

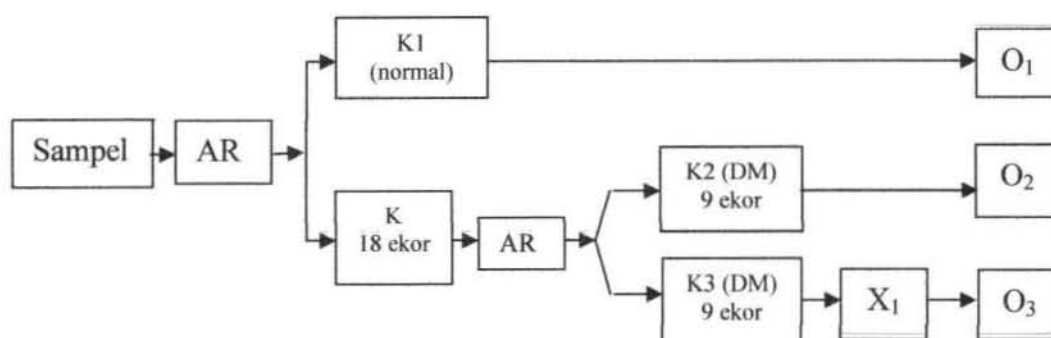
BAB 4
METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni (*True Experiment*). Rancangan eksperimen yang digunakan adalah *The Randomise Post Test Only Control Group Design*. Skema rancangan penelitian yang dipakai sebagai berikut



Gambar 4.1 Desain penelitian

Keterangan:

- AR = Alokasi random
 K = Kelompok mencit DM (diinduksi *streptozotocin* dosis 150 mg/kg bb ip)
 K1 = Kelompok kontrol mencit yang diinduksi *placebo* (NaCl 0,9%)
 K2 = Kelompok mencit DM yang tidak diberi perlakuan
 K3 = Kelompok mencit DM yang diberi perlakuan (model latihan isometrik)
 X₁ = Perlakuan dengan pemberian model latihan isometrik selama 23,31 menit dengan kecepatan 21 cm/detik dan sudut elevasi 0° (tanpa inklinasi)
 O₁ = Pengukuran kadar glukosa darah mencit K1 setelah pemberian glukosa oral
 O₂ = Pengukuran kadar glukosa darah mencit K2 setelah pemberian glukosa oral
 O₃ = Pengukuran kadar glukosa darah mencit K3 setelah latihan isometrik

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel dan Teknik Sampling

4.2.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) yang berada di ruang pemeliharaan hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

4.2.2 Sampel

Pemilihan sampel dalam penelitian ini, peneliti menetapkan kriteria sebagai berikut

1. Mencit (*Mus musculus*) dengan jenis kelamin jantan
2. Sehat
3. Usia 8-12 minggu
4. Berat badan antara 20-25 gram

4.2.3 Besar sampel

Penentuan besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus Frederer (Kusriningrum, 2008).

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan :

t = Jumlah kelompok perlakuan
n = Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(3-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

$$n \geq 9$$

Jadi di dalam penelitian ini didapatkan jumlah sampel dari tiap kelompok adalah 9 ekor mencit (*Mus musculus*). Jumlah sampel secara keseluruhan pada ketiga kelompok adalah 27 ekor mencit (*Mus musculus*).

4.2.4 Teknik sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling* dimana pengambilan anggota sampel dari populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi itu (Sugiyono, 2009).

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi variabel

1. Variabel bebas (*independent variable*)

Variabel independen dalam penelitian ini adalah model latihan isometrik.

2. Variabel tergantung (*dependent variable*)

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus setelah diberikan model latihan isometrik.

3. Variabel kendali (*control variable*)

Variabel kendali (kontrol) pada penelitian ini adalah

1. Jangka waktu pemberian latihan isometrik yaitu 23,31 menit
2. Kecepatan *treadmill* 21 cm/detik
3. Sudut elevasi *treadmill* 0° (tanpa inklinasi)
4. Dosis glukosa oral (2 mg/g bb mencit per pemberian)
5. Waktu pemberian glukosa oral 60 menit sebelum latihan

4.3.2 Definisi operasional

Di bawah ini merupakan definisi variabel yang digunakan dalam penelitian:

Tabel 4.1 Definisi operasional

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Skala
Independen Model latihan isometrik	Lari involunter menggunakan <i>treadmill</i> dengan sudut 0° (tanpa inklinasi)	1. Lama pemberian latihan = 23,31 menit 2. Kecepatan <i>treadmill</i> = 21 cm/detik	SOP (terlampir)	-
Dependen Kadar glukosa darah	Jumlah glukosa yang terdapat dalam darah (mg/dl) yang diambil pada bagian intrakardial mencit	Nilai glukosa yang ditunjukkan <i>spectrophotometer</i>	Nilai <i>absorbance</i>	Rasio

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat penelitian

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah

1. Alat *Treadmill* (merk: *modified colombus treadmill*) mencit di Laboratorium Olah Raga Kebugaran Departemen Faal FK Unair
2. *Stopwatch* (merk: *diamond*)
3. *Syringe* 1 cc
4. *Syringe* 3 cc

4.4.2 Bahan penelitian

1. *Streptozotocin* (STZ) dengan dosis 150 mg/ kg bb mencit
2. Cairan fisiologis NaCl 0,9% sebagai *placebo*

3. Natrium sitrat sebagai pelarut *streptozotocin* hingga mencapai pH 4,5
4. Aluminium foil
5. Glukosa oral 2 mg/gr bb mencit
6. Pakan, air untuk minum, sekam dan kandang

4.5 Instrumen Penelitian

Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *spectrophotometer* di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga untuk mengetahui nilai glukosa darah (cara kerja dapat dilihat pada lampiran 5)

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Maret-Juli 2012 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

4.7 Prosedur Pengambilan Data

1. Pra pelaksanaan penelitian

Peneliti melakukan permohonan penelitian kepada Kepala Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair sebagai tempat untuk melaksanakan penelitian. Tahap berikutnya, peneliti melakukan studi pendahuluan untuk menetapkan protokol pelaksanaan latihan yang akan diberikan pada sampel (mencit). Peneliti menggunakan dua ekor mencit untuk menetapkan kecepatan maksimal dan sudut elevasi *treadmill* yang dapat ditempuh mencit pada latihan isometrik. Sudut *treadmill* yang dicoba pada mencit adalah 0° . Pengaturan kecepatan *treadmill* yang diberikan pada mencit terdiri dari kecepatan 14

cm/detik, 21 cm/detik dan 30 cm/detik (ketiga pilihan kecepatan tersebut telah tersedia pada *treadmill*).

Berdasarkan hasil uji 3 pilihan kecepatan, kecepatan terbaik yang dapat ditempuh mencit untuk berlari adalah kecepatan 21 cm/detik. Peneliti juga menetapkan lama atau dosis pemberian latihan. Dalam studi pendahuluan ini, mencit dibiarkan berlari sampai mencapai keletihan maksimal. Peneliti mendapatkan kecepatan maksimal pada mencit yaitu 33,31 menit. Untuk menetapkan sebagai latihan aerobik, kecepatan maksimal yang telah diperoleh, dikalikan 70% VO_{max} , (sesuai dengan rumus latihan tipe aerobik) sehingga peneliti mendapatkan hasil kecepatan 23,31 menit. Berdasarkan hasil studi pendahuluan ini peneliti menetapkan latihan model isometrik (dengan menggunakan *treadmill*) yang diberikan pada mencit dalam penelitian ini adalah berlari dengan sudut 0° dan kecepatan 21 cm/detik selama 23,31 menit.

