

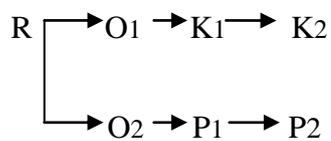
## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental, dengan memberi perlakuan sari biji kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*) terhadap kadar kolesterol LDL pada mencit (*Mus musculus*). Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris ”*Pre dan Postes Only Control Group Design*”.

Desain eksperimen ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok tersebut dengan kelompok kontrol. Desain penelitian dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

R : Pemilihan kelompok kontrol dan perlakuan secara random.

O1 : Observasi pemeriksaan kadar kolesterol LDL sebelum diberi sari biji kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*).

O2 : Observasi pemeriksaan kadar kolesterol LDL sebelum diberi sari biji kecipir.

K1 : Tanpa pemberian sari biji kecipir.

P1 : Perlakuan pemberian sari biji kecipir.

K2 : Observasi pemeriksaan kadar kolesterol LDL tanpa pemberian sari biji kecipir.

P2 : Observasi pemeriksaan kadar kolesterol LDL setelah pemberian sari biji kecipir.

### **3.2 Populasi. Sampel dan Sampling Penelitian**

#### **3.2.1 Populasi**

Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari Laboratorium PUSVETMA Surabaya.

#### **3.2.2 Sampel**

Sampel penelitian ini adalah mencit dari spesies yang sama yaitu *Mus musculus* yang dipilih secara random dengan kriteria mencit yang berumur 2-3 bulan, berat badan antara 20-40 gram yang berjenis kelamin jantan. Jumlah sampel ditentukan menggunakan rumus dengan perhitungan sebagai berikut :

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

$$(r - 1)(2 - 1) \geq 15$$

$$(r - 1)(1) \geq 15$$

$$r - 1 \leq 15 : 1$$

$$r - 1 \leq 15$$

$$r \leq 16$$

(Kusriningrum, 2008 )

Keterangan :

t : Perlakuan

r : Pengulangan

Jumlah sampel sama dengan 16 ekor mencit setiap kelompok yang dipilih secara random, jadi keseluruhan sampel yang digunakan adalah  $16 \times 2 = 32$ .

### **3.2.3 Teknik Sampling**

Teknik pengambilan sampel diambil secara random dengan jumlah 32 ekor mencit, yang dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok ada 16 ekor mencit.

## **3.3 Variabel Penelitian**

### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian sari biji kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*).

### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol LDL mencit (*Mus musculus*).

### **3.3.3 Variabel Kontrol**

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah jenis kelamin mencit, umur mencit, berat badan mencit, volume minum yang dikontrol dengan cara disamakan, pemberian kuning telur 1 ml setiap hari dalam 2 minggu, pemeriksaan kadar kolesterol LDL.

### **3.4 Definisi Operasional Variabel**

1. Sari biji kecipir dalam penelitian ini adalah sari yang didapatkan dengan cara di juicer dan dikategorikan menjadi tanpa pemberian dan dengan pemberian 1 ml sari biji kecipir secara oral pada mencit selama 2 minggu.
2. Jenis kelamin mencit adalah jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-40 gram dan diberi 1 ml kuning telur secara oral setiap hari selama 2 minggu.
3. Kadar kolesterol LDL dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol LDL antara sebelum dan sesudah perlakuan. Kadar kolesterol LDL adalah angka yang menunjukkan kadar kolesterol LDL dalam darah dengan satuan mg/dl. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL diukur dengan menggunakan alat Microlab 300.

### **3.5 Pengumpulan dan Pengolahan Data**

#### **3.5.1 Instrumen Penelitian**

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini yaitu uji laboratorium dengan metode spektrofotometer dengan nama alat SINNOWA BS-3000P yang digunakan untuk mengukur kadar kolesterol LDL dalam darah.

#### **3.5.2 Lokasi dan Waktu Penelitian**

##### **1. Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Universitas Muhammadiyah Surabaya, Laboratorium PUSVETMA Surabaya dan Pemeriksaan Kolesterol LDL di Laboratorium Klinik Pacar Surabaya.

## 2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian mulai pada bulan November 2015 – April 2016 dan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada Januari 2016.

