

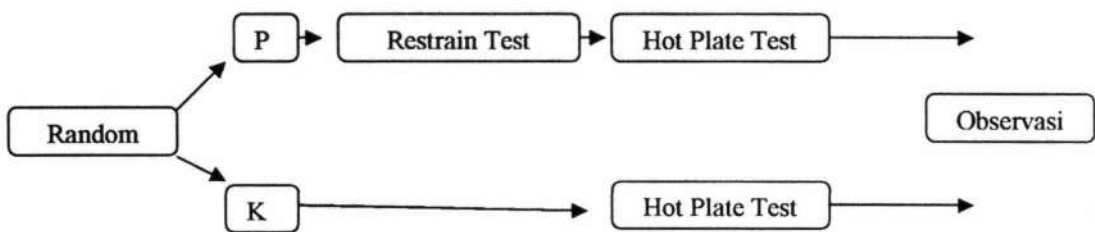


BAB 4

MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan eksperimen, sehingga sampel dan perlakuan lebih terkendali, terukur dan pengaruh perlakuan dapat lebih diamati dan dipercaya. Digunakan rancangan *the post test only control group design* dengan asumsi bahwa suatu populasi tertentu dan dari tiap satu unit populasi adalah homogen karakteristiknya, sehingga tidak dilakukan pengukuran awal (pre test).



Gambar 4.1 Kerangka Operasional Penelitian

Sekelompok hewan coba diambil secara random untuk dikelompokkan menjadi kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

Kelompok perlakuan, diberi *Restrain Test* selama 30 menit, yaitu dimasukkan dalam pipa paralon dengan ukuran internal diameter 5,7 cm dan panjang 20,3 cm, kedua ujungnya ditutup kawat kasa, dan diletakkan horisontal sedemikian rupa sehingga stabil dan tidak berubah posisi (Strausbaugh, Dalman, Levine, 1999)

Segera setelah kelompok perlakuan diberi *Restrain test*, kemudian bersama-sama dengan kelompok kontrol diberi perlakuan *Hot Plate Test*. Pada *Hot Plate Test* ini kedua kelompok dimasukkan dalam kandang yang terpisah

oleh dinding antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, alas kandangnya elemen pemanas dengan suhu stabil ($55 \pm 0,5$ ° C) selama 30 detik (South & Smith, 1998)

Kurang dari 1 (satu) jam sejak *Hot Plate Test* kedua kelompok berakhir, hewan coba kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan dikorbankan untuk diperiksa kadar *cortisol* dan *IL-1 beta* serum darahnya.

4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah hewan coba *Ratus norvegicus strain Wistar*, berjenis kelamin jantan, berumur dewasa > 90 hari (Mangkoewidjojo, 1988), mempunyai berat badan antara 200 - 350 gram yang diperoleh dari kandang hewan coba Laboratorium Ilmu Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Indonesia.

Jumlah sampel yang diambil dari masing-masing pengelompokan adalah mengikuti rumus (4.1) berikut ini :

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) \cdot (\delta \cdot D)^2}{\delta^2} \dots\dots\dots (4.1)$$

dimana $\delta/\delta = 1$, sehingga $(\delta \cdot D)^2 / \delta^2 = 1$; dan $Z_{\alpha/2} = Z_{0,25} = 1,96$ serta $Z_{\beta} = Z_{0,20}$ sama dengan 0,85; maka diperlukan jumlah sampel sebanyak ≥ 8 (Steel & Torrie, 1995). Pengambilan sampel dilakukan dengan cara acak sederhana sesuai jumlah yang telah ditentukan yaitu 8 ekor tikus ditambah 2 ekor cadangan sehingga jumlah masing-masing kelompok menjadi 10 ekor tikus.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel bebas

Stresor *Restrain Test*, yaitu perlakuan yang diberikan pada hewan coba dengan cara mengambil setiap hewan coba dari kelompok dan memasukkan pada tiap tabung berukuran diameter dalam 5,7 cm, dan panjang 20,3 cm, yang kedua ujungnya tertutup kasa, pada posisi horisontal stabil dalam waktu 30 menit.

