

## **BAB 3**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Desain Penelitian**

Penelitian ini merupakan sebuah studi analitik dengan mengukur diameter liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi yang dipaparkan dengan larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5 selama penyimpanan dengan suhu  $4^\circ\text{C}$ . Hasil pengukuran diameter hari ke-1 akan dibandingkan dengan hasil pengukuran hari ke-90.

#### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Departemen Fisika Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Penelitian terdiri dari persiapan penelitian dari bulan Juli 2008, pengumpulan data penelitian yang berlangsung pada bulan Agustus dan September 2008, serta analisis dan pembuatan laporan penelitian dari bulan September 2008 hingga Juni 2009.

#### **3.3 Bahan dan Alat**

##### **3.3.1 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah data sekunder berupa foto liposom yang berasal dari penelitian Nelfidayani.<sup>23</sup> Foto yang digunakan yaitu:

- a. Foto kamar hitung dengan skala Olympus dengan lebar antara dua garis: 100 nm.
- b. Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi yang tidak diberi perlakuan dengan penyimpanan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  hari pertama.
- c. Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi yang tidak diberi perlakuan setelah penyimpanan selama 90 hari pada suhu  $4^\circ\text{C}$ .
- d. Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi yang dipaparkan dengan larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5 dengan penyimpanan pada suhu  $4^\circ\text{C}$  hari pertama.
- e. Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi yang dipaparkan dengan larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5 setelah penyimpanan selama 90 hari pada suhu  $4^\circ\text{C}$ .

### 3.3.2 Alat

- Untuk mengukur diameter liposom, digunakan program komputer khusus untuk menganalisis citra, yaitu *Image pro Express*.
- Skala Olympus dengan lebar antara dua garis: 100 nm.

### 3.4 Besar Sampel

Besar sampel ditentukan dengan rumus Federer dengan empat kelompok perlakuan, yaitu:

- Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi tanpa perlakuan hari kesatu.
- Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi tanpa perlakuan hari ke-90.
- Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5 hari kesatu
- Foto liposom EPC-TEL 2,5 hasil sonikasi dalam larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5 hari ke-90

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

$$t = \text{jumlah kelompok perlakuan} = 4$$

$$(n-1)(4-1) \geq 15$$

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$


$$n \geq 6$$

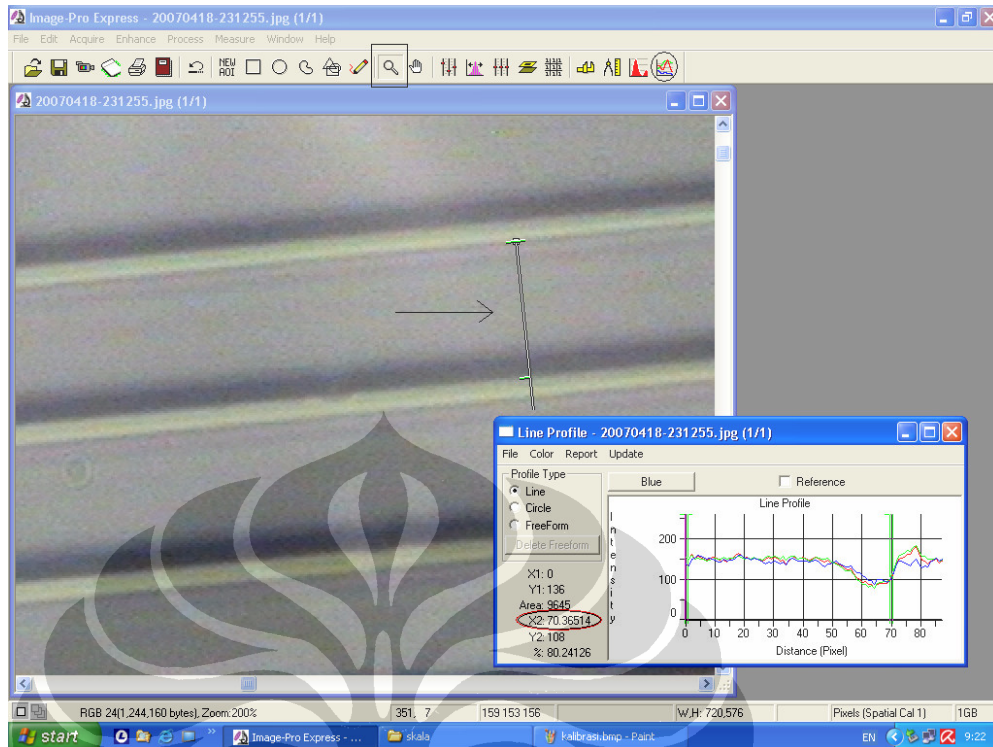
Dari perhitungan di atas didapatkan besar sampel minimal yang digunakan adalah enam untuk setiap kelompok perlakuan. Maka, diambil enam foto yang mewakili enam lapang pandang dalam setiap kelompok perlakuan. Pemilihan sampel dilakukan dengan teknik *simple random sampling* karena pada uji statistik Kolmogorov-Smirnov didapatkan data terdistribusi normal.

