

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan desain *Posttest Only Control Group*. Penelitian ini bertujuan menganalisa pengaruh pemberian BCAA selama 28 hari terhadap kadar MDA, BUN dan kreatinin terhadap tikus putih jantan galus *wistar* setelah diberi perlakuan *forced swimming test*

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Tempat dan waktu penelitian ini dilaksanakan pada :

**Lokasi** : Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang

**Waktu** : Agustus-September 2019

#### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diperoleh dari laboratorium Biosains Universitas Brawijaya Malang.

Penelitian ini terdiri dari 4 kelompok yaitu kelompok P1 yang merupakan kelompok kontrol, kelompok P2, P3, dan P4 diberikan BCAA dengan dosis yang berbeda. Besar Sampel pada masing – masing kelompok penelitian ini adalah 5 ekor tikus, sehingga total sampel pada penelitian ini adalah 20 ekor tikus.

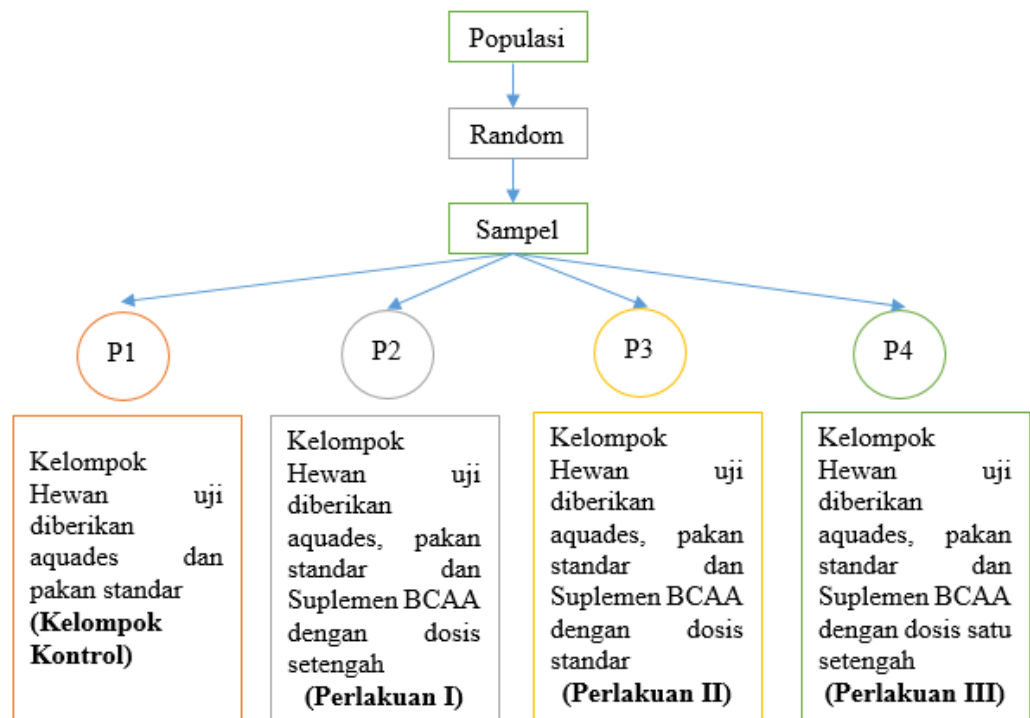
Pengambilan sampel penelitian menggunakan tehnik random sampling dengan memperhatikan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut:

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus dalam kondisi sehat
- 2) Tikus jantan
- 3) Berusia 8 – 10 minggu dengan berat 200-250 gr

b. Kriteria eksklusi

- 1) Tikus mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% setelah masa adaptasi dilaboratorium
- 2) Tikus mati selama perlakuan



Gambar 2. Pembagian Sampel

**D. Variabel Penelitian**

Variabel dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah suplemen BCAA dan *Forced Swimming Test (FST)*

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah Malondialdehyde (*MDA*), *Blood Urea Nitrogen (BUN)* dan Kreatinin.

**E. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data**

Pengumpulan data akan dilakukan dengan metode sampel darah yang dilakukan di Laboratorium Institut Biosains Universitas Brawijaya. Analisis sampel darah dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Ilmu Faal pada Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur.

**Tabel 2. Teknik dan Instrumen Pengumpulan Data**

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1	Suplemen BCAA	Pemberian Suplemen BCAA	Ditimbang dengan menggunakan timbangan digital dengan ketelitian 0,01 gr	Timbangan digital	Gr	Ratio

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
2	BUN	Kadar urea di dalam darah tikus	Dengan mengukur kadar Nitrogen Ureum dalam darah yang dikenal dengan <i>Blood Urea Nitrogen (BUN)</i>	Tes darah	mg/dl	Ratio
3	Kreatinin	Kadar kreatinin di dalam darah tikus	Dengan menggunakan metode <i>jaffe</i>	Reagen kreatinin FS	mg/dl	ratio
4	Malondialdehyde ( <i>MDA</i> )	Banyaknya kadar Malondialdehyde ( <i>MDA</i> ) dalam darah	Diukur dengan metabolit hasil peroksidasi	Spektrofotometer	ng/ml	rasio

