

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *pre and post test one group design* dengan menggunakan manusia sebagai subjek penelitian.

B. Populasi Dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian yaitu warga Desa Ngebel, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Sampel yang digunakan yaitu perokok aktif dengan jenis kelamin laki-laki dan berusia 35-60 tahun. Menurut Dempsey & Dempsey (2002) banyaknya sampel ditentukan berdasarkan jumlah minimum untuk riset eksperimental untuk setiap kelompok sebanyak 10-20 orang, sehingga sampel yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 20 subjek.

1. Kriteria Inklusi

- a. Perokok ringan
- b. Usia subjek 35-60 tahun
- c. Jenis kelamin laki-laki
- d. Bersedia menjadi subjek penelitian

2. Kriteria Eksklusi

- a. Memiliki penyakit sistemik
- b. Berada di luar lokasi dalam jangka waktu lama
- c. Mengalami stress berat

C. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Desa Ngebel, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan (FKIK) Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (UMY) dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UGM selama 3 bulan (November 2014 – Januari 2015).

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah rebusan air daun sirsak (*Annona muricata* L).

2. Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar MDA pada perokok.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu adalah polusi udara, makanan dan stress.

E. Definisi Operasional

1. Daun sirsak (*Annona Muricata* L) memiliki lebar 3-7 cm dan panjang antara 6-18 cm. Daun sirsak yang tua berwarna hijau tua dan daun yang muda berwarna hijau kekuningan.
2. Perokok aktif adalah individu yang memiliki kebiasaan merokok, merokok sudah menjadi bagian hidupnya sehingga terasa tidak nyaman jika sehari saja tidak merokok. Perokok aktif dengan kategori ringan adalah jika merokok sekitar 1 hingga 10 batang perharinya
3. Kadar MDA normal adalah 0,5-1,3 nmol/ml

F. Alat Dan Bahan Penelitian

1. Alat

Kompor gas (Niko®), panci infus, teko, timbangan analitik (Satorius®), kain flanel, sendok, karet, plastik, spuit 5 cc (Terumo®), alat-alat gelas dan tabung (Pyrex®), Parafilm M®, rak stereoform, pendingin (Cold Pack®), box sampel, Hansaplast®, alkohol 70% (Merck®), kertas label, selotip, spidol marker (Snowman®), kapas alkohol (oneswabs®), tabung polypropylene (Kimax®), *micro tube* 1,5 ml, *blue tips*, mikropipet 100 µl (Gilson), rak sampel, vortex (Labinco® L46).

2. Bahan

Daun sirsak (*Annona muricata* L), air putih, gula rendah kalori (Tropicana Slim®), larutan reagen KIT (*tiobarbituric acid*) (Merck®).

G. Jalannya Penelitian

1. Survei untuk mencari subjek penelitian yaitu perokok aktif dengan menggunakan kuisisioner pada RT 08 dan 09 di Dusun Ngebel, Kecamatan Kasihan, Kabupaten Bantul, Yogyakarta.
2. Pengambilan Subjek penelitian
 - a. Subjek yang akan diikutsertakan dalam proses penelitian ditentukan dengan cara skrining berdasarkan kriteria tertentu.
 - b. Subjek yang telah bersedia untuk menjadi sampel penelitian, diminta untuk mengisi formulir *informed consent* dan mengikuti prosedur penelitian
3. Pengambilan data *pre test*

- a. Sebelum pengambilan darah dilakukan pemeriksaan fisik dan tanda vital berupa tekanan darah.
- b. Subjek diambil darahnya sebanyak 5cc menggunakan spuit injeksi melalui *vena mediana cubiti* sebagai sampel data *pre test*
- c. Sampel yang telah terkumpul segera di bawa ke Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UGM dengan kontainer berpendingin dan diukur kadar MDA

4. Pembuatan rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L)

Daun sirsak dicuci bersih dan disortir selanjutnya dilakukan perajangan dan pengeringan dengan suhu 70°C selama 4 menit, lalu didinginkan selama 5 menit kemudian pengeringan tahap lanjut dengan suhu 50°C selama 150 menit, setelah itu pembuatan rebusan daun sirsak dilakukan dengan menimbang 2 g daun sirsak lalu diisi 200 ml air ke dalam panci infus selama 15 menit pada suhu 90°C, Kemudian rebusan diangkat dari pemanas dan disaring menggunakan kain flanel putih ke dalam wadah, lalu ditambahkan gula rendah kalori. Apabila penyaringan rebusan tidak mencapai 200 ml ditambahkan air panas melalui ampas sampai diperoleh volume keseluruhan 200 ml. Rebusan daun sirsak dibuat setiap hari.

5. Perlakuan subjek penelitian

Rebusan daun sirsak diberikan pada subjek untuk diminum dua kali sehari setelah makan selama 8 hari pada kelompok perlakuan.

