

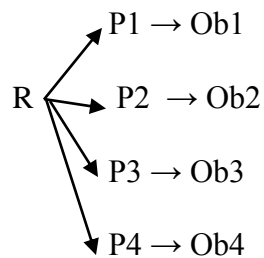
## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan bersifat eksperimental dengan memberi perlakuan minuman berenergi terhadap kadar bun dan kreatinin darah mencit (*Mus musculus*). Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratoris ” *Postes Only Control Group Design* ”. Desain eksperimen ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok tersebut dengan kelompok kontrol (Sugiyono, 2012).

Dengan rancangan penelitian sebagai berikut :



Keterangan :

R : Pemilihan kelompok kontrol dan perlakuan

P1 : Kelompok kontrol

P2 : Kelompok perlakuan merk A

P3 : Kelompok perlakuan merk B

P4 : Kelompok perlakuan merk C

Ob1 : Observasi terhadap kelompok kontrol tanpa perlakuan

Ob2 : Observasi terhadap kelompok perlakuan minuman merk A

Ob3 : Observasi terhadap kelompok perlakuan minuman merk B

Ob4 : Observasi terhadap kelompok perlakuan minuman merk C

## 3.2 Populasi dan Sampel Penelitian

### 3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh secara acak dari Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA) di jalan A. Yani no 68-70 Surabaya.

### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah mencit dari spesies yang sama yaitu *Mus musculus* yang dibagi dalam 4 kelompok secara *random sampling*. Masing – masing kelompok terdiri dari 6 mencit yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan minuman merk A, kelompok perlakuan minuman merk B, dan kelompok perlakuan minuman merk C dengan kriteria mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-40 gram yang berjenis kelamin jantan. Untuk setiap pengulangan pada masing-masing perlakuan sebanyak 6x pengulangan, jadi keseluruhan sampel yang digunakan  $6 \times 4 = 24$ , banyaknya pengulangan diperoleh dari rumus :

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

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

$$3(r - 1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$3r \geq 18$$

$$r \geq 6$$

( Kusriningrum, 2008)

Keterangan :

t : Jumlah dari setiap perlakuan

r : Banyaknya pengulangan dari setiap perlakuan

### **3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

#### **3.3.1 Lokasi Penelitian**

Lokasi pemeriksaan dan analisa sampel dilakukan di Pusat Veteriner Farma (PUSVETMA) Jl. Jend. A. Yani 68-70 Surabaya.

#### **3.3.2 Waktu Penelitian**

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai dengan bulan Juni 2017, sedangkan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada tanggal 19 April sampai dengan 02 Mei 2017.

### **3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional**

#### **3.4.1 Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas adalah pemberian minuman berenergi.
2. Variabel terikat adalah kadar bun dan kreatinin darah mencit (*Mus musculus*).
3. Variabel kontrol adalah jenis mencit, berat badan mencit, usia mencit, volume pemberian minuman berenergi, dosis minuman berenergi.

#### **3.4.2 Definisi Operasional Variabel**

1. Pemberian minuman berenergi dalam penelitian ini adalah minuman berenergi yang terdiri dari merk A, merk B, dan merk C pada masing – masing

kelompok, dengan pemberian 0,5 ml secara oral pada mencit sebanyak 2x sehari selama 14 hari.

2. Kadar BUN dan Kreatinin adalah angka yang menunjukkan kadar BUN dan Kreatinin dalam darah dengan satuan mg/dl. Pemeriksaan ini melalui pengujian laboratorium dengan menggunakan alat Microlab 300 LX/ BS 300M sinnowa.
3. Mencit berjenis kelamin jantan, memiliki berat badan antara 25-30 gram dengan umur 2-3 bulan.

