

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan menggunakan desain *Pretest-Posttest Control Group Design* (Sugiyono, 2014).

Gambar desain ini dapat dilihat pada gambar berikut :

R	O ₀	-	O ₄
	O ₁	X ₁	O ₅
	O ₂	X ₂	O ₆
	O ₃	X ₃	O ₇

Gambar 3.1 *Pretest-Posttest Control Group Design* (Sugiyono, 2014)

Keterangan :

- R : Randomisasi
- O₀ : Observasi kadar kalium darah menciit sebelum kelompok kontrol
- O₁ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sebelum pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,1 cc.
- O₂ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sebelum pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,5 cc.
- O₃ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sebelum pemberian ekstrak asparagus dengan volume 1 cc.
- X₀ : Tanpa pemberian ekstrak asparagus
- X₁ : Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,1 cc
- X₂ : Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,5 cc
- X₃ : Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 1 cc
- O₄ : Observasi kadar kalium darah menciit sesudah kelompok kontrol
- O₅ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sesudah pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,1 cc.
- O₆ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sesudah pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,5 cc.
- O₇ : Observasi kadar kalium darah menciit kelompok perlakuan sesudah pemberian ekstrak asparagus dengan volume 1 cc.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan sebagai berikut : 1. Untuk perlakuan terhadap mencit dilaksanakan di Jl Labansari 53 Sutorejo Surabaya. 2. Ekstraksi asparagus (*Asparagus officinalis*) dilakukan di Laboratorium Universitas Negeri Airlangga Surabaya. 3. Pemeriksaan Kadar Kalium Darah dilakukan di Klinik Patologi RSUD dr. Soetomo, di jalan Mayjen Prof. Dr.Moestopo No. 6-8, Surabaya.

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai bulan Juni 2018.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari pasar bratang Surabaya.

2. Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah mencit dari spesies (*Mus musculus*). Mencit (*Mus musculus*) yang dipilih berjenis kelamin jantan yang berumur 2-3 bulan dan memiliki berat badan sekitar 30-40 gram dengan kadar kalium normal (3,5-5,1 mmol/L). Pengambilan sampel dilakukan secara randomisasi dengan metode pengundian. Jumlah sampel ditentukan berdasarkan rumus Federer (2010) dengan perhitungan sebagai berikut :

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

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

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

$$3t - 3 \geq 15$$

$$3t \geq 15 + 3$$

$$3t \geq 18$$

$$t \geq 18/3$$

$$t \geq 6$$

Keterangan :

t : Banyaknya pengulangan dalam setiap perlakuan

n : Perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh 6 pengulangan untuk setiap kelompok. Jadi keseluruhan sampel adalah $6 \times 4 = 24$. Sampel didapatkan secara acak dengan metode rancangan acak lengkap (RAL).

Teknik penempatan sampel dilakukan secara acak lengkap dengan desain, sebagai berikut :

1.	2.	3.	4.	5.	6.
X2_3	X2_5	X3_1	X0_4	X0_6	X2_2
7.	8.	9.	10.	11.	12.
X0_5	X2_6	X3_4	X1_2	X1_6	X1_1
13.	14.	15.	16.	17.	18.
X0_3	X3_5	X3_2	X0_1	X3_6	X2_4
19.	20.	21.	22.	23.	24.
X1_5	X0_2	X2_1	X1_4	X1_3	X3_3

Adapun prosedur teknik sampling dari 24 ekor mencit, sebagai berikut :

1. Membuat label dari X0_1 sampai X0_6 untuk kelompok tanpa perlakuan apapun, label X1_1 sampai X1_6 untuk kelompok perlakuan pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,1cc, label X2_1 sampai X2_6 untuk kelompok perlakuan pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,5cc, dan label X3_1 sampai X3_6 untuk kelompok perlakuan pemberian ekstrak asparagus dengan volume 1cc.
2. Meletakkan label pada mencit secara acak sesuai dengan pengundian.
3. Menempatkan mencit sesuai dengan label penempatan pada kandang.

D. Variabel dan Definisi Operasional Variabel

1. Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak asparagus (*Asparagus officinalis*)
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar kalium darah
- c. Variabel kontrol dalam penelitian adalah volume pakan, volume minum, kandang, tempat, jenis mencit, jenis kelamin, dan umur.

2. Definisi Operasional Variabel (DOV)

a. Pemberian ekstrak asparagus dalam penelitian ini adalah banyaknya volume ekstrak asparagus pada mencit dalam bentuk cc. Data dikategorikan menjadi skala ordinal, sebagai berikut :

- 1) Tanpa pemberian ekstrak asparagus.
- 2) Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,1 cc.
- 3) Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 0,5cc.
- 4) Pemberian ekstrak asparagus dengan volume 1cc.

