

III. METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian adalah eksperimental *pre* dan *post-test design*. Sebelum diberi latihan intensitas sedang dan sebelum pemberian kacang tanah (*pretest*), kadar *LDL* kolesterol diperiksa. Sedangkan *post test* adalah pengukuran kadar *LDL* kolesterol dilakukan setelah latihan intensitas sedang, setelah pemberian bubuk kacang tanah selama 14 hari.

B. Tempat dan Waktu

1. Tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan Laboratorium Klinik Duta Medika Bandar Lampung.

2. Waktu

Bulan Mei 2012.

C. Populasi dan Sampel

Populasi yang akan digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*), umur 8-12 minggu dengan berat badan 200-300

gr.Selama penelitian selain perlakuan utama, semua tikus tetap diberi makan pakan standardan diberi minum secukupnya.

Sampel penelitian yang digunakan sebanyak 24 ekor yang dipilih secara acak dan dibagi dalam 4 kelompok dengan pengulangan sebanyak 6 kali, sesuai dengan rumus Frederer.Menurut Frederer (1967), rumus penentuan sampel untuk uji eksperimental adalah

$$t(n-1) \geq 15$$

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 :

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75$$

Jadi sampel yang akan digunakan tiap kelompok percobaan sebanyak 6 ekor ($n \geq 4,75$) dan jumlah kelompok yang akan digunakan adalah 4 kelompok sehingga penelitian ini akan menggunakan 24 ekor tikus dari populasi yang ada.

1. Kriteria inklusi :

- a. Tikus jantan galur wistar
- b. Berumur 8-12 minggu
- c. Berat badan rata-rata 200-300 gram
- d. Didapatkan dari tempat pembiakan yang sama, pakan yang sama

2. Kriteria Eksklusi :

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

D. Alat Dan Bahan

1. Alat

- 1). Timbangan tikus, timbangan analitik
- 2). Sonde untuk pemberian oral
- 3). Pipet Mikro (500 μ l; Reagen, 100 μ l; *LDL*)
- 4). Tik biru (untuk memindahkan reagen) dan kuning (untuk memindahkan serum)
- 5). Sentrifuge
- 6). Tabung
- 7). Spektrofotometer Sumifin 1904-F (*Semi Automatic*)
- 8). Alat tulis
- 9). Kolam renang buatan

2. Bahan

- 1). Bubur kacang tanah, kacang tanah yang digunakan adalah kacang tanah varietas lokal (*spanish*).
- 2). Pakan standar tikus BR-2 (Pakan standar BR-2 mengandung air, abu, protein, dan serat kasar)
- 3). Mentega
- 4). Aquades
- 5). Reagen untuk analisis *LDL* kolesterol 179,80

E. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

1. Identifikasi Variabel

- a. Variabel perlakuan adalah pemberian bubur kacang tanah dan latihan intensitas sedang.
- b. Variabel respon adalah kadar *LDL* kolesterol tikus jantan galur wistar.

2. Definisi Operasional Variabel

Untuk menjelaskan variabel-variabel yang terlibat dalam penelitian ini makadiberikan definisi konsep dan operasional sesuai konteks penelitian.

Tabel 3. Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi	Hasil Ukur	Jenis Variabel
1	Bubur Kacang Tanah	Bubur yang dibuat dengan campuran air dan kacang tanah variasi lokal yang direbus. Dengan perbandingan air berbanding kacang tanah 4:1 saat merebus. Setelah direbus kacang tanah ditumbuk dan dicampur dengan air lagi dengan perbandingan air berbanding kacang tanah 2:1. Pada penelitian ini tikus diberi bubur kacang tanah 0,5 gram/hari (konversi 28 gram per porsi pada manusia), 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 14 hari.	0: Tidak diberi 1: Diberi	Nominal
2	Latihan Intensitas Sedang	Tikus berenang dengan durasi 1 menit 10 detik/hari (konversi 1 jam pada manusia) dan diberi beban 6% dari berat badan	0: Tidak diberi 1: Diberi	Nominal
3	LDL	Jenis lipoprotein yang bersifat destruktif. Pada penelitian ini kadar <i>LDL</i> diambil dari ekor (vena lateralis) tikus putih galur wistar (<i>Rattusnorvegicus</i>) sebanyak 2 cc.	0: tidak meningkat 1: meningkat	Nominal

F. Prosedur Penelitian

1. Alur penelitian

Tipe penelitian adalah studi eksperimental laboratorium dalam bidang Ilmu Fisiologi dan Kesehatan Olahraga yang dilanjutkan dengan pemeriksaan darah. Untuk mengetahui perbedaan pengaruh latihan intensitas sedang dan pemberian kacang tanah terhadap kadar *LDL* kolesterol pada tikus, dilakukan perlakuan latihan intensitas sedang dan pemberian bubur kacang tanah pada tikus jantan galur wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok A, B, C, dan D. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, dengan total sampel 24 ekor.

