

### **BAB III**

## **METODOLOGI PENELITIAN**

### **A. DESAIN PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium *pre-test and post-test control group design*. Evaluasi *post-test* dilakukan setelah perlakuan setiap enam hari sekali selama 19 hari.

### **B. TEMPAT DAN WAKTU PENELITIAN**

Penelitian dilakukan di laboratorium Pemeliharaan Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan. Sampel darah dibawa ke laboratorium LPPT UGM untuk diukur jumlah trombositnya dengan alat *Hematology Analyzer*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Desember 2008.

### **C. POPULASI DAN SAMPEL**

Sampel dalam penelitian ini adalah tikus *Wistar* jantan usia dua sampai tiga bulan sebanyak 50 ekor yang diperoleh dari laboratorium Farmasi UGM dan ditentukan secara random. Sampel penelitian dibagi menjadi 10 kelompok, yaitu :

1. Kelompok kontrol negatif, tikus tidak diberi perlakuan.
2. Kelompok perdarahan, tikus dibuat perdarahan.
3. Kelompok angkak I, tikus diberi angkak dosis 1 mg.

4. Kelompok angkak II, tikus diberi angkak dosis 2 mg.
5. Kelompok angkak III, tikus diberi angkak dosis 36 mg.
6. Kelompok angkak IV, tikus diberi angkak dosis 72 mg.
7. Kelompok tikus yang dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 1 mg.
8. Kelompok tikus yang dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 2 mg.
9. Kelompok tikus yang dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 36 mg.
10. Kelompok tikus yang dibuat perdarahan dan diberi angkak dosis 72 mg.

#### **D. KRITERIA INKLUSI DAN EKSKLUSI**

##### 1. Kriteria Inklusi

Tikus *Wistar* jantan usia dua sampai tiga bulan dan berat badan 150-300 gram yang diperoleh dari satu tempat pemeliharaan hewan coba.

##### 2. Kriteria Eksklusi

Tikus yang mengalami cacat tubuh, kurang sehat dan menderita kelainan tertentu.

#### **E. VARIABEL PENELITIAN DAN DEFINISI OPERASIONAL**

##### 1. Identifikasi Variabel

###### a. Variabel Independent

Perlakuan terhadap tikus yaitu kontrol, tikus dibuat perdarahan, pemberian angkak pada tikus normal dengan dosis 1 mg/ekor/hari, 2 mg/ekor/hari, 36 mg/ekor/hari, dan 72 mg/ekor/hari dan pemberian angkak pada tikus

perdarahan dengan dosis 1 mg/ekor/hari, 2 mg/ekor/hari, 36 mg/ekor/hari, dan 72 mg/ekor/hari selama perlakuan.

b. Variabel Dependent

Jumlah trombosit dan *clotting time* yang diukur setiap 6 hari sekali selama 4 kali.

c. Variabel Terkendali

- 1) Usia : Tikus galur *Wistar* usia dua sampai tiga bulan.
- 2) Jenis Kelamin : Subyek memiliki jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
- 3) Berat Badan : Penelitian ini menggunakan subyek yang memiliki berat badan antara 150-300 gram.
- 4) Lama Perlakuan : Dikendalikan dengan lama penelitian yang sama pada masing-masing kelompok yaitu selama 19 hari.

2. Definisi Operasional

- a. Perdarahan merupakan keluarnya darah dari pembuluh darah ke rongga dalam tubuh atau ke luar tubuh.
- b. Angkak atau beras merah merupakan produk fermentasi beras yang difermentasikan selama sepekan dengan cendawan/kapang *Monascus purpureus*. Beras yang semula putih berubah warna menjadi merah gelap. Jenis sediaan angkak yang digunakan berupa kapsul dengan dosis pada manusia 2000 mg perhari yang dikonversikan ke tikus.

c. Dosis angkak yang di yang dianjurkan pada manusia yaitu 2000 mg perhari. Dosis tersebut dikonversikan ke tikus dengan menggunakan dua perhitungan, yaitu :

