

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium murni karena peneliti memberi perlakuan terhadap sampel kemudian sampel diobservasi dan dilakukan pengambilan data mengenai kadar SGPT dan gambaran histopatologi anatomi hepar tikus putih yang diberi ekstrak daun teh hijau dengan kolesterol sebagai induksi.

B. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian meliputi 24 ekor tikus putih galur wistar yang dibagi menjadi empat kelompok secara acak, yaitu kelompok kontrol negatif K1, kelompok perlakuan 1 (K2), kelompok perlakuan 2 (K3), kelompok perlakuan kontrol positif (K4). Dilakukan secara *purposive sampling* yaitu ciri-ciri dan jumlah sampel yang diambil ditetapkan atau ditentukan terlebih dahulu. Kemudian pengelompokan tiap kelompok dilakukan secara random. Masing-masing kelompok terdiri atas 6 ekor tikus dengan kriteria inklusi tikus putih jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 250-300 gram, selama observasi 7 hari sebelum perlakuan tidak sakit dan tidak ada abnormalitas.

Besarnya sampel yang dipakai dapat dihitung dengan rumus Federer, dimana (t) adalah jumlah ulang untuk setiap perlakuan dan (n) adalah jumlah perlakuan.

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(4-1)(t-1) > 15$$

$$3t > 18$$

$$t = 6$$

Kelompok pertama K1 diberi asupan normal selama 21 hari. Kelompok kedua (K2) dan ketiga (K3) diberikan teh hijau pada hari pertama sampai ke-21 sebanyak 1mg/kgBB/hari. Namun sebelumnya, sejak hari pertama sampai hari ke-21, kelompok K3 telah diberikan kolesterol 20mg/kgBB/hari. Dan untuk kelompok kontrol positif K4 hanya diberi kolesterol selama 21 hari sebanyak 2mg/kgBB/hari. Pada hari ke-22, sampel darah dan diambil dari sinus orbitalis ketiga kelompok tersebut untuk dihitung kadar SGPT serum dan hepar untuk dilihat gambaran histopatologinya.

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Waktu penelitian dimulai dari bulan Mei sampai Oktober 2014.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Pemberian ekstrak daun teh hijau

2. Variabel terikat

Kadar SGPT dan gambaran histopatologi hepar tikus.

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu adalah variabel yang akan menimbulkan bias pada hasil penelitian jika tidak dikendalikan. Pada penelitian ini variabel pengganggu dapat dikendalikan dan tidak dikendalikan dengan beberapa pertimbangan. Variabel tersebut adalah :

a. Makanan dan minuman

Makanan dapat mempengaruhi kadar SGPT , untuk mengatasi hal ini digunakan makanan pellet yang didapat dengan merek dagang yang sama yaitu AD2 dan minuman dari air aquades.

AD2 mengandung air 13,5%, protein kasar min 17%, lemak kasar min 7%, serat kasar max 6%, abu max 7%, kalsium 0,9 dan 1,2%, fosfor 0,7 0,9% dan mengandung antibiotika.

b. Faktor genetic (Galur)

Faktor genetik dapat mempengaruhi kadar SGPT tikus putih, untuk mengatasi hal ini dipakai tikus dari strain yang sama yaitu wistar sehingga dapat dikatakan homogen.

c. Umur, jenis kelamin dan berat badan

Variabel ini dikendalikan dengan memilih tikus putih umur 2-3 bulan, jenis kelamin jantan dan berat ± 250 gram.

d. Suhu udara

Suhu udara dikendalikan dengan mengatur suhu ruangan yang ditempati oleh tikus putih. Hewan percobaan ditempatkan dalam ruang bersuhu sekitar 25°- 28°C.

e. Kondisi psikologi tikus

Kondisi psikologis tidak sepenuhnya dapat dikendalikan. Kondisi psikologis tikus dapat dipengaruhi oleh perlakuan yang berulang kali sehingga dapat mempengaruhi kadar SGPT. Sehingga untuk membuat kondisi psikologis tikus agar baik maka perlakuan dilakukan seminimalis mungkin yaitu dengan mengurangi eksperimen berulang pada hewan.

f. Penyakit hepar

Penyakit hepar atau kelainan pada hepar seperti: hepatitis, sirosis hepar, nekrosis hepar dan sebagainya dapat mempengaruhi kadar SGPT. Pada penelitian ini penyakit hepar dikendalikan dengan memilih tikus yang sehat.

g. Daya imunitas

Daya regenerasi sel hepar dari masing-masing binatang percobaan. Imunitas (sistem kekebalan) dari masing-masing binatang percobaan tidak dapat dikendalikan. Karena peneliti tidak bisa memastikan daya tahan masing-masing tikus.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak Daun Teh Hijau

Ekstrak daun teh hijau adalah daun teh yang telah dikeringkan kemudian menggunakan metode sokletasi dengan suatu cairan pengekstraksi (alkohol 70%). Ekstrak daun teh hijau diperoleh dari Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Dosis ekstrak daun teh hijau yang dipakai adalah 10 mg/kgBB/hari dengan konsentrasi 0,25gr/1mg.

