian

1) Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi FK UNILA dan laboratorium klinik duta medika.
2) Waktu Penelitian: Bulan Oktober- November 2011.