Tikus dari kelompok A, B, C dan D dipelihara dalam kondisi yang sesuai selama 7 hari dan diberi pakan standar BR-2 dan minum yang cukup. Kemudian diberi makan tinggi lemak dan kolesterol selama 14 hari. Pada hari ke 15 diambil darah dari ekor tikus (kelompok A, B, C dan D) sebanyak 2 cc untuk pemeriksaan kadar *LDL* (*pretest*), selanjutnya adalah perlakuan pada tikus jantan galur wistar selama 14 hari pada kelompok yang telah ditentukan, yaitu kelompok A (latihan intensitas sedang dengan durasi 1 menit 10 detik /hari dan diberi bubur kacang tanah 0.5 gr, 2 kali sehari), kelompok B (latihan intensitas sedang dengan durasi 1 menit 10 detik /hari), kelompok C (diberi bubur kacang tanah 0.5 gr, 2 kali sehari), kelompok D adalah kontrol. Pada hari ke 29, diambil darah dari ekor tikus dengan cara memotong bagian ujung ekor tikus (kelompok A, B, C dan D) sebanyak 2 cc untuk pemeriksaan kadar *LDL* (*posttest*). Hasil penelitian berupa data dan ditabulasi untuk menganalisa secara statistik untuk mengetahui pengaruh pemberian kacang tanah dan latihan intensitas sedang terhadap kadar *LDL* kolesterol tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak.

2. Prosedur pemberian diet tinggi lemak

Konsumsi 15gr (lemak jenuh maksimal pada manusia per hari) x 0,018 (konversi manusia pada tikus) = 0,27gr. Diet tinggi lemak diberikan dengan mencampurkan pakan standar BR-2 dengan mentega, dengan asupan mentega minimal 0,27gr/hari pada tiap tikus.

3. Perhitungan pemberian asupan kacang tanah

Asupan 28gr (pada manusia) x 0,018 (konversi manusia pada tikus) = 0,5gr

Jadi diberikan bubur kacang tanah pada tikus sebanyak 0,5gr 2 kali/hari.

Kelompok tikus yang diberi kacang tanah adalah sebanyak 12 ekor, jadi sehari digunakan 12gr kacang tanah (Ngatidjan, 2001). Dalam 1gr kacang tanah terdapat 1,6mg fitosterol (Mayo C, 2008), jadi tiap 1 kali asupan 0,5gr kacang tanah terkandung 0,8mg fitosterol.

4. Prosedur pembuatan bubur kacang tanah

Kacang tanah varietas lokal (*spanish*) yang telah dikupas direbus dengan air dengan perbandingan kacang tanah berbanding air 1:4. 100gr kacang tanah direbus dalam 400ml air selama 45menit, lalu dibuang kulit arinya. Kacang yang sudah direbus ditumbuk hingga halus lalu dicampur lagi dengan air dengan perbandingan air berbanding kacang tanah 2:1. Kelompok tikus yang diberi kacang tanah adalah 12 ekor, jadi sehari digunakan 12gr kacang tanah rebus yang dicampur dalam 24ml air.

5. Prosedur pemberian latihan intensitas sedang

1jam (durasi pada manusia) x 0,018 (konversi manusia ke tikus) = 1menit 10detik. Tikus berenang selama 1 menit 10 detik dan diberikan beban 6% dari rata-

rata berat badan tikus, dengan ketentuan latihan intensitas ringan 3% dari berat badan, latihan intensitas sedang 6% dari berat badan, latihan intensitas tinggi 9% dari berat badan. Beban yang diberikan berupa batu yang sebelumnya telah ditimbang terlebih dahulu (6% dari rata-rata berat badan tikus) dan beban tersebut diikat di bagian ekor tikus (Agnes *et al*, 2008).

6. Prosedur pengambilan darah tikus

Ekor tikus dibersihkan dari bulunya, lalu dilakukan sayatan pada bagian ekor (vena lateralis). Darah yang mengalir sebanyak 2cc ditampung pada tabung eppendorf.

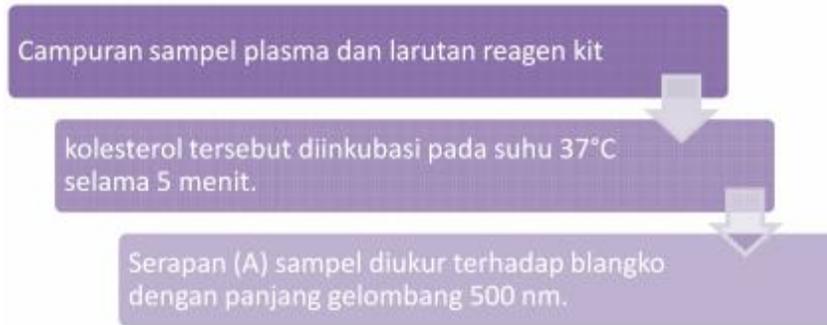
Metode Pemeriksaan: Enzymatic Colorimetric 62,63,64

Prinsip: Serum + *LDL* separating reagent sentrifuge *HDL* fraksi (supernatant) + kilomikron, *VLDL*, *LDL*, fraksi

Teknik pemeriksaan :

Ke dalam kuvet dipipetkan:

	Blangko	Tes
Sampel (plasma)	-	20 μ l
Larutan reagen kit kolesterol	2000 μ l	2000 μ l



Warna yang terbentuk adalah merahmuda lembayung, stabil dalam waktu 45 menit.

G. Rancangan Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan program *SPSS V. 16.0 for windows*, langkah-langkahnya sebagai berikut:

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

Pengujian normalitas data menggunakan *Shapiro-wilk 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 A, kelompok B, kelompok C, dan kelompok D terhadap kadar *LDL* kolesterol pada tikus.

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

Untuk menguji perbedaan pengaruh kelompok A, kelompok B, kelompok C, dan kelompok D terhadap kadar *LDL* kolesterol pada tikus.