### 3.5 Cara Kerja

#### 3.5.1 Kalibrasi

Program *Image pro Express* menggunakan satuan pengukuran berupa piksel sedangkan data yang ingin diperoleh adalah dalam satuan nanometer. Oleh karena itu, perlu dilakukan kalibrasi dari satuan piksel menjadi nanometer dengan cara:

- a. Membuka program *Image pro Express* dan menampilkan foto kamar hitung.
- b. Dengan menggunakan pilihan *magnify* (diberi tanda kotak), foto kamar hitung diperbesar menjadi 100% ukuran asli.
- c. Memilih ikon *line profile* (dilingkari dengan garis hitam) hingga muncul jendela *line profile* dan garis ukur yang memiliki pangkal berupa persegi kecil dan dua garis hijau pendek.
- d. Memastikan garis hijau pendek pertama berimpitan dengan pangkal garis ukur dengan cara menggeser garis hijau pada jendela *line profile* hingga berada pada angka 0.
- e. Garis ukur diletakkan tegak lurus garis-garis kamar hitung.
- f. Pangkal garis ukur diletakkan pada sisi dalam garis kamar hitung pertama sedangkan garis hijau kedua diletakkan pada sisi dalam garis kamar hitung kedua dengan cara menggeser garis hijau kedua pada jendela *line profile*.
- g. Dilakukan pengukuran pada tiga jarak antara dua garis.
- h. Membaca hasil pengukuran (dilingkari garis merah) yang merupakan nilai piksel dari panjang garis.
- i. Hasil pengukuran dari gambar:  : 100 nm  $\approx$  70,33 piksel



Gambar 3.1 Cara pengukuran lebar kamar hitung pada skala Olympus dengan pembesaran 100%

Keterangan:

