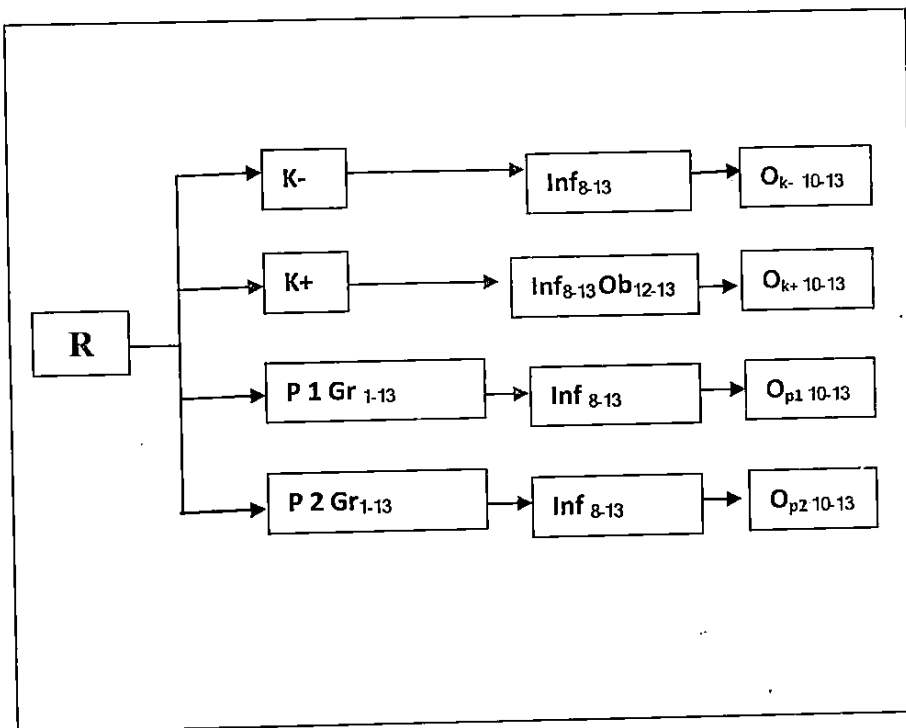


BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental *Post Test Only Group Design* pada *Rattus norvegicus*. Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan, kelompok kontrol positif dengan pemberian obat kombinasi Sulfamethoxazole-Trimethoprim, kelompok perlakuan dengan pemberian growol 50%, dan kelompok perlakuan pemberian growol 100%.

Pengamatan dilakukan setelah pemberian perlakuan selesai. Variable yang diukur adalah frekuensi BAB, konsistensi feses, dan berat badan.



Gambar 2. Skema desain penelitian

Keterangan :

- R : *Random sampling*
- K- : Kelompok kontrol negatif
- K+ : Kelompok kontrol positif
- P 1 Gr₁₋₁₃ : Kelompok perlakuan pemberian growol 50% pada hari ke 1-13
- P 2 Gr₁₋₁₃ : Kelompok perlakuan pemberian growol 100% pada hari ke 1-13
- Inf₇₋₁₃ : Infeksi EPEC pada hari ke 8-13
- Inf₇₋₁₃Ob₁₂₋₁₃ : Infeksi EPEC pada hari ke 8-13 dan pemberian obat kombinasi pada hari ke 13-13
- O₁₀₋₁₃ : Observasi pada hari ke 10-13

B. Subyek penelitian

Subyek penelitian adalah 24 ekor tikus putih umur 2-3 bulan yang dipilih secara random. Subyek penelitian dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (6 ekor), kontrol positif (6 ekor), perlakuan pemberian growol 50% (6 ekor), dan perlakuan pemberian growol 100% (6 ekor)

$$\begin{aligned} (n-1)(p-1) &\geq 15 \\ (n-1)(4-1) &\geq 15 \\ (n-1)3 &\geq 15 \\ 3n-3 &\geq 15 \\ 3n &\geq 18 \\ n &\geq 6 \end{aligned}$$

Keterangan

- n : jumlah *Rattus norvegicus*
p : jumlah kelompok penelitian

Jumlah *Rattus norvegicus* dalam satu kelompok minimal 4 ekor.

C. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi

Rattus norvegicus strain wistar, jenis kelamin laki-laki, umur 2 sampai 3 bulan, dan berat badan 150-200 gram.

2. Kriteria Eksklusi

- a. Jika mati saat penelitian
- b. Jika tidak menunjukkan respon diare

D. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium pemeliharaan hewan coba Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FKIK UMY) untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan serta pengukuran hasil yang dibandingkan antar kelompok. Penelitian ini

E. Variabel dan Definisi Operasional

1. Identifikasi Variabel

a. Variabel Independen

Variabel bebas dari penelitian ini adalah pemberian growol 100% dan 50%, obat Sulfamethoxazole -Trimethoprim.

b. Variabel dependen

Variabel terikat dari penelitian ini adalah frekuensi BAB dan konsistensi feses pada tikus yang diukur setelah pemberian EPEC

c. Variabel pengganggu tidak dikendalikan.