6. Pengambilan data *post test*

Setelah diberikan perlakuan selama 8 hari kemudian dilakukan kembali pengambilan darah *vena mediana cubiti* sebanyak 5 cc menggunakan spuit injeksi

dan disimpan dalam *coolpack* selanjutnya dibawa ke Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UGM dan diukur kadar MDA

7. Pemeriksaan MDA (Malondialdehid)

Pengambilan darah untuk pemeriksaan kadar MDA dilakukan sebelum dan setelah 8 hari perlakuan. Darah diambil dari *vena mediana cubiti* menggunakan spuit injeksi sebanyak 5cc. Pemeriksaan kadar MDA darah dilakukan dengan metode *thiobarbituric acid-reactive substances* (TBARS). Pemeriksaan MDA darah mengikuti metode yang dijabarkan (Wuryastuti *cit* Bakar, 2010). Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung lalu disentrifuge pada kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memperoleh serum, kemudian serum diambil sebanyak 1,5 ml dan dimasukkan kedalam *ependorf*, lalu sebanyak 0,75 ml asam fosfat dimasukkan kedalam tabung *polypropylene* yang telah berisi 0,25 ml larutan *thiobarbituric acid* (TBA). Selanjutnya 0,05 ml sampel serum darah ditambahkan ke dalam tabung kemudian 0,45 ml air campuran dikocok selama 2 menit. Setelah dipanaskan dalam *water bath* selama 60 menit dengan suhu 100°C, campuran didinginkan selama 1-2 jam sehingga suhunya mencapai 30°C, kemudian dimasukkan ke dalam *sep-park C 18* dan dicuci dengan 5 ml methanol dan air ke dalam campuran ditambahkan 4 ml methanol dan ditampung dalam kuvet. Kepekatan warna dibaca dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 532 nm dan dilakukan perhitungan rumus a dan b diperoleh dari fungsi linier $y = a + bx$ dari larutan standar sedangkan Δ sampel adalah hasil absorbansi (Bakar, 2010).

$$\text{Kadar MDA Plasma} = (\Delta \text{ sampel} - a) : b \dots\dots\dots \text{(Persamaan 1)}$$

H. Analisis Data

Data di analisis secara statistik menggunakan komputer dengan uji analisis *Paired Simple T-test*

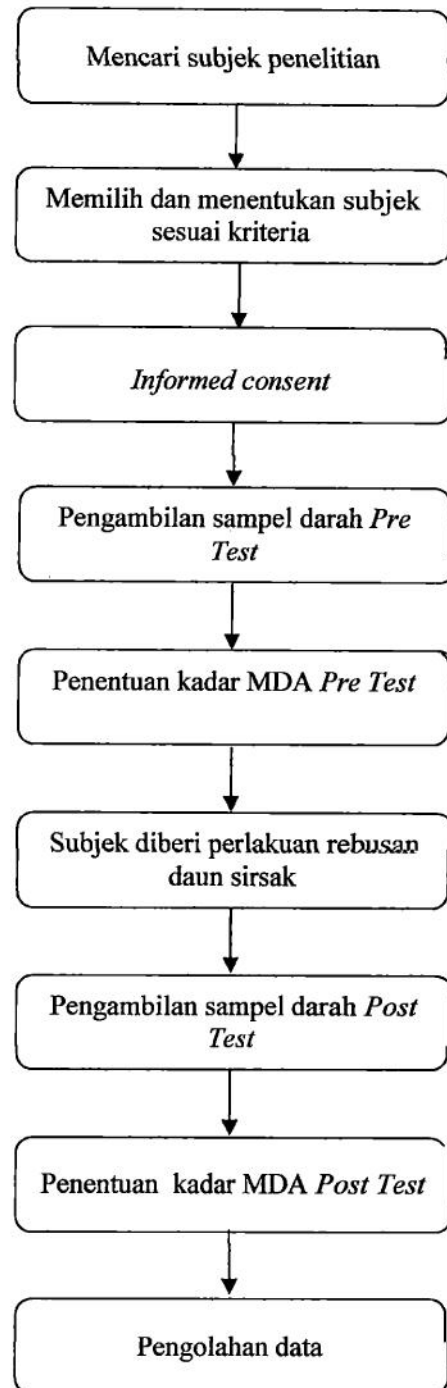
I. Etika Penelitian

1. Lembar persetujuan responden (*informed consent*)

Peneliti memberikan informasi kepada subjek penelitian tentang tujuan penelitian lalu sampel yang bersedia mengikuti penelitian diminta menandatangani lembar persetujuan penelitian.

2. Kerahasiaan

Kerahasiaan informasi subjek penelitian dijamin oleh peneliti dengan tidak mencantumkan nama responden. Data penelitian disimpan dalam komputer pribadi peneliti dan tidak disebarluaskan

J. Skema Kerja**Gambar 4.** Skema Alur Penelitian