

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *true experimental laboratorik* karena terdapat perlakuan dan kelompok kontrol pada hewan coba tikus serta menggunakan randomisasi. Desain penelitian ini menggunakan Control Group Post Test Design (Notoatmojo, 2002). Berikut ini merupakan 4 jenis perlakuan dan 1 kontrol yang dilakukan selama penelitian:

Kontrol (P0) : pakan standar

Perlakuan 1 (P1) : pakan aterogenik

Perlakuan 2 (P2) : pakan aterogenik + dosis 1,3 gr/3 ml jus terung ungu

Perlakuan 3 (P3) : pakan aterogenik + dosis 2,6 gr/3 ml jus terung ungu

Perlakuan 4 (P4) : pakan aterogenik + dosis 5,2 gr/3 ml jus terung ungu

4.2. Populasi dan Sampel

4.2.1. Jumlah Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua tikus putih jenis *Rattus norvegicus strain wistar*. Untuk menentukan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini, maka peneliti menggunakan rumus

$$(n - 1) (t - 1) > 15$$

$$(n-1) (5-1) > 15$$

$$n - 1 > 3,75$$

$$n > 4,75$$

$$n > 5$$

Keterangan :

n : jumlah sampel

t : banyaknya perlakuan pada sampel

(Fadlia, 2011)

Dari hasil perhitungan diatas didapatkan jumlah sampel adalah 5 dan 1 cadangan. Jadi jumlah tikus yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah 30 ekor untuk 5 kelompok perlakuan dengan cadangan.

4.2.2. Prosedur Pengambilan Sampel

Pemilihan sampel penelitian untuk pengelompokkan dan pemberian perlakuan menggunakan metode RAL (Rancangan Acak Lengkap), hal ini karena hewan coba, tempat percobaan dan bahan penelitian lainnya dapat dikatakan homogen. Teknik randomisasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

4.2.3. Kriteria Subjek

a. Kriteria inklusi

1. Tikus putih jenis *Rattus Novergicus Strain wistar* jantan berusia 8 – 12 minggu
2. Berat badan 100 - 200 gr
3. Anggota badan lengkap, dan tidak cacat, gerakan aktif, mata jernih
4. Warna bulu putih bersih
5. Tikus sehat

b. Kriteria eksklusi

1. Tikus yang selama penelitian tidak mau makan
2. Tikus yang kondisinya menurun atau mati selama penelitian berlangsung

4.3. Variabel Penelitian

4.3.1. Variabel Bebas :

Jus terung ungu (*Solanum melongena l.*) dengan berbagai dosis.

4.3.2. Variabel Tergantung :

Kadar Trigliserida pada tikus putih jenis *Rattus novergicus strain wistar* jantan.

4.4. Lokasi dan Waktu Penelitian

4.4.1. Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pemeliharaan hewan coba dan Laboratorium Faal untuk pengukuran kadar trigliserida pada tikus.

4.4.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dari bulan Desember 2012 – Februari 2013

4.5. Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

1. Diet normal

Berupa comfeed PARS dan tepung terigu perbandingan 2 : 1 dengan ditambahkan air secukupnya (PARS 53%, tepung terigu 23,5%, air 23,5%).

Diet normal diberikan 40 gram setiap hari per tikus pada semua kelompok saat masa adaptasi dan pada kelompok kontrol negatif saat masa perlakuan (Murwani *dkk*, 2005)

2. Diet aterogenik

Diberikan 40 gram setiap hari per tikus (Murwani, 2006) atau sesuai dengan perhitungan kebutuhan energi tikus, diberikan pada kelompok perlakuan (P1, P2, P3, P4). Komposisi bahan diet aterogenik dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 4.1 Komposisi Bahan Diet Aterogenik (40 gram per sajian)

Bahan	%	Berat (gram)
Comfeed PARS	50	20
Tepung terigu	25	10
Kuning telur bebek	5	2
Lemak kambing	10	4

Minyak kelapa	1	0,4
Minyak babi	8,9	3,55
Asam kolat	0,1	0,05
TOTAL	100	40

(Palupi, 2012)

3. Jus Terung Ungu

Jus terung ungu adalah buah terung ungu yang diblender sehingga menjadi sediaan jus. Terung ungu yang dipakai dalam penelitian ini adalah terung ungu yang berbentuk lonjong. Jus terung ungu terong yang digunakan pada kelompok perlakuan adalah 1,3gr/3ml, 2,6gr/3ml dan 5,2gr/3ml (Fadlia, 2011).

4.5.2 Alat/instrumen Penelitian

1. Alat pembuatan makanan hewan coba

Timbangan, neraca analitik, waskom, pengaduk, gelas ukur, penggiling pakan dan nampan

2. Alat pemeliharaan hewan coba

Bak plastik, kandang tikus terbuat dari anyaman kawat, botol air dan sekam

3. Alat pengambilan sampel trigliserida

Seperangkat alat bedah minor, kapas, tabung untuk menyimpan trigliserida serum, termos es, beaker glass, sentrifuge

4. Alat untuk pemeriksaan trigliserida

Sprektofotometer, tabung reaksi, mikro pipet 1000 μ L, mikro pipet 10 μ L, rak tabung, *Blue Tip*, *Yellow Tip*

4.6 Definisi Operasional

4.6.1. Diet Normal

Pakan yang diberikan pada tikus percobaan dengan komposisi Comfeed PARS, tepung terigu dan air secukupnya. Diberikan pada saat adaptasi selama satu minggu dan pada kelompok kontrol negatif selama 8 minggu (Palupi, 2012). Alur pembuatan pakan diet normal terdapat pada lampiran 2.

4.6.2. Diet Aterogenik

Pakan yang diberikan kepada tikus dengan komposisi Comfeed PARS, tepung terigu, kuning telur bebek, elmak kambing, minyak kelapa, minyak babi dan asam kolat yang diberikan kepada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan (P2, P3, P4) setelah masa adaptasi (Palupi, 2012). Alur pembuatan pakan diet aterogenik terