

III. METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental murni, dengan menggunakan *pre* dan *post-test design*. *Pre-test* pada penelitian ini adalah pengukuran kadar LDL sebelum pemberian bubur kedelai dan latihan intensitas sedang, *post-test* adalah pengukuran kadar LDL setelah pemberian bubur kedelai dan latihan intensitas sedang selama 2 minggu.

B. Tempat dan Waktu

1. Tempat

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

2. Waktu

Bulan Maret - April 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 campuran pelet dan gabah dan 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

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

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 ($n > 4,75$) 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

- a. Timbangan tikus, timbangan analitik
- b. Sonde untuk pemberian oral
- c. Pipet Mikro
- d. Tik biru (untuk memindahkan Reagen) dan kuning (untuk memindahkan serum)
- e. Sentrifuge
- f. Tabung
- g. Spektrofotometer Sumifin 1904-F (*Semi Automatic*)
- h. Alat tulis
- i. Kolam air buatan (Latihan Intensitas Sedang)

2. Bahan

- a. Bubur kedelai
- b. Makanan Standar Tikus (pelet dan gabah)
- c. Aquades
- d. Reagen untuk analisis LDL-Kolesterol

E. Identifikasi Variabel dan Definisi Operasional Variabel

1. Identifikasi Variabel

- a. Variabel perlakuan adalah pemberian bubur kedelai (*Glycine max*) dan latihan intensitas sedang.
- b. Variabel respon penelitian ini adalah kadar LDL tikus putih jantan galur wistar.

2. Definisi Operasional Variabel

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

Tabel 2 Definisi operasional variabel

No	Variabel	Definisi	Jenis Variabel
1	Bubur Kacang Kedelai	Bubur yang dibuat dengan campuran air dan kacang kedelai yang direbus. Dengan perbandingan air berbanding kacang kedelai 4:1 saat merebus. Setelah direbus kacang kedelai ditumbuk dan dicampur dengan air lagi dengan perbandingan air berbanding kacang kedelai 2:1. Pada penelitian ini tikus diberi bubur kacang kedelai 0,5 gram/hari (konversi 28 gram per porsi pada manusia), 2 kali sehari (pagi dan sore) selama 14 hari.	Numerik
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	Numerik
3	LDL	Pada penelitian ini kadar <i>LDL</i> diambil dari ekor (vena lateralis) tikus putih galur wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) sebanyak 2 cc.	Kategorik