### 3.5.3 Prosedur Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan metode spektrofotometer di Laboratorium Klinik Pacar Surabaya. Adapun langkah-langkah untuk pengumpulan data melalui tahapan sebagai berikut :

#### 1. Tahap Persiapan

##### a. Metode Pemeriksaan Kolesterol Total

Pemeriksaan ini menggunakan metode enzymatic photometric test.

##### b. Prinsip Pemeriksaan Kolesterol Total

Penentuan kolesterol setelah enzimatis hidrolisis dan oksidasi. Indikator kolorimetri adalah quinoneimine yang dihasilkan dari 4-aminoantipyrine dan fenol oleh hidrogen peroksida dibawah aksi katalitik peroksidase (Reaksi Trinder).

##### c. Metode Pemeriksaan Trigliserida

Pemeriksaan ini menggunakan metode enzymatic kolorimetri menggunakan gliserol-3-fosfat-oxidase (GPO)

##### d. Prinsip Pemeriksaan Trigliserida

Penentuan trigliserida setelah pemisahan enzimatis dengan lipoprotein lipase. indikator quinoneimine yang dihasilkan dari 4-aminoantipyrine dan 4-klorofenol oleh hidrogen peroksidase dibawah aksi katalitik peroksidase.

### **e. Metode Pemeriksaan HDL**

Pemeriksaan ini menggunakan metode homogeneous enzymatic kolorimetri.

### **f. Prinsip Pemeriksaan HDL**

Cyromikron, VLDL, dan LDL akan di endapkan oleh asam phosphotungstic dan magnesium chloride. Setelah disentrifuge supernatan hanya mengandung HDL. HDL kolesterol ini di tes menggunakan Human Cholesterol Liquicolor test kit.

### **g. Alat dan Bahan**

- 1) Sari biji kecipir (*Psophocarpus tetragonolobus*)
- 2) Mencit (*Mus musculus*)
- 3) Juicer
- 4) Eppendorf
- 5) Sonde
- 6) Makanan mencit
- 7) Alkohol 70%
- 8) Kuning telur
- 9) Tissue
- 10) Gunting
- 11) Kandang mencit

## **2. Tahap Pelaksanaan**

### **a. Pembuatan Sari Biji Kecipir.**

1. Tanaman kecipir harus segar
2. Cuci tanaman kecipir hingga bersih

3. Pisahkan biji kecipir yang masih muda dari buahnya
4. Masukkan biji muda tersebut ke dalam juicer
5. Giling hingga halus tanpa diberi tambahan gula atau bahan lainnya
6. Tampung sari biji dari ampasnya.

**b. Pemberian Sari Biji Kecipir dan Pengambilan Darah Mencit.**

1. Siapkan mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-40 gram dan berjenis kelamin jantan.
2. Ambil 32 ekor mencit dan di adaptasi di tempat perlakuan selama 1 minggu.
3. 32 ekor mencit tersebut diberi 1 ml kuning telur (0,5 pada pagi hari dan 0,5 pada siang hari) selama 2 minggu, setelah itu di puasakan selama 12 jam untuk pemeriksaan kolesterol LDL yang pertama.
4. Pengambilan darah mencit diambil dari vena ekor dan ditampung pada eppendorf.
5. Kemudian 32 ekor mencit dibagi menjadi 2 kelompok (masing-masing 16 ekor tiap kelompok).
6. Kelompok (A) 16 ekor sebagai kelompok kontrol yang di beri minum aquades dan pakan standart selama 2 minggu.
7. Kelompok (B) 16 ekor sebagai kelompok perlakuan yang di beri minum sari biji kecipir 1 ml tiap hari (0,5 pada pagi hari dan 0,5 pada siang hari) dan pakan standart selama 2 minggu.
8. Puasakan kembali mencit selama 12 jam, kemudian lakukan pemeriksaan kolesterol LDL yang terakhir.