1. Perbandingan konversi manusia ke tikus adalah 1 : 0,018

$$\text{Dosis perKg BB manusia} = 2000 \text{ mg} : 70 \text{ kg (berat dewasa)}$$

$$= 28,5 \text{ mg perKg BB perhari}$$

$$\text{Konversi ke tikus} = 28,5 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 0,5 \text{ mg perKg BB perhari}$$

$$= 0,5 \text{ mg per1000gr BB perhari}$$

$$\text{Dosis tikus dewasa(200gr)} = 200 \text{ gr} : 1000\text{gr} \times 0,5 \text{ mg}$$

$$= 0,1 \text{ mg} \times 10(\text{faktor farmakokinetik})$$

$$= 1 \text{ mg}$$

$$2. \text{ Dosis pada manusia} = 2000 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis tikus} = 2000 \text{ mg} \times 0,018$$

$$= 36 \text{ mg}$$

Jadi didapat dosis pertama yaitu 1 mg, dosis kedua dua kali dosis pertama yaitu 2 mg, dosis ketiga yaitu 36 mg, dan dosis keempat dua kali dosis ketiga yaitu 72 mg.

d. Jumlah trombosit merupakan jumlah yang diperoleh dari pengambilan darah subyek penelitian sebelum, selama, dan sesudah pemberian angkak yang diukur dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer*.

e. Waktu pembekuan (*clotting time*) diperoleh dari pengukuran darah subyek penelitian sebelum, selama, dan sesudah pemberian angkak

dengan cara memotong ekor tikus, lalu darah diteteskan pada *objek glass* dan ditunggu sampai membeku kemudian dicatat lamanya waktu pembekuan.

## F. INSTRUMEN PENELITIAN

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Alat dan bahan pengambilan darah :
  - a. Eppendorf
  - b. EDTA
  - c. Gunting
  - d. Kapas alkohol
2. Alat dan bahan pemeliharaan tikus serta sonde untuk pemberian angkak.
3. Alat untuk mengukur jumlah trombosit yaitu *Hematology Analyzer*.
4. Alat untuk mengukur waktu pembekuan (*clotting time*) yaitu *objek glass*, lidi dan *stopwatch*.

## G. PROSEDUR PENELITIAN

Tahapan penelitian yang dirancang untuk pengumpulan data adalah sebagai berikut :

1. Tikus dikelompokkan sesuai perlakuan.
2. Tikus diadaptasi selama satu minggu.
3. Tikus dibuat anemia perdarahan.
4. Pengambilan Darah

Pengambilan darah awal sebelum perlakuan melalui ekor. Tikus dijemur dibawah terik matahari pagi (jam 09.00-10.00) selama  $\pm$  30 menit. Ekor diolesi minyak balsem selama kurang lebih satu sampai dua menit agar terjadi vasodilatasi pembuluh darah ekor. Lalu ekor dipotong dengan gunting sepanjang  $\pm$  5 mm, darah yang keluar ditampung dalam eppendorf yang telah diberi antikoagulan.

5. Pemberian perlakuan sesuai kelompok perlakuan selama 19 hari.
6. Pengukuran sampel darah

Pengukuran jumlah trombosit dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer* di laboratorium LPPT UGM dan pengukuran waktu pembekuan (*clotting time*) dengan cara memotong ekor tikus lalu darah diteteskan pada *objek glass* dan ditunggu sampai membeku kemudian dicatat lamanya waktu pembekuan. Pengukuran sampel darah yang dilakukan setiap 6 hari sekali selama 19 hari.

## H. ANALISIS DATA

Data berupa jumlah penghitungan trombosit dan waktu pembekuan (*clotting time*) dari masing-masing kelompok ditabulasi dan dianalisis dengan menggunakan analisis data yang sesuai yaitu *One Way Anova* dilanjutkan dengan *LSD* untuk melihat perbedaan antar masing-masing kelompok dan uji beda *Paired T Test* untuk melihat perbedaan sebelum dan setelah perlakuan dari tiap-tiap kelompok.