F. Prosedur Penelitian

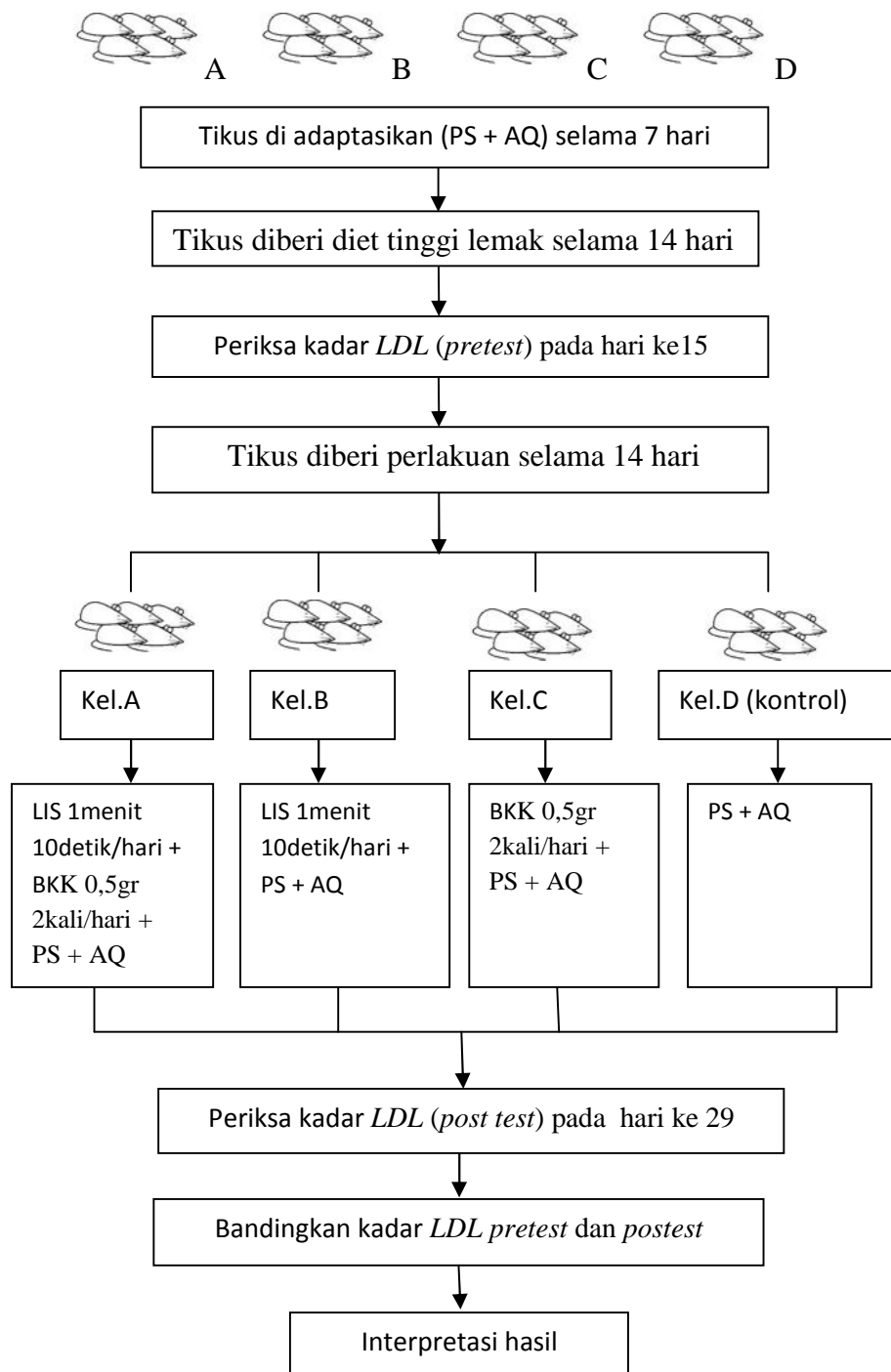
1. Alur penelitian

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 kedelai terhadap kadar *LDL* kolesterol pada tikus, dilakukan perlakuan latihan intensitas sedang dan pemberian bubur kacang kedelai 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* (*pre test*), 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 kedelai 0.5 gr, 2 kali sehari), kelompok B (latihan intensitas sedang dengan durasi 1 menit 10 detik /hari), kelompok C (diberi bubur kacang kedelai 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* (*post test*). Hasil penelitian berupa data dan

ditabulasi untuk menganalisa secara statistik untuk mengetahui pengaruh pemberian kacang kedelai dan latihan intensitas sedang terhadap kadar *LDL* kolesterol tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak.



Gambar 4. Diagram alur penelitian

Keterangan:

LIS : Latihan intensitas sedang

BKK : Bubur kacang kedelai

PS : Pakan standar BR-2 (Pakan standar BR-2 mengandung air, abu, protein, dan serat kasar)

AQ : Aquadest

2. Prosedur pemberian diet tinggi lemak

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

3. Perhitungan pemberian asupan kacang kedelai

Asupan pada manusia 28gr x konversi manusia pada tikus $0,018 = 0,5\text{gr}$

Jadi diberikan bubur kacang kedelai pada tikus sebanyak $0,5\text{gr}$ 2kali/hari.

Kelompok tikus yang diberi kacang kedelai adalah sebanyak 12 ekor, jadi sehari digunakan 12gr kacang kedelai (Ngatidjan, 2001).

4. Prosedur pembuatan bubur kacang kedelai

Kacang kedelai yang telah dikupas direbus dengan air dengan perbandingan kacang kedelai berbanding air 1:4. 100gr kacang kedelai 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 kedelai 2:1.

Kelompok tikus yang diberi kacang kedelai adalah 12 ekor, jadi sehari digunakan 12gr kacang kedelai rebus yang dicampur dalam 24ml air.

5. Prosedur pemberian latihan intensitas sedang

Durasi pada manusia 1jam x konversi manusia ke tikus $0,018 = 1$ menit 10 detik. 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 *LDL* fraksi (supernatant) + kilomikron, *VLDL*, *HDL*, fraksi

G. Rancangan Analisis Data

Analisis data penelitian diproses dengan program *SPSS V. 17.0 for windows* dengan tingkat signifikansi $p < 0.05$, 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 (kontrol) terhadap kadar LDL-Kolesterol pada tikus.

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

Untuk menguji perbedaan pengaruh kelompok A, kelompok B, kelompok C, kelompok D terhadap kadar LDL -Kolesterol pada tikus.