9. Pengambilan darah mencit diambil dari vena ekor dan ditampung pada eppendorf.

**c. Prosedur Pemeriksaan Kolesterol LDL dan Pengoperasian Alat SINNOWA BS-3000P Di Laboratorium Klinik Pacar Surabaya.**

**1) Prosedur pemeriksaan Kolesterol Total**

a. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan

b. Mengisi tabung reaksi sesuai dengan ketentuan sebagai berikut :

Pipet ke dalam tabung	Blanko	Standart	Test
Sample atau	-	10 $\mu$ l	-
Standart	-	-	10 $\mu$ l
Reagent Cholesterol	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

c. Homogenkan, inkubasi 10 menit dalam suhu ruang.

d. Baca hasil pada alat SINNOWA BS-3000P dengan panjang gelombang 546 nm.

**2) Prosedur pemeriksaan Trigliserida**

a. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan

b. Mengisi tabung reaksi sesuai dengan ketentuan sebagai berikut :

Pipet ke dalam tabung	Blanko	Standart	Test
Sample atau Standart	-	-	10 $\mu$ l
Reagent Trigliserida	-	10 $\mu$ l	-
	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

c. Homogenkan, inkubasi 10 menit dalam suhu ruang.

d. Baca hasil pada alat SINNOWA BS-3000P dengan panjang gelombang 546 nm.

### 3) Prosedur pemeriksaan HDL

- a. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
- b. Pipet reagent precipitant HDL- Cholesterol sebanyak 500µl, masukkan dalam tabung.
- c. Masukkan serum sebanyak 200 µl, homogenkan dan inkubasi 5 menit.
- d. Centrifuge selama 10 menit.
- e. Supernatan diambil untuk diperiksa HDL-Cholesterol.
- f. Mengisi tabung reaksi sesuai dengan ketentuan sebagai berikut :

Pipet ke dalam tabung	Blanko	Standart	Test
Standart	-	50 µl	-
HDL-Supernatant	-	-	50 µl
Reagent Cholesterol	500 µl	500 µl	500µl

- g. Homogenkan, inkubasi 10 menit pada suhu ruang.
- h. Baca hasil pada alat SINNOWA S-3000P dengan panjang gelombang 546 nm.

### 4) Prosedur pemeriksaan LDL

Dengan menggunakan **Formula FRIEDWALD**

$$\text{LDL-kolesterol} = \text{kolesterol total} - (\text{trigliserida}/5 - \text{HDL kolesterol})$$

### 5) Prosedur Pengoperasian Alat SINNOWA BS-3000P Di Laboratorium Klinik Pacar Surabaya.

- a. Hidupkan tombol On di belakang alat, tunggu sampai muncul stay up analyzer.
- b. Setelah muncul menu awal perform test, tekan Enter.
- c. Pilih program, tekan Enter.
- d. Pengukuran water blanko dengan cara memasukkan aquades lalu tekan tombol penghisap.
- e. Masukkan reagent blanko, tekan enter.
- f. Akan muncul hasil blanko, tekan lewati.
- g. Masukkan standart, tekan enter.
- h. Setelah keluar hasil tekan lewati.
- i. Masukkan sampel, lalu hisap.
- j. Tunggu hasil keluar.
- k. Alat dicuci dengan aquades.
- l. Tekan tombol menu, pilih mematikan, tekan enter.
- m. Pada layar akan muncul shut down analyzer, berarti alat siap untuk dimatikan.
- n. Tekan tombol off dibelakang alat.

#### **3.5.4 Cara Analisis Data**

Data kadar Kolesterol LDL dianalisis dengan uji t bebas untuk mengetahui pengaruh pemberian sari biji kecipir dengan tingkat kesalahan 5% atau 0,05, data tentang kadar kolesterol yang diperoleh dari penelitian akan ditabulasikan dalam tabel sebagai berikut :

**Tabel 3.1 Kadar Kolesterol LDL Kontrol dan Perlakuan**

Kelompok Kontrol			Kelompok Perlakuan		
Ulangan Ke	Kadar Kolesterol LDL (mg/dl)		Ulangan Ke	Kadar Kolesterol LDL (mg/dl)	
	Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan		Sebelum perlakuan	Sesudah perlakuan
1			1		
2			2		
3			3		
4			4		
5			5		
<b>Dst</b>			<b>Dst</b>		
<b>Jumlah</b>			<b>Jumlah</b>		
<b>Rata- rata</b>			<b>Rata-rata</b>		