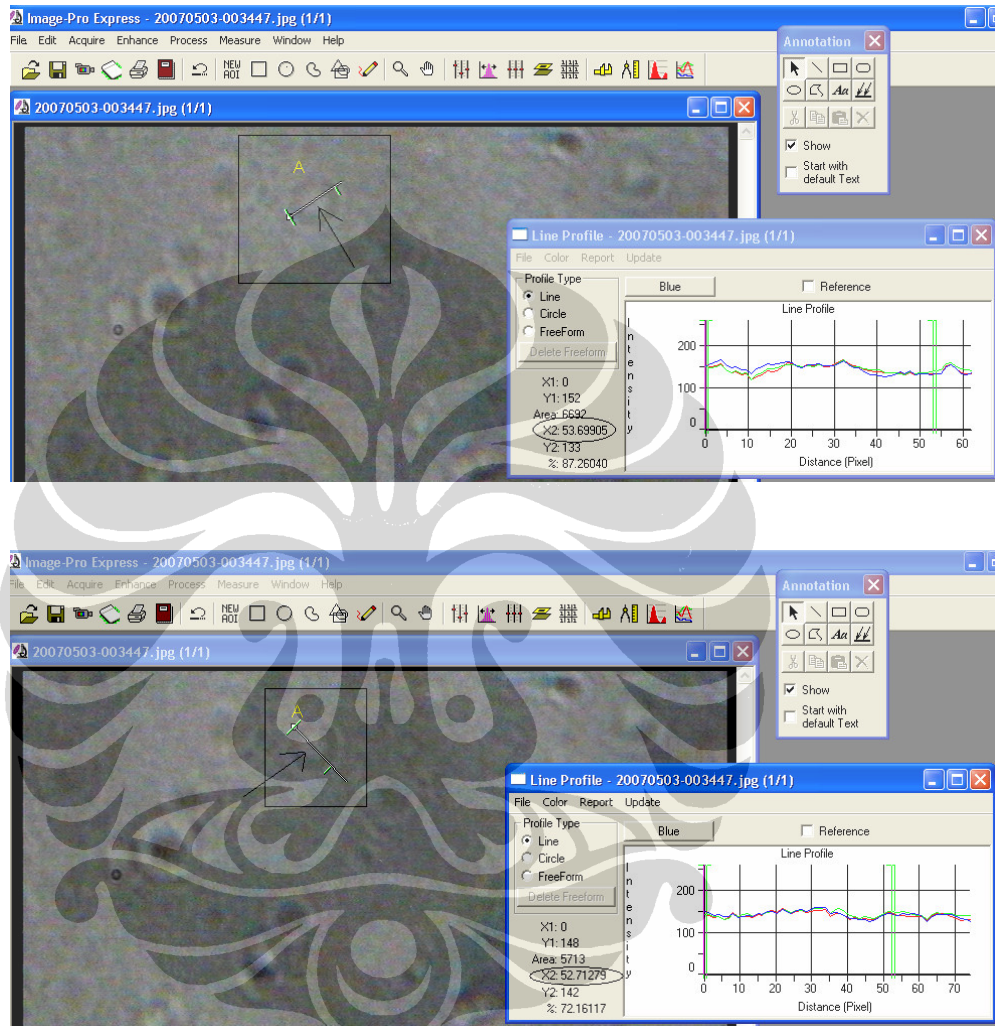
→ Menunjukkan ruas garis yang diukur

### 3.5.2 Pengukuran Diameter Liposom

Pengukuran dilakukan pada enam foto liposom dari setiap kelompok perlakuan.

- Memilih ikon *annotation* dan memberi label huruf pada setiap liposom dalam foto.
- Memperbesar foto liposom dengan memilih ikon *magnify* sebanyak empat kali.
- Memilih ikon *line profile* dan menggunakan garis ukur untuk mengukur diameter liposom. Cara pengukuran sama seperti pengukuran kamar hitung. Setiap liposom diukur dua kali pada posisi garis yang berbeda (saling tegak lurus) sehingga didapatkan dua data yang kemudian dicari nilai reratanya.
- Mengubah hasil pengukuran (dilingkari) dalam satuan piksel menjadi satuan nanometer sesuai hasil kalibrasi.
- Semua liposom yang berukuran lebih dari 100 nm diambil sedangkan liposom yang berukuran kurang dari atau sama dengan 100 nm dipilih dengan

menggunakan teknik *simple random sampling* hingga didapatkan sepuluh ukuran diameter liposom. Untuk foto yang tidak memiliki sepuluh liposom, seluruh liposom dalam foto diambil.



Gambar 3.2 Cara pengukuran diameter liposom pada skala Olympus dengan perbesaran 100%. Pengukuran dilakukan dua kali dengan menempatkan garis ukur pada dua posisi berbeda yang saling tegak lurus. Liposom yang diukur ditandai dengan kotak.

Keterangan:

—→ :Menunjukkan ruas garis yang diukur

A: liposom

### 3.6 Identifikasi Variabel

Variabel bebas pada penelitian ini adalah pemaparan larutan  $\text{CaCl}_2$  150 mOsmol pH 5. Variabel terikat adalah diameter liposom EPC-TEL 2,5. Skala yang digunakan adalah skala numerik.

### 3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran ini merupakan data numerik yang akan dianalisis dengan bantuan program SPSS versi 11.5. Langkah analisis yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Dengan menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk pada batas kemaknaan  $p = 0,05$  didapatkan distribusi data normal.
- b. Dengan uji varians (*Levene's test*), diketahui varians data tidak sama. Untuk menyamakan varians, dilakukan transformasi data. Setelah transformasi data, varians data menjadi tidak berbeda bermakna.
- c. Penelitian ini menggunakan hipotesis komparatif dengan variabel numerik pada lebih dari dua kelompok yang tidak berpasangan. Data pada penelitian ini memenuhi syarat uji parametrik karena data numerik, distribusi normal, serta varians data tidak berbeda bermakna. Karena itu, untuk menguji hipotesis digunakan uji *One Way Anova* pada batas kemaknaan  $p = 0,05$ .
- d. Pada uji *One Way Anova* didapatkan  $p = 0,001$  sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna setidaknya pada dua kelompok perlakuan.
- e. Untuk mengetahui kelompok data mana yang berbeda bermakna, dilakukan analisis *Post Hoc*.