

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan *pretest posttest with control group design*.

B. Subyek Penelitian

Jumlah subyek pada penelitian ini adalah 30 subyek, dimana 15 subyek untuk teh hitam, dan 15 subyek untuk kontrol. Subyek penelitian ini adalah mahasiswa Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (UMY) yang memenuhi kriteria inklusi penelitian. Kriteria inklusi dan eksklusi dalam penelitian ini adalah:

a. Kriteria Inklusi:

- (1) Usia 17-25 tahun
- (2) Wanita
- (3) Sehat
- (4) Tidak sedang minum obat atau suplemen selama mengikuti penelitian.

b. Kriteria Eksklusi:

- (1) Hamil
- (2) Menyusui.
- (3) Mendonorkan darah dalam waktu dua bulan yang lalu
- (4) Menerima transfusi darah dalam waktu dua bulan yang lalu

C. Alat dan Bahan

1. Alat

- a. S spuit dengan jarum steril dan kering
- b. Tourniquet
- c. Kapas
- d. Tabung reaksi
- e. Pipet
- f. Spektrofotometer

2. Bahan kimia

- a. HCL 0,35 N
- b. Larutan tri chlor asam asetat (TCA) 20%
- c. Larutan Kalium asetat 50 mgram%
- d. Larutan hidroquinin (50 mgram dalam 5 ml akuades)
- e. Larutan orthopènantrolin 0,1%
- f. Larutan standard Fe 1 mgram%

3. Bahan yang diperiksa

Darah vena yang diberi anti koagulan EDTA

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Yogyakarta (FK UMY) pada bulan Agustus-November.

E. Variable Penelitian

Variable adalah suatu ciri, sifat, ukuran yang dimiliki oleh anggota-anggota suatu kelompok. Variable dalam penelitian ini adalah:

1. Variabel bebas (*Independent Variable*)

Minum seduhan teh (*Camellia sinensis*) sesudah makan (skala nominal)

2. Variable terikat (*Dependent Variable*)

Kadar Fe dalam plasma (skala rasio)

3. Variable pengganggu (*Confounding Variable*)

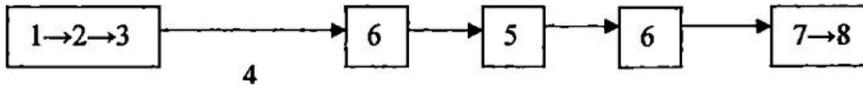
Kecepatan absorpsi individu

F. Definisi Operasional

1. Minum adalah memasukkan air (atau benda cair) ke dalam mulut dan meneguknya.
2. Teh merupakan sebuah infusi yang dibuat dengan cara menyeduh daun, pucuk daun, atau tangkai daun yang dikeringkan dari tanaman semak *Camellia sinensis* dengan air panas.
3. Makan adalah memasukkan makanan pokok/sesuatu ke dalam mulut, kemudian mengunyah dan menelannya.
4. Kadar Fe dalam serum adalah jumlah Fe^{2+} (mg) tiap 1 dL serum.

G. Jalannya Penelitian

Secara skematik, jalannya penelitian ini dapat digambarkan:



Keterangan:

1. Memilih subyek secara acak.
2. Mengisi inform consent.
3. Melakukan pemeriksaan fisik dan anamnesis riwayat penyakit yang pernah diderita.
4. Sebelum perlakuan subyek tidak boleh mengonsumsi jenis teh apapun dan obat-obatan selama 1 minggu.
5. Perlakuan:
 - a. Lama perlakuan empat hari
 - b. Minum seduhan teh tiga kali sehari setelah makan.
 - c. Teh yang diminum adalah teh seduh dari jenis teh hitam (200gram) yang diseduh dalam 200 ml air panas selama 3-5 menit.
6. Pengambilan sampel darah:
 - a. Sampel darah diambil sebelum dan sesudah perlakuan.
 - b. Sebelum pengambilan sampel darah, pasien puasa 8-12 jam
 - c. Pengambilan sampel darah vena dari *V. cutanea cubiti* dengan menggunakan spuit steril.

7. Pemeriksaan dengan analisis kuantitatif Fe dalam serum

- a. Masukkan 1ml serum ke dalam tabung centrifuge, kemudian tambahkan 1 ml akuades bebas Fe dan 1 ml HCL 0,35 N. Campur baik-baik dan diamkan selama 1 jam pada suhu kamar.
- b. Tambahkan 1 ml larutan trichlor asam asetat (TCA) 20%, kocok dengan menggunakan Vortex mixer. Diamkan pada suhu kamar selama 15 menit, kemudian pusingkan dengan centrifuge pada kecepatan 2000 rpm selama 15 menit.
- c. Siapkan 7 tabung reaksi pada rak tabung dan tambahkan zat-zat kimia pada tabung tersebut sesuai dengan bagan berikut:

Zat	BI	Sp	Standard (ml)				
	(ml)	(ml)	3	4	5	6	7
Akuades	5	3	4,5	4	3,5	3	2,5
Larutan standard	-	-	0,5	1	1,5	2	2,5
Supernatan	-	2	-	-	-	-	-
Kalium asetat	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Larutan hidroquinon	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Ortho penantrolin	1	1	1	1	1	1	1

- d. Diamkan selama 20 menit pada suhu kamar
 - e. Baca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm.
- ### 8. Perhitungan
- a. Pertama-tama tentukan persamaan garis yang menyatakan hubungan antara kadar ion Fe^{2+} dengan absorbansinya (kurva standard).

- b. Dari persamaan tersebut harga C_2 pada tabung 2 (sampel) dapat ditetapkan.

Kadar Zat besi dalam serum = C_2 X Pengenceran

Besarnya pengenceran dapat dihitung dengan memperhatikan prosedur/cara kerja dari tahap pertama sampai terakhir.

Tahap pertama: 1 ml serum diencerkan hingga menjadi 4 ml, maka besarnya pengenceran adalah $4/1 = 4$ kali.

Dari persamaan tersebut, disentrifuge, dan diambil 2 ml, selanjutnya diencerkan sampai 6,4 ml, sehingga pengenceran kedua menjadi $6,4/2 = 3,2$

Jadi besarnya pengenceran total = $4 \times 3,2 = 12,8$ kali.

Semua alat-alat yang digunakan harus bebas Fe.

H. Analisis Data

Data dianalisa dengan *independent t-test*, kemudian dilanjutkan dengan *paired sample t-test* menggunakan program komputer SPSS 15.0.