

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. DESAIN PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium pre- test dan post-test kontrol group desain. Evaluasi post-test dilakukan setelah perlakuan setiap tiga hari sekali selama 19 hari.

#### **B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN**

Penelitian dilakukan di laboratorium Pemeliharaan Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan. Sampel darah dibawa ke laboratorium LPPT UGM dan diukur dengan alat Hematology Analyzer. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei-sampai Desember 2008.

#### **C. POPULASI DAN SAMPEL**

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan usia dua sampai tiga bulan sebanyak 20 ekor ditentukan secara random. Sampel penelitian dibagi menjadi 10 kelompok yaitu :

1. Kontrol negatif, tikus tidak diberi perlakuan.

2. Kontrol positif, tikus dibuat perdarahan.
3. Kontrol positif angkak, tikus diberi angkak dosis 1 mg.
4. Kontrol positif angkak, tikus diberi angkak dosis 2 mg.
5. Kontrol positif angkak, tikus diberi angkak dosis 36 mg.
6. Kontrol positif angkak, tikus diberi angkak dosis 72 mg.
7. Tikus dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 1 mg.
8. Tikus dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 2 mg.
9. Tikus dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 36 mg.
10. Tikus dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 72 mg.

#### **D. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI**

##### 1. Kriteria Inklusi

Tikus *Wistar* jantan usia dua sampai tiga bulan dengan berat badan 150-300 gram.

##### 2. Kriteria Eksklusi

Tikus yang mengalami cacat tubuh, kurang sehat dan menderita kelainan tertentu.

#### **E. VARIABEL PENELITIAN DAN DEFINISI OPERASIONAL**

##### 1. Identifikasi Variabel

###### a. Variabel Independent

Dosis pemberian angkak sebanyak 0 (kontrol), 1 mg, 2 mg, 36 mg, dan 72 mg selama 3 minggu pada tikus.

b. Variabel Dependent

Jumlah kadar Hb dan sel darah merah masing-masing kelompok yang diukur setiap 3 hari sekali.

c. Variabel Perancu

Asupan makanan yang kurang sesuai, terdapat kelainan pada hewan uji.

d. Variabel Terkendali

1. Usia : Tikus galur *Wistar* usia 2-3 bulan.
2. Jenis Kelamin : Subyek memiliki jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
3. Berat Badan : Penelitian ini menggunakan subyek yang memiliki berat badan antara 150-300 gram.
4. Lama Perlakuan dan Takaran Sampel : Dikendalikan dengan lama penelitian yang sama pada tiap kelompok yaitu 1 bulan dan takaran sampel yang sama untuk tiap kelompoknya yaitu kelompok kontrol negatif tidak mendapat perlakuan apa-apa, kelompok kontrol positif dibuat perdarahan, dan dua kelompok sampel mendapat angkak dengan dosis 1mg, 2 mg, 36 mg dan 72 mg.

## 2. Definisi Operasional

- a. Angkak atau beras merah merupakan produk fermentasi beras yang difermentasikan selama sepekan dengan cendawan/kapang *Monascus purpureus*. Beras yang semula putih berubah warna menjadi merah gelap. Jenis sediaan angkak yang digunakan berupa kapsul dengan dosis pada manusia 2000 mg perhari yang dikonversikan ke tikus.
- b. Dosis angkak yang di yang dianjurkan pada manusia yaitu 2000 mg perhari. Dosis tersebut dikonversikan ke tikus dengan menggunakan dua perhitungan, yaitu :

1. Perbandingan konversi manusia ke tikus adalah 1 : 0,018

$$\text{Dosis perKg BB manusia} = 2000 \text{ mg} : 70 \text{ kg (berat dewasa)}$$

$$= 28,5 \text{ mg perKg BB perhari}$$

$$\text{Konversi ke tikus} = 28,5 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 0,5 \text{ mg perKg BB perhari}$$

$$= 0,5 \text{ mg per1000gr BB perhari}$$

$$\text{Dosis tikus dewasa(200gr)} = 200 \text{ gr} : 1000\text{gr} \times 0,5 \text{ mg}$$

$$= 0,1\text{mg} \times 10(\text{faktor farmakokinetik})$$

$$= 1 \text{ mg}$$

2. Dosis pada manusia = 2000 mg

$$\text{Dosis tikus} = 2000 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 36 \text{ mg}$$

Jadi didapat dosis pertama yaitu 1 mg, dosis kedua dua kali dosis pertama yaitu 2 mg, dosis ketiga yaitu 36 mg, dan dosis keempat dua kali dosis ketiga yaitu 72 mg.

- c. Kadar hemoglobin adalah kadar yang diperoleh dari pengambilan darah subyek penelitian sebelum dan sesudah pemberian angkak yang diukur di laboratorium FK UMY dan dengan Automatic Haemocytometer di LPPT UGM
- d. Jumlah eritrosit adalah jumlah yang diperoleh dari pengambilan darah subyek penelitian sebelum dan sesudah pemberian angkak yang diukur di laboratorium FK UMY dan dengan Automatic Haemocytometer di LPPT UGM

## **F. INSTRUMEN PENELITIAN**

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Alat dan bahan pengambilan darah :
  - a. Eppendorf
  - b. EDTA
  - c. Gunting
  - d. Kapas alkohol
2. Alat dan bahan pemeliharaan tikus serta sonde untuk pemberian angkak.

## G. PROSEDUR PENELITIAN

Tahapan penelitian yang dirancang untuk pengumpulan data adalah sebagai berikut :

1. Tikus dikelompokkan sesuai perlakuan.
2. Tikus diadaptasi selama satu minggu.
3. Tikus dibuat anemia perdarahan.
4. Pengambilan Darah

Pengambilan darah awal sebelum perlakuan (pretest) dan melalui ekor. Tikus dijemur dibawah terik matahari pagi (jam 09.00-10.00) selama  $\pm$  30menit. Ekor diolesi minyak balsam selama  $\pm$  1-2 menit agar terjadi vasodilatasi pembuluh darah ekor. Lalu ekor dipotong dengan gunting sepanjang  $\pm$  5 mm, darah yang keluar ditampung dalam ependorf yang telah diberi antikoagulan.

5. Pemberian perlakuan sesuai kelompok perlakuan selama 19 hari.
6. Pengambilan dan pengukuran sampel darah

Pengukuran sel darah merah dan hb ( $\text{sel}/\text{mm}^3$ ) dengan Automatic Haemocytometer di LPPT UGM dilakukan setiap 6 hari sekali selama 19 hari.

## **H. ANALISIS DATA**

Data berupa jumlah penghitungan sel darah dari masing-masing kelompok ditabulasi dan dianalisis menggunakan :

1. One Way ANOVA untuk menentukan kadar Hb dan jumlah eritrosit pada keadaan awal.
2. One Way ANOVA untuk menentukan perbedaan selisih nilai awal dan akhir kadar Hb dan jumlah eritrosit efek perlakuan antar kelompok.
3. T-test untuk mengetahui perubahan kadar Hb dan jumlah eritrosit keadaan awal dan akhir.