Respon imunitas.

d. Variabel Terkendali

- 1) Jenis kelamin (Jantan)
- 2) Umur (2-3 bulan)
- 3) Strain (Wistar)
- 4) Berat badan (150-200 gram)

2. Definisi operasional

a. Growol yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari penjual dan pembuat growol di pasar tradisional Sentolo, Kulon progo, DIY.

b. Growol 50% adalah pemberian growol 10 gram dan ransum 10 gram.

c. Growol 100% adalah pemberian growol 20 gram tanpa

c. *Enteropathogenic E. coli* (EPEC) didapat dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta sebagai induk kultur. Pengembangbiakan bakteri ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu kesehatan UMY, yaitu dengan menumbuhkan pada media *nutrient broth* selama 24 jam pada suhu 37⁰C. Satu ose bakteri yang telah diinkubasi tersebut lalu disuspensikan kedalam 2 ml media *Brain Heart Infusion* dengan aquades steril sampai kekeruhan sesuai dengan standar Brown III hingga mencapai populasi 10⁸ cfu/ml, sebagai kultur kerja. EPEC yang dicekakkan ke tikus percobaan disiapkan dengan cara mengencerkan kultur kerja pada media NaCl fisiologis 0,85% hingga mencapai 10⁶ cfu/ml. Populasi EPEC penyebab diare diberikan 1 ml dalam 10⁶ cfu/ml per hari berdasarkan pada dosis infeksi EPEC (Oyetayo, 2004 dalam Arief, 2008).

d. Obat standar yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi dari Sulfamethoxazole 400 mg dan Trimethoprim 80 mg.¹

Perhitungan pemberian dosis adalah sebagai berikut

Dosis pada manusia (berat badan 70 kg) = 480 mg 2x/ hari

= 960 mg/ hari

Angka konversi dosis dari manusia ke tikus = 0.018

Dosis untuk tikus 0.018 x 960 mg = 17.27 mg/ekor

Dosis untuk tikus dengan berat badan 200 gram adalah 17.28 mg/ekor.

- e. Waktu muncul diare adalah waktu pertama kali terlihat feses lembek, setengah cair atau cair. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam (berdasarkan uji pendahuluan).
- f. Frekuensi diare adalah jumlah feses tiap hari. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 4 hari, dimulai 48 jam setelah infeksi.
- g. Konsistensi feses adalah sifat kelembekan feses, dalam penelitian ini konsistensi feses dinilai dengan skor :

3 = cair, feses tidak berbentuk dan terbadap cairan secara menyeluruh.

2 = setengah cair, feses berbentuk dan terdapat cairan disekitar feses.

1 = lembek, feses tidak terdapat cairan namun tidak berbentuk

0 = padat, tidak terdapat cairan dan berbentuk.