2. Pelaksanaan penelitian

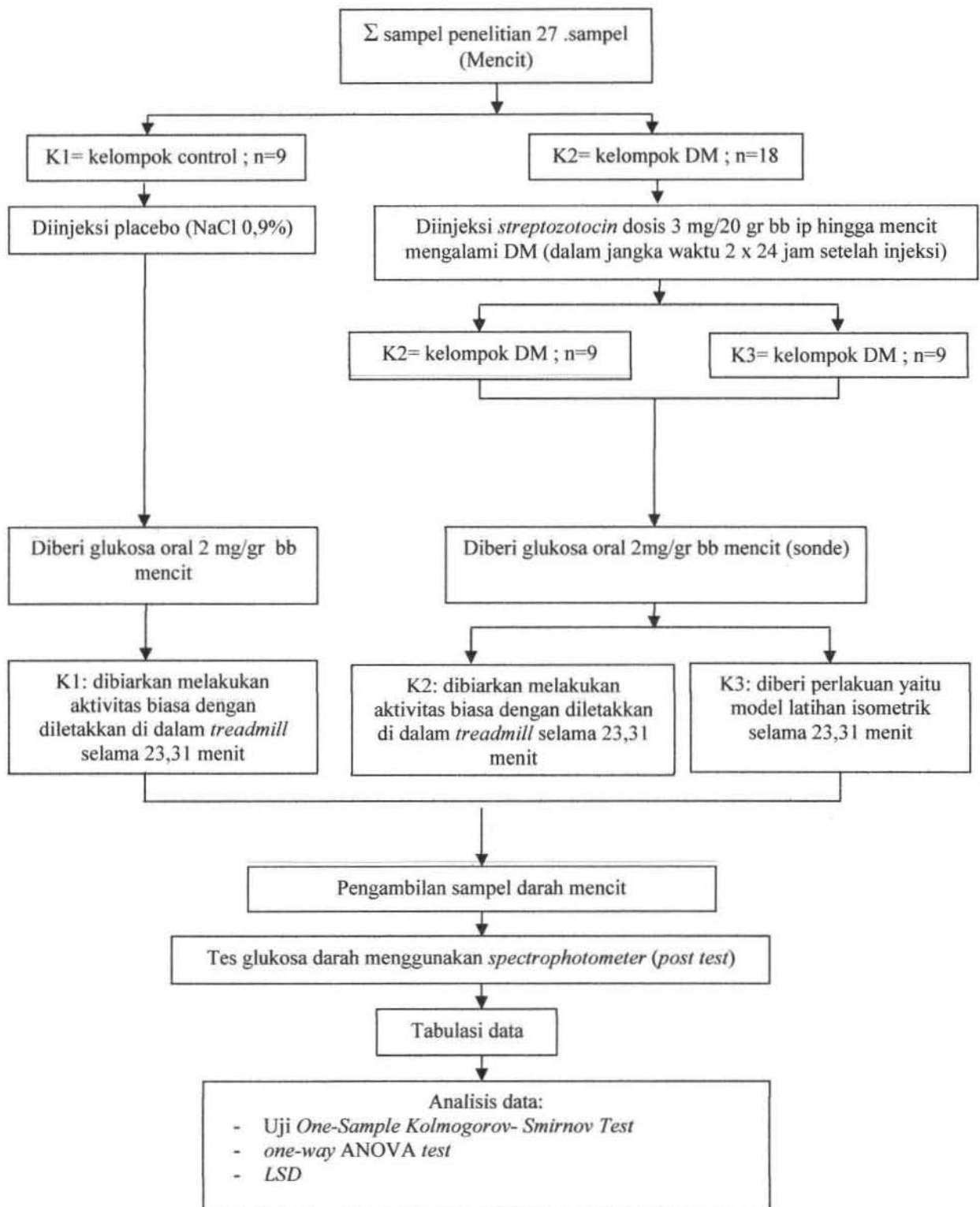
Pada penelitian ini, mencit di letakkan di ruang pemeliharaan hewan coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang bertujuan sebagai proses adaptasi hewan coba. Langkah selanjutnya adalah peneliti melakukan alokasi random pada mencit menjadi 2 kelompok yaitu kelompok 1 (9 ekor mencit) yang merupakan kelompok mencit normal dan tidak diberikan intervensi. Kelompok 2 (18 ekor mencit) yang akan diinjeksi *streptozotocin* (STZ) sebagai penginduksi Diabetes Mellitus (DM). Kelompok 2 diinjeksi STZ dengan dosis 3 mg/20 gr bb yang dilarutkan dalam Na-sitrat, hingga mencapai pH 4,5. Berdasarkan prosedur tetap, mencit dipuasakan selama 4 jam sebelum diinjeksi STZ. (Brosius, 2009). STZ disuntikan melalui intraperitoneal dengan posisi kepala mencit searah