Dan stresor *Hot Plate Test*, yaitu perlakuan yang diberikan pada hewan coba dengan cara menaruh hewan coba dalam kandang dengan ukuran 35 x 28 x 10 cm, serta alas yang panas dengan suhu 55 ± 5 ° C, dalam waktu 30 detik.

4.3.2 Variabel tergantung

Kadar *cortisol* serum, yaitu suatu angka yang menunjukkan hasil pemeriksaan kadar *cortisol* serum darah dengan metode *RIA*, dengan satuan ng/dl.

Dan *IL-1 beta* serum, yaitu suatu angka yang menunjukkan hasil pemeriksaan kadar *IL-1 beta* serum darah dengan metode *indirect sandwich ELISA*, dengan satuan pg/ml.

4.3.3 Variabel kendali

Variabel kendali adalah sekelompok variabel penelitian yang dikendalikan oleh peneliti.

Sebagai variabel kendali yaitu :

1. Hewan coba tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*
2. Jenis kelamin jantan
3. Umur > 90 hari, dengan berat 200 - 350 gram

4. Kandang di Lab. Ilmu Biokimia.
5. Pakan pelet butiran
6. Air minum aqua
7. Pemeliharaan oleh satu orang.
8. Dosis *Hot Plate Instrument*.
9. Dosis *Restrain Instrument*

4.4 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : 1)hewan coba tikus *Rattus norvegicus strain Wistar*; 2)kandang di Lab. Ilmu Biokimia; 3)pakan pelet butiran; 4)air minum aqua.

4.5 Alat Penelitian

Alat yang digunakan adalah *Restrain instrument*, berupa sejumlah pipa paralon dengan ukuran internal diameter 5,7 cm dan panjang 20,3 cm kedua ujungnya tertutup kawat kasa dan diatur sedemikian rupa sehingga stabil dalam posisi horisontal.

Alat lain yang digunakan adalah *Hot plate Instrument* berupa kandang dengan ukuran 35 x 28 x 10 cm; yang alasnya berupa papan pemanas listrik, dengan pengatur suhu otomatis untuk mempertahankan panas secara stabil $55 \pm 5^{\circ}$ C, serta termometer penunjuk suhu alasnya. Alat ini diperoleh dari Program Studi Elektro Medik Poltekkes Surabaya.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Universitas Airlangga Surabaya dan RSUD Dr.

Soetomo Surabaya, seperti berikut :

- Lab. Ilmu Biokimia : pemeliharaan tikus, perlakuan *Restrain Test* dan *Hot Plate Test*, dan pengambilan unit analisis darah hewan coba.
- Lab TDC UNAIR Surabaya : pengukuran kadar *IL-1 beta* serum dengan *Indirect Sandwich ELISA*.
- Lab. MAKMAL
RSUD Dr Soetomo : pengukuran kadar *cortisol* serum dengan *RIA*.

Waktu yang digunakan sejak persiapan, pelaksanaan, dan pelaporan hasil penelitian adalah 10 (sepuluh) bulan, dimulai bulan April 2003 sampai bulan Januari 2004.

4.7 Prosedur Penelitian

Setelah tikus beradaptasi terhadap lingkungan kandang di Lab. Ilmu Biokimia selama ≥ 5 (lima) bulan, hewan coba dikelompokkan secara random menjadi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

Kelompok perlakuan diberikan *Restrain Test* selama 30 (tiga puluh) menit, segera setelah itu secara bersamaan dengan kelompok kontrol diberi perlakuan *Hot Plate Test* selama 30 (tiga puluh) detik.

Dan kurang dari 1 (satu) jam hewan coba dikorbankan untuk diambil darah intra kardial sebagai bahan unit analisis, yang selanjutnya diperiksa kadar *cortisol* dan *IL-1 beta* dalam serum darahnya.

4.8 Analisis Data

Data yang dikumpulkan adalah berat badan hewan coba, kadar *cortisol* dan *IL-1 beta* baik kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol.

Dilakukan uji homogenitas dan normalitas data kemudian dilakukan analisis dengan *Manova* untuk mencari perbedaan kadar *cortisol* dan *IL-1 beta* serum antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol; serta Analisis Diskriminan untuk mengetahui variabel yang dominan membuat perbedaan antar kelompok; hasil uji bermakna jika Sig. < 0,05.