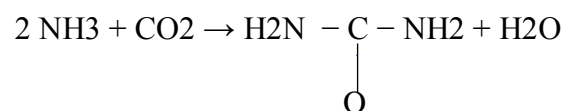
### 3.5 Metode Pengumpulan Data

Metode pengumpulan data berupa metode observasi uji laboratorium dengan menggunakan instrumen berupa alat microlab 300 LX/BS, sehingga diperoleh data kuantitatif dengan langkah sebagai berikut :

#### 1. Prinsip Pemeriksaan

Urea / BUN :

Urea dihidrolisis dengan adanya air dan urease sehingga menghasilkan amonia dan karbondioksida. Pada modifikasi Barthelot ion ammonium bereaksi dengan hypochlorite dan salisilat memberikan warna biru. Reaksi kimia dari perubahan  $2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$  yang terjadi sebagai berikut:



Kreatinin :

Metode yang digunakan adalah metode Jaffe, dimana reaksi antara kreatinin dengan asam pikrat dalam suasana basa akan membentuk kompleks kreatinin pikrat yang berwarna kuning jingga yang kadarnya dapat diukur dengan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 545 nm

## 2. **Alat dan Bahan**

- a. Minuman berenergi merk "A", "B", "C"
- b. Mencit (*Mus musculus*)
- c. Spuit 1cc
- d. Makanan mencit
- e. Alkohol 70%
- f. Beaker glass
- g. Batang pengaduk
- h. Eppendorf
- i. Neraca analitik

## 3. **Reagen**

- a. Aquadest
- b. Reagen Kreatinin
- c. Reagen BUN

## 4. **Prosedur**

### **a. Pemberian minuman berenergi serta pengambilan darah mencit**

Terlebih dahulu siapkan mencit yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-40 gram jenis kelamin jantan, diambil 24 ekor , setelah itu

mencit di adaptasi selama 2 hari di tempat perlakuan agar mencit tidak stress pada waktu eksperimen (perlakuan), kemudian mencit dibagi menjadi 4 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor mencit kelompok pertama (A) adalah kontrol yang di beri aquades, sedangkan kelompok kedua (B), kelompok ketiga (C), dan kelompok keempat (D) adalah kelompok perlakuan yang diberi minuman berenergi sebanyak 0,5 ml dengan cara oral.

Pengambilan darah mencit dilakukan setelah perlakuan pemberian minuman berenergi, darah diambil ventrikel atas kemudian ditampung pada eppendorf.

#### **b. Pemeriksaan kadar BUN dan Kreatinin**

Pemeriksaan kadar BUN :

- 1.) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
- 2.) Isi tabung reaksi sesuai tabel berikut :

	Banko	Standart	Sample
Working Reagent	500 µl	500 µl	500 µl
Standart	-	5 µl	-
Sample	-		5 µl
Homogenkan dan langsung dibaca (tanpa inkubasi) Jangan campur working reagent dengan sample, sebelum alat benar benar ready			

- 3.) Baca hasil pada alat SINNOWA BS-3000P dengan panjang gelombang

546 nm

- 4.) Harga normal : 17,0 – 28,0 mg/dl

Pemeriksaan kadar Kreatinin :

- 1.) Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
- 2.) Isi tabung reaksi sesuai tabel berikut :

	Standart	Sampel
Standar/ Sampel	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l
Working Reagent	500 $\mu$ l	500 $\mu$ l
Mix selama 30 detik, lalu baca hasil		

- 3.) Baca hasil pada alat SINNOWA BS-3000P dengan panjang gelombang 546 nm
- 4.) Harga normal : 0,31 – 1,0 mg/dl

### 3.6 Metode Analisis Data

Adapun data yang diperoleh dari pengamatan tersebut dimasukkan dalam Tabel pengamatan seperti dibawah ini :

**Tabel 3.1 Tabel Hasil Uji Laboratorium Kadar BUN Mencit**

Pengulangan	Kadar Bun Kontrol (mg/dl)	Kadar Bun Perlakuan (mg/dl)		
		Merk "A"	Merk "B"	Merk "C"
1				
2				
3				
Dst				
Jumlah				
Rata-rata				

**Tabel 3.2 Tabel Hasil Uji Laboratorium Kadar Kreatinin Mencit**

Pengulangan	Kadar Kreatinin Kontrol (mg/dl)	Kadar Kreatinin Perlakuan (mg/dl)		
		Merk "A"	Merk "B"	Merk "C"
1				
2				
3				
Dst				
Jumlah				
Rata-rata				
SD				

Setelah hasil diperoleh dari pemeriksaan laboratorium dan dikumpulkan dalam bentuk tabel, maka selanjutnya akan dianalisa menggunakan uji ANOVA untuk mengetahui apakah ada pengaruh minuman berenergi terhadap kadar bun dan kreatinin dengan taraf signifikan ( $\alpha$ ) 0,05 menggunakan program SPSS.