Ekstrak asparagus adalah serbuk simplisia asparagus yang di larutkan dengan etanol 96%.

b. Kadar kalium dalam darah mencit adalah angka yang menunjukkan selisih kadar kalium dalam darah mencit sebelum diberi perlakuan dan sesudah diberi perlakuan dalam satuan mmol/L dengan menggunakan skala interval. Pengukuran kadar kalium dalam darah mencit menggunakan alat Dimension RxL Max dengan menggunakan metode multisensor.

E. Prosedur Penelitian

1. Tahap Pembuatan Kandang

- a. Alat : Gunting, bak plastik ukuran 40cm x 13 cm, dan jaring-jaring kawat.
- b. Bahan : Serbuk kayu
- c. Prosedur :
 - 1) Memberi sekat sebanyak 6 sekat dengan ukuran yang sama pada bak plastik.
 - 2) Memberi serbuk kayu pada setiap sekat yang di gunakan untuk alas pada bak plastik.
 - 3) Menutup pada bagian atas menggunakan jaring-jaring kawat dengan kuat agar mencit tidak bisa keluar.

2. Tahap Persiapan Bahan Tanaman Menjadi Serbuk

- a. Alat : Pisau, Kantong plastik, blender, dan timbangan.
- b. Bahan : Batang dan tunas Asparagus (*Asparagus Officinalis*)
- c. Prosedur :

- 1) Memilih batang dan tunas asparagus (*Asparagus officinalis*) yang hijau dan segar.
- 2) Memotong batang dan tunas asparagus (*Asparagus officinalis*) kecil-kecil berukuran $\pm \frac{1}{2}$ cm.
- 3) Potongan batang dan tunas asparagus (*Asparagus officinalis*) dimasukkan ke dalam kantong plastik.
- 4) Menimbang berat basah batang dan tunas asparagus (*Asparagus officinalis*) sebanyak 3 kg kemudian mencuci bersih.
- 5) Dikeringkan di bawah matahari selama 4 hari dengan tanda-tanda keras dan berwarna cream.
- 6) Kemudian memblender tanaman asparagus (*Asparagus officinalis*) yang sudah kering hingga menjadi serbuk.
- 7) Menimbang tanaman asparagus (*Asparagus officinalis*) yang sudah diblender sebanyak 200 gram untuk dibuat ekstrak.

3. Tahap Pembuatan Ekstraksi Tanaman Asparagus (*Asparagus officinalis*) (Unair, 2018).

- a. Alat : Bejana/wadah tertutup, batang pengaduk, blender, corong kaca, kertas saring, elenmeyer, gelas ukur, dan *vacuum rotary evaporatory*.
- b. Bahan : Asparagus (*Asparagus officinalis*) dan larutan etanol 96 %
- c. Prosedur :
 - 1) Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan campuran etanol 96% sebagai pelarut.
 - 2) Mencampurkan serbuk asparagus (*Asparagus offiinalis*) sebanyak 200 gram dengan pelarut etanol 96% ± 2 liter.
 - 3) Merendam serbuk simplisia dengan etanol 96% sebanyak 800ml selama 24 jam dan sesekali diaduk. Memisahkan supermatan dan filtrat menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring.
 - 4) Kemudian supermatan disimpan dan melakukan perendaman filtrat kembali dengan etanol 96% sebanyak 600 ml selama 24 jam dan sesekali diaduk. Lalu memisahkan filtrat dan supermatan menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring.

- 5) Dilakukan perendaman filtrat kembali dengan etanol 96% sebanyak 600 ml selama 24 jam dan sesekali diaduk. Lalu memisahkan filtrat dan supernatan menggunakan corong kaca yang dilapisi kertas saring.
- 6) Satukan hasil supernatan yang pertama, kedua, dan ketiga.
- 7) Filtrat asparagus (*Asparagus officinalis*) tersebut kemudian diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan kecepatan 65 rpm pada suhu 30°C. Hasil penguapan tersebut menghasilkan ekstrak kental berwarna hijau pekat.
- 8) Hasil dari bahan serbuk asparagus 200 gram dan etanol 2 liter, menghasilkan 200 ml ekstrak asparagus.

4. Tahap Pengujian Pada Mencit (*Mus musculus*)

a. Persiapan Hewan Uji

Pada penelitian ini digunakan 24 ekor mencit jantan yang dibagi ke dalam 4 kelompok dan pada tiap kelompok terdapat 6 ekor mencit yang nantinya akan diacak secara random dengan menggunakan metode pengundian. Sebelum penelitian dilakukan, mencit diadaptasi dengan lingkungan baru selama 7 hari agar mencit tidak stres. Pada proses adaptasi mencit diberi pakan dan minum standar secara *ad libitum*.

b. Pemberian Perlakuan

Setelah diketahui mencit memiliki nilai kadar kalium normal, mencit dikontrol volume pakan sebanyak 5 gram dengan frekuensi 2x sehari, volume minum sebanyak 20 ml dengan frekuensi 2x sehari, serta pemberian ekstrak asparagus sesuai volume yang sudah ditentukan yaitu : 0,1cc, 0,5cc, dan 1cc pada setiap mencit sesuai kelompok perlakuan selama 14 hari atau 2 minggu. Dengan cara mengambil ekstrak asparagus sesuai volume dengan sonde. Dan memegang mencit dalam posisi tegak dan memasukkan sonde sampai ke lambung pada setiap mencit dalam kandang sesuai perlakuan.