No.	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
		hasil dari metabolisme energi	lipid oleh radikal bebas			

#### F. Validitas dan Reabilitas Instrumen

Validitas dan reabilitas data dilakukan dengan cara pelaksanaan proses penelitian sesuai dengan prosedur pengumpulan data. Berikut adalah prosedur penelitian yang dilakukan :

##### 1. Persiapan Hewan Uji

Dalam penelitian ini menggunakan hewan uji tikus dengan galur *Wistar* yang memiliki jenis kelamin jantan dengan umur 8-10 minggu. Hewan ujicoba memiliki berat badan 200-250 gram yang memiliki kesehatan yang baik dan beraktifitas secara normal. Tahap awal dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu dengan tujuan hewan uji mampu menyesuaikan diri dengan lingkungan uji coba. Pada masa aklimatisasi hewan tikus diberikan pakan standar dan aquadest *ad libitum*. Sedangkan berat badan tikus dalam proses adaptasi ditimbang setiap hari dan apabila ada yang sakit dalam proses aklimatisasi maka tidak akan diikutsertakan dalam penelitian.

##### 2. Langkah pemeliharaan hewan coba

- a. Kelompok perlakuan tikus dipilih dengan cara random dan kemudian dikelompokkan ke dalam 4 kelompok. Masing-masing kelompok berjumlah 5 tikus putih galur *Wistar*.
- b. Setelah pengelompokkan secara random, hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari agar dapat mengenal lingkungannya dengan baik dan harapannya adalah agar hewan uji tidak mengalami stres. Keadaan kandang dijaga dengan suhu terkendali antara 23-25<sup>0</sup>C, dengan keadaan lampu terang selama 12 jam dan lampu dimatikan selama 12 jam pada malam hari (Xianchu et al., 2018).
- c. Dosis BCAA tikus yang digunakan dalam penelitian ini dikonversi dari dosis setara manusia berdasarkan luas permukaan tubuh. Kebutuhan BCAA sebesar 144mg/KgBB. Dosis tikus =  $144 \times 6,2 = 892,8$  mg/KgBB; koefisien konversi 6,2 digunakan menjelaskan perbedaan luas permukaan tubuh antara tikus dan manusia (Chen, Huang, Chiu, Chang, & Huang, 2014 : 1518). Kelompok P3 diberikan BCAA dengan dosis setara manusia. kelompok P2 diberikan BCAA 0,5 kali dosis P3, sedangkan P4 diberikan BCAA 1,5 kali dosis P3, sehingga pemberian BCAA pada keempat kelompok penelitian adalah sebagai berikut :  
P1 = Kelompok Hewan diberikan aquades, dan Pakan Standar.  
P2 = Kelompok hewan diberikan aquades, pakan standar, dan Suplemen BCAA dengan dosis 446.4 mg/kg BB

P3 = Kelompok hewan diberikan aquades, pakan standar, dan Suplemen BCAA dengan dosis 892.8 mg/kg BB

P4 = Kelompok hewan diberikan aquades, pakan standar, dan (Chen, Huang, Chiu, Chang & Huang, 2014 : 1518)

- d. Hewan uji coba diberikan suplement BCAA selama 4 minggu. Setelah diberikan suplement BCAA selama 28 hari tikus putih diberikan beban latihan dengan direnangkan setelah diberi beban pemberat pada ekornya kurang lebih 5% dari berat badan tikus. Kolam renang tikus berukuran 90 cm x 45 cm x 45 cm dengan kedalaman 35 cm dengan suhu air  $25^0 \pm 1^0$  C. Tikus direnangkan hingga menunjukkan kondisi lelah yaitu tidak ada gerakan pada keempat kakinya, posisi badan membungkuk, ekor meregang dan kepala berada dibawah permukaan air selama 7 detik. Setelah itu tikus dipindahkan dari dalam kolam, dikeringkan dengan menggunakan handuk dengan proses  $\pm 7$  menit dan diambil darahnya melalui jantung setelah tikus dimatikan terlebih dahulu.

#### **G. Teknik Analisis Data**

Data yang didapatkan akan diolah dengan menggunakan program komputer SPSS versi 26.0.0. Teknik dalam analisis data dalam penelitian ini menggunakan statistik deskriptif. Uji prasyarat uji normalitas menggunakan uji *shapiro-wilk*. Pada penelitian ini ditemukan data tidak terdistribusi normal sehingga tergolong kedalam data non parametrik. Uji beda dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar variabel

dalam setiap kelompok, dikarenakan dalam penelitian ini merupakan data non parametik sehingga menggunakan uji beda *Kruskal Wallis*. Uji post hoc dilakukan menggunakan uji *Mann Whitney*. Taraf signifikansi dalam analisis data ini adalah 0,05.