F. Instrumen Penelitian

1. Alat pemeliharaan

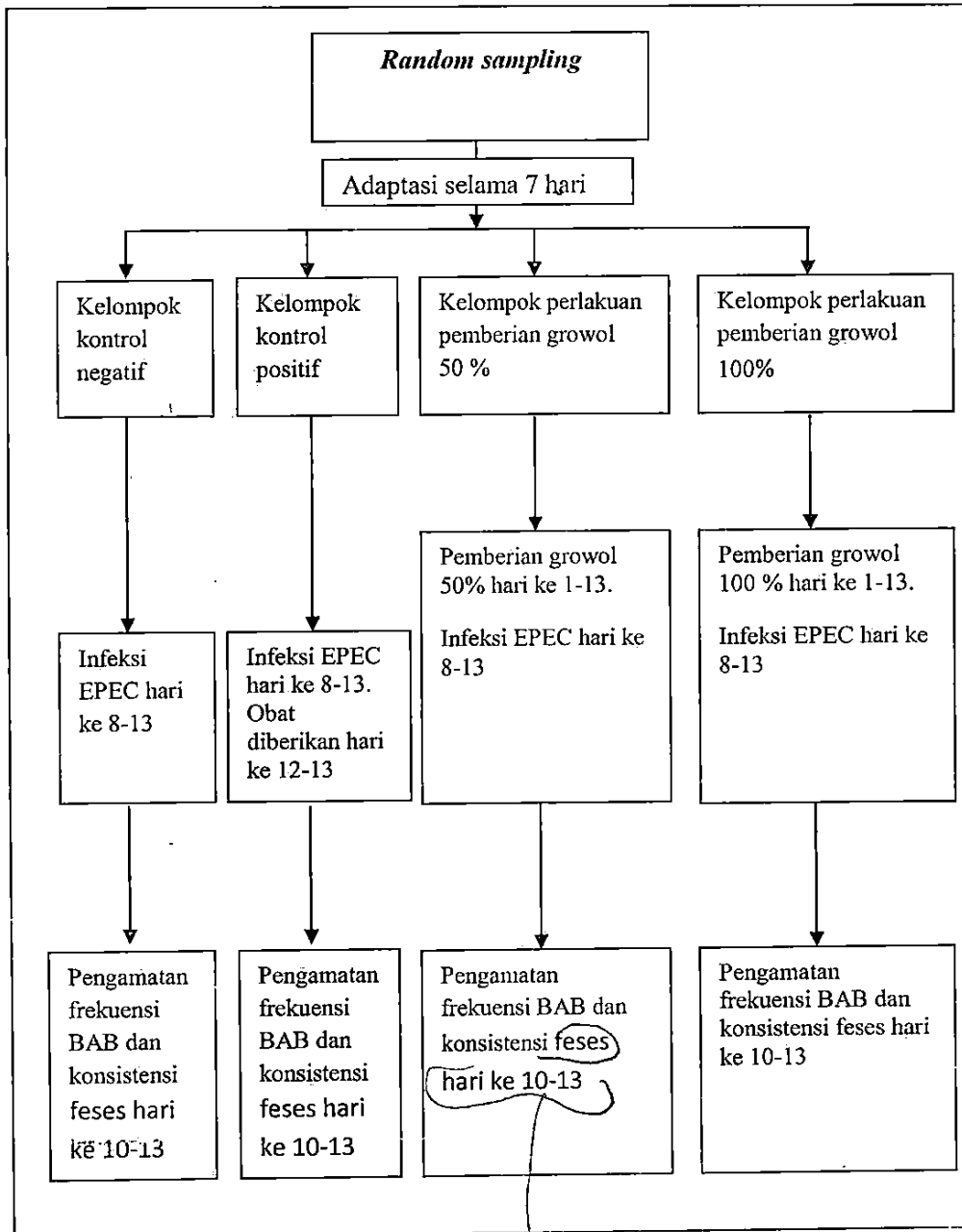
Kandang yang digunakan adalah kandang individu berupa box plastik berukuran panjang 30 cm panjang 20 cm dan tinggi 15 cm dilengkapi strimin sebagai penutup, botol bertangkai untuk tempat minum dan beralaskan sekam selama adaptasi, beralaskan kertas setelah adaptasi.

2. Alat pengukur

- a. Gelas beker 5 ml untuk mencampurkan obat

- b.Spuit 2.5 ml untuk mengukur EPEC dan obat
- 3. Alat perlakuan
 - a.Sonde untuk pemberian EPEC dan obat secara oral
- 4. Alat pencatat
 - a.Pensil
 - b.Buku
- 5. Alat pendukung
 - a.Tisu
 - b.Kapas
 - c.Masker
 - d.Sarung tangan
- 6. Bahan percobaan
 - a.Ransum (AD II)² dengan komposisi kadar air maksimal 12 %, protein kasar minimal 15 %, lemak kasar 3-7 %, serat kasar maksimal 6 %, abu maksimal 7 %, kalsium 0.9-1.1 %, dan phosphor 0.6-0.9 %
 - b.Bakteri EPEC.

G. Prosedur penelitian



Gambar 3. Prosedur penelitian

Prosedur penelitian adalah sebagai berikut:

1. *Random sampling* 24 ekor *Rattus norvegicus* dibagi 4 kelompok, masing-masing ditempatkan dalam kandang secara terpisah (Satu ekor/ kandang)
2. *Rattus norvegicus* diadaptasikan selama 7 hari dengan tujuan untuk menyesuaikan dengan lingkungan.
3. Growol diberikan sejak hari ke-1 percobaan sampai hari ke-13, pemberian dilakukan setiap hari pukul 09.00 sesuai dengan kelompok perlakuan.
4. EPEC diberikan pada semua kelompok penelitian, dimulai hari ke-8 sampai hari ke-13. Pemberian EPEC melalui oral dengan cara disonde sebanyak 1 ml dalam 10^6 cfu/ml.
5. Pemberian obat kombinasi Sulfamethoxazole-Trimethoprim pada hari ke-12 dan hari ke-13.
6. Pengamatan Frekuensi BAB dan konsistensi feses dilakukan pada hari ke-12 dan hari ke-13.
7. Pengukuran berat badan dilakukan selama penelitian.

H. Analisis Data

Analisis data frekuensi BAB, konsistensi feses, dan berat badan selama penelitian menggunakan uji *Two Way anova non-parametric by ranks* (Uji Friedman)³, selanjutnya dibandingkan antar kelompok menggunakan Uji Post Hoc.

I. Etika penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik penelitian dari komisi etik Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan dengan no 512/EP-FKIK UMY/III/2013.

J. Kekuatan & Kelemahan Penelitian .

³ Aplikasi yang digunakan SPSS 16