

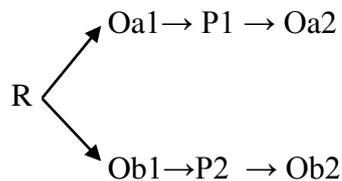
BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental, dengan memberi perlakuan jus alpukat (*Persea Americana Mill*) terhadap kadar kolesterol HDL pada mencit (*Mus musculus*), untuk mengetahui pengaruh jus alpukat terhadap kadar kolesterol HDL. 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. Desain penelitian dapat digambarkan sebagai berikut :



Keterangan :

R : Pemilihan kelompok kontrol dan perlakuan secara random.

P1 : Kelompok kontrol tanpa pemberian jus.

P2 : Kelompok perlakuan dengan pemberian jus.

Oa1 : Observasi pertama terhadap kelompok kontrol sebelum perlakuan.

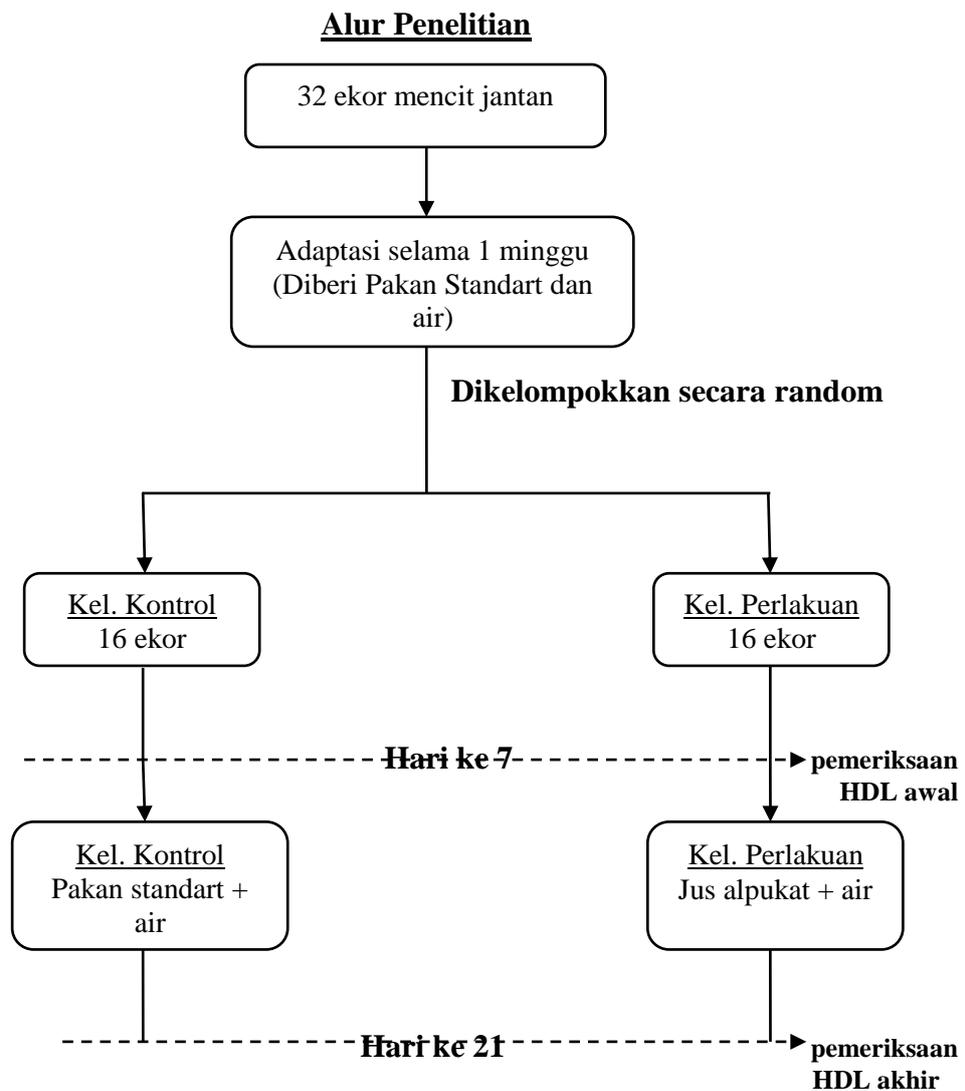
Oa2 : Observasi kedua terhadap kelompok kontrol setelah perlakuan.

Ob1 : Observasi pertama terhadap kelompok perlakuan sebelum perlakuan.

Ob2 : Observasi kedua terhadap kelompok perlakuan setelah perlakuan.

3.2 Kerangka Kerja

Kerangka kerja penelitian dengan desain eksperimen meliputi langkah-langkah yang ditunjukkan dengan alur penelitian di bawah ini :



3.3 Populasi, Sampel dan Sampling Penelitian

3.3.1 Populasi

Dalam penelitian ini yang menjadi populasi adalah sekelompok mencit (*Mus musculus*) yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

3.3.2 Sampel

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

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

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

$$r - 1 \geq 15$$

$$r \geq 15 + 1$$

$$r \geq 16$$

(Kusriningrum, 2008)

Keterangan :

t : Perlakuan

r : Pengulangan

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

3.3.3 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.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas adalah pemberian jus alpukat (*Persea Americana Mill*).

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat adalah kadar kolesterol HDL mencit (*Mus musculus*).

3.4.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah jenis kelamin mencit, umur mencit, berat badan mencit, volume minum yang dikontrol dengan cara disamakan.