gravitasi bumi. 48 jam paska penyuntikan STZ, peneliti kembali melakukan alokasi random pada kelompok 2. Mencit pada kelompok 2 dibagi menjadi dua kelompok yaitu menjadi kelompok 2 dan 3, masing-masing kelompok terdiri dari 9 ekor mencit. Kelompok 2 adalah kelompok mencit yang telah menjadi DM dan tidak diberikan intervensi, sedangkan kelompok 3 adalah kelompok mencit yang telah menjadi DM dan diberi intervensi berupa latihan isometrik.

Seluruh mencit pada ketiga kelompok diberi glukosa oral (*Dextrose-40%* atau D40) dengan dosis 2 mg/gr bb mencit (Zhang, 2011). Berat badan mencit setelah disuntik STZ akan turun sekitar 10-12% (Purwanto, 2012), sehingga untuk dosis glukosa oral, peneliti tidak melakukan penimbangan ulang. Dosis D40 yang diberikan adalah 0,1 ml dilarutkan dalam 0,4 ml NaCl. Satu jam setelah diberikan glukosa oral, mencit pada kelompok 1 dan 2 dibiarkan menjalankan aktivitas di dalam kandang seperti biasa, sedangkan mencit pada kelompok 3 diberikan latihan isometrik dengan menggunakan *treadmill* dengan kecepatan 21 cm/detik selama 23,31 menit dan sudut elevasi 0°. Latihan yang diberikan bersifat akut, yaitu hanya dilakukan satu kali untuk melihat efek jangka pendek latihan.

Pengambilan sampel darah mencit pada ketiga kelompok dilakukan setelah pemberian latihan pada mencit kelompok 3 selesai. Sampel darah mencit yang diambil di intrakardial sebanyak 0,2 ml kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah menggunakan *spectrophotometer* yang telah dikalibrasi. Data kadar glukosa darah yang telah diperoleh kemudian dianalisa sehingga didapatkan hasil analisis statistik.

4.8 Kerangka Operasional



Gambar 4.2 Kerangka operasional penelitian

4.9 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data pada penelitian ini, pertama adalah melakukan uji normalitas data dengan *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test*. Bila hasil data berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji *One-way ANOVA* untuk uji kuantitatif. Analisis data ini digunakan untuk melihat perbandingan di antara ketiga kelompok dengan nilai $\alpha=0,05$. Uji *Least Significant Difference (LSD)* dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan pada masing-masing kelompok.

4.10 Etik (*Ethical Clearence*)

Pada penelitian ini, peneliti memegang prinsip etika hewan coba yaitu hewan dikorbankan dengan cara diinjeksi *ketamine* dosis 50-400 mg/kg bb ip untuk memberikan efek anestesi, ditunggu selama 15-30 menit (Kusumawati, 2004). Mencit dikorbankan dengan cara dekapitasi, yaitu tengkuk mencit ditekan bersamaan dengan penarikan ekor secara kuat dan tiba-tiba (Smith & Mangkoewidjojo, 1988).

4.11 Keterbatasan

1. Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *post test only control group design*, pada penelitian ini peneliti tidak menilai kadar glukosa darah acak awal sebelum diberikan intervensi sehingga peneliti tidak dapat mengetahui perubahan kadar glukosa darah.
2. Peneliti tidak mengukur kadar glukosa darah pada mencit 2 hari paska penyuntikan STZ sehingga belum dapat dipastikan mencit tersebut sudah mengalami DM.

3. Pada kelompok 2 masih terdapat mencit yang memiliki kadar glukosa darah normal, yang seharusnya mencit pada kelompok 2 mengalami DM secara keseluruhan.
4. Peneliti tidak mengukur kadar glukosa darah pada kelompok 3 sebelum dilakukan intervensi sehingga belum dapat dipastikan mencit tersebut memiliki kadar glukosa darah tinggi atau dalam batas normal.
5. Latihan isometrik yang diberikan hanya 1 kali sehingga belum terlihat efek dari latihan isometrik.