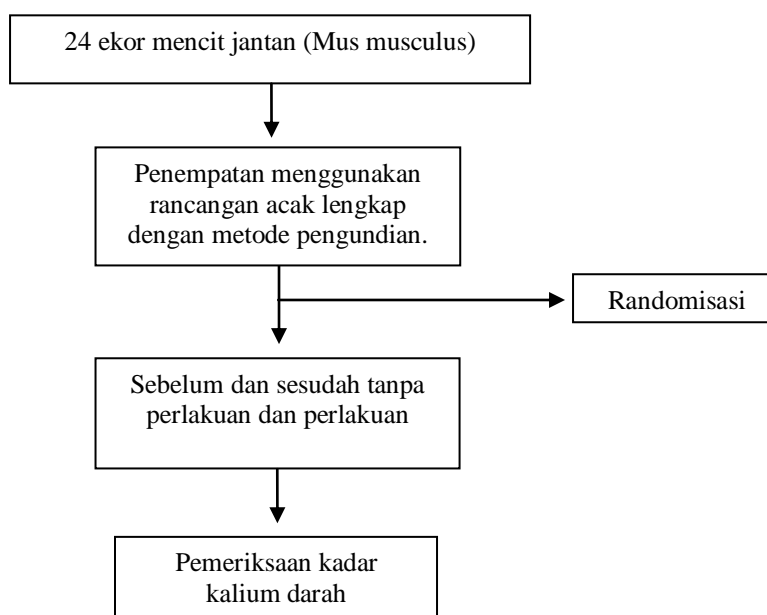
c. Pengambilan Sampel Darah Mencit

- 1) Alat : S spuit 1 ml, tabung vacuum merah, alat tulis, kertas label, gunting, dan tisu alkohol.
- 2) Bahan : Darah
- 3) Prosedur :
 - a) Mengambil mencit mulai dari kandang sampling 1.
 - b) Mengusap ekor mencit dengan tisu alkohol agar pembuluh darah ekor membesar dan pengaliran darah lebih cepat.
 - c) Memotong \pm 1 cm ekor dengan gunting.
 - d) Kemudian membuang darah tetesan pertama dan menampung darah selanjutnya ke dalam tabung vacuum merah \pm sebanyak 1 ml.

d. Pemeriksaan Kadar Kalium Darah (Dilakukan di Laboratorium patologi dr. soetomo Surabaya)

- 1) Alat : Dimension RxL Max
- 2) Bahan : Darah
- 3) Prosedur :
 - a) Sampel darah ditampung dalam tabung vacum merah.
 - b) Mencentrifuge darah dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit.
 - c) Memasukkan sampel ke dalam rak alat dimension RxL Max dengan posisi barcode menghadap ke depan.
 - d) Tekan RUN untuk memproses pemeriksaan.
 - e) Alat akan membaca secara otomatis pemeriksaaan kalium.
 - f) Hasil angka kadar kalium akan keluar secara otomatis dan tampak pada layar komputer LIS

Bagan Prosedur Penelitian



Bagan 3.2 Prosedur Penelitian

F. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

1. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data

Teknik dan instrument pengumpulan data tentang kadar kalium darah dilakukan dengan melalui pengujian laboratorium. Instrumen yang digunakan dalam pemeriksaan kadar kalium darah adalah Dimension RxL Max dan menggunakan metode pemeriksaan multisensor (Dr. Soetomo, 2018).

2. Tabulasi

Data tentang kadar kalium darah yang diperoleh dari penelitian akan ditabulasikan dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 3.1 Kadar Kalium Kontrol dan Perlakuan

Kadar Kalium Darah (mmol/L)		Pengulangan						Jumlah	Rata-rata	SD
		1	2	3	4	5	6			
X0 (Kontrol)	Sebelum									
	Sesudah									
X1 (,1cc)	Sebelum									
	Sesudah									
X2 (0,5cc)	Sebelum									
	Sesudah									
X3 (1cc)	Sebelum									
	Sesudah									

G. Teknik Analisis Data

Data dianalisis secara statistik dengan anova. Sebelum uji anova terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitas, jika data tidak berdistribusi normal, maka akan diuji dengan metode non parametrik yaitu kruskal-wallis menggunakan SPSS 16.

Jika hasil anova menunjukkan H_0 ditolak, maka dilanjutkan dengan post hoc tes (uji lanjutan setelah anova). Dan jika menggunakan statistik non parametrik (kruskal-wallis), maka dilakukan pengujian lanjutan dengan man withney.