3.5 Definisi Operasional Variabel

1. Jus alpukat dalam penelitian ini dikategorikan menjadi tanpa pemberian dan dengan pemberian 1ml secara oral pada mencit.
2. Kadar kolesterol HDL dalam penelitian ini adalah kadar kolesterol HDL antara sebelum dan sesudah perlakuan. Kadar kolesterol HDL adalah angka yang menunjukkan kadar kolesterol HDL dalam darah dengan satuan mg/dl. Pemeriksaan kadar kolesterol HDL diukur dengan menggunakan alat Microlab 300.

3.6 Pengumpulan dan Pengolahan Data

3.6.1 Instrumen Penelitian

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

3.6.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Patologi Klinik Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya dan Pemeriksaan Kolesterol HDL di Laboratorium Klinik Pacar Surabaya.

2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian mulai pada bulan November 2014 – Juni 2015 dan waktu pemeriksaan dilaksanakan pada April 2015.

3.6.3 Prosedur Pengumpulan Data

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

1. Tahap Persiapan

a. Metode Pemeriksaan

Pemeriksaan ini menggunakan metode homogeneous enzymatic kolorimetri.

b. Prinsip Pemeriksaan

Cylo mikron, VLDL, dan LDL akan di endapkan oleh asam phosphotungstic dan magnesium chloride. Setelah disentrifuge supernatan hanya mengandung

HDL. HDL cholesterol ini di tes menggunakan Human Cholesterol Liquicolor test kit.

c. Alat dan Bahan

- 1) Alpukat (*Persea Americana Mill*).
- 2) Mencit (*Mus musculus*)
- 3) Juicer
- 4) Eppendorf
- 5) Makanan mencit
- 6) Alkohol 70%
- 7) Tissue
- 8) Gunting
- 9) Kandang mencit.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Pembuatan Jus Alpukat.

Hal pertama yang dilakukan sebelum membuat jus adalah buah alpukat yang akan dibuat jus harus benar-benar segar, kemudian harus dicuci hingga bersih, lalu diiris-iris. Setelah diiris, buah alpukat segera masukkan ke dalam juicer tanpa tambahan apapun (air, gula ataupun susu), jika tidak ada juicer maka dapat dilakukan dengan cara manual yaitu melumatkannya sampai halus jika sudah halus, tampung jus di wadah yang telah disediakan.

b. Pemberian Jus Alpukat dan Pengambilan Darah Mencit.

Terlebih dahulu siapkan mencit yang berumur 2-3 bulan karena sudah dewasa, dengan berat badan antara 20-40 gram jenis kelamin jantan, diambil 32 ekor , setelah itu mencit di adaptasi selama 1 minggu di tempat perlakuan

agar mencit tidak stres pada waktu eksperimen (perlakuan), kemudian mencit dibagi menjadi 2 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 16 ekor mencit. Kelompok pertama (A) adalah kontrol yang diberi aquades dan pakan standart, sedangkan kelompok kedua (B) adalah kelompok perlakuan yang diberi jus alpukat sebanyak 1 ml dengan cara oral. Sebelum perlakuan mencit dipuasakan selama 12 jam untuk pemeriksaan kolesterol HDL yang pertama. Kemudian mencit diberikan perlakuan selama 2 minggu. Setelah pemberian perlakuan selama 3 minggu mencit dipuasakan kembali selama 12 jam untuk pemeriksaan kolesterol HDL yang terakhir.

Pengambilan darah mencit dilakukan sebelum perlakuan, darah diambil dari vena ekor pada tikus kemudian ditampung pada eppendorf dan 12 jam setelah pemberian jus alpukat, darah diambil dari vena ekor pada tikus kemudian darah dimasukkan ke dalam eppendorf yang telah disediakan.

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

1) Prosedur pemeriksaan kolesterol HDL

- a. Menyiapkan alat dan bahan yang digunakan
- b. Pipet reagent precipitant HDL- Cholesterol sebanyak 500 μ l, masukkan dalam tabung.
- c. Masukkan serum sebanyak 200 μ l, 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 μ l	-
HDL-Supernatant	-	-	50 μ l
Reagent Cholesterol	500 μ l	500 μ l	500 μ l

g. Homogenkan, inkubasi 10 menit pada suhu ruang.

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

2) 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 HDL- Cholesterol, 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. Hasil yang keluar dinyatakan sebagai kadar HDL-Cholesterol dalam darah.

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.

Harga normal :
 Rendah : <40 mg/dL
 Normal : 40-60 mg/dL
 Tinggi : >60 mg/dL

3.6.4 Cara Analisis Data

Data kadar Kolesterol HDL dianalisis dengan uji T bebas untuk mengetahui pengaruh pemberian jus alpukat dengan tingkat kesalahan 5% atau 0,05, data tentang kadar kolesterol yang diperoleh dari penelitian akan ditabulasikan dalam tabel sebagai berikut :

Table 3.1 Kadar Kolesterol HDL Kontrol dan Perlakuan

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

3.7 Etik Penelitian

3.7.1 Lembar Persetujuan Menjadi Responden

Penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimental. Sebagai sampel adalah mencit (*Mus Musculus*) sehingga tidak memerlukan responden.

3.7.2 Anonimity

Dalam penelitian tidak diperlukan adanya quisoner karena sampel yang digunakan adalah hewan coba yaitu mencit (*Mus Musculus*)

3.7.3 Confidentiallity

Karena penelitian ini menggunakan hewan coba maka tidak perlu dijelaskan tentang masalah-masalah yang harus dirahasiakan dalam penelitian.