2. Kadar SGPT

Kadar SGPT (IU/liter) yaitu selisih kadar SGPT yang diukur sesudah perlakuan. Dilakukan dengan cara memeriksa darah tikus putih yang diambil melalui sinus orbitalis dengan menggunakan tabung mikropipiler sebanyak 1,5ml tiap ekor.

Pemeriksaan SGPT dilakukan dengan menggunakan alat fotometer stardust FC metode optimasi. Skala pengukuran yang dipakai rasio.

3. Kolesterol

Pemberian pakan kolesterol tinggi pada tikus putih diberikan sebanyak 2mg/kgBB/hari dengan konsentrasi 0,5gr/2mg.

4. Gambaran Histopatologi

Gambaran Histopatologi adalah gambaran dari kerusakan sel hepar pada tikus putih yang diberikan perlakuan. Cara penilaian gambaran histopatologi hepar pada tikus tersebut digunakan tehnik Brunt. (Brunt, 2009).

F. Alat dan Bahan Penelitian.

1. Alat-alat yang digunakan:

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan hewan dan obat
- c. Sonde lambung
- d. Pipet ukur

e. Tabung reaksi kecil

f. Becker glass

g. Tabung mikropipiler

2. Bahan-bahan yang digunakan:

a. Pakan kolesterol tinggi

b. Ekstrak daun teh hijau

c. Aquadest

d. Makanan hewan (pellet)

G. Jalannya Penelitian

Pada penelitian ini peneliti membagi tahap penelitian menjadi 3, yakni:

1. Tahap Persiapan

a. Hewan uji diadaptasi dengan kondisi kandang tempat penelitian dilakukan selama kurang lebih 3 hari.

b. Hewan uji dikelompokkan secara acak menjadi 4 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus

2. Pemberian Perlakuan

a. Pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-21

Kelompok K1, K2, K3, K4 diberi diet standart yaitu pellet dengan merk AD2 dan aquades.

b. Pada hari ke-4 masing-masing tikus tiap kelompok diukur kadar SGPT.

c. Pada hari ke-4 sampai dengan ke-21

1) Kelompok K1: tikus diberi pangan standar mulai hari ke-1

- 2) Kelompok K2 : tikus diberi pangan standar dan ekstrak daun teh dengan dosis 1 mg/kgBB/hari (peroral) mulai hari ke-4
 - 3) Kelompok K3 : tikus diberi ekstrak daun teh dosis 1 mg/kgBB/hari (peroral) mulai hari ke-4 kemudian diberi pangan kolesterol dosis 2mg/kgBB/hari(peroral) mulai hari ke-4
 - 4) Kelompok K4 : tikus diberi pangan kolesterol dosis 2mg/kgBB/hari(peroral) mulai hari ke-4
3. Setelah Perlakuan

Pada hari ke-21 darah diambil melalui sinus orbitalis dan diukur kadar SGPT dan diambil heparnya untuk dilihat gambaran histopatologinya masing – masing tikus ditiap kelompok.

H. Analisis Data

Data dianalisis dengan statistik deskriptif dan statistik inferensial, dengan dibantu program SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*). Dalam analisis data dibedakan tingkatannya, yaitu : analisis univariat, bivariat, dan multivariat. Analisis univariat merupakan analisis setiap variabel yang dinyatakan dengan sebaran frekuensi, baik secara angka-angka mutlak maupun secara persentase, disertai dengan penjelasan kualitatif.

Data yang diperoleh dicari selisih kadar SGPT sesudah perlakuan masing-masing kelompok. Sebelum dilakukan uji analisis, data di normalitaskan dengan menggunakan Uji *Kolmogorov Smirnov*. Kemudian dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji *ANOVA one way* dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*.

1. Uji statistik *ANOVA one way*, digunakan untuk melihat ada tidaknya perbedaan diantara kelompok yang dibandingkan. Yaitu kelompok 1 kelompok yang diberi perlakuan pemberian makanan biasa, kelompok 2 kelompok yang pemberian makanan biasa dan ekstrak daun teh hijau, kelompok 3 pemberian makanan biasa dan kolesterol sedangkan kelompok 4 adalah kelompok yang diberi perlakuan pemberian kolesterol saja.
2. Uji statistik *Post Hoc Test*, untuk mengetahui letak perbedaan diantara kelompok yang dibedakan. Uji ini antara kelompok K(+) dengan kelompok K(-), K(-) dengan P1, K(-) dengan P2, K(-) dengan P3, K(+) dengan P1, K(+) dengan P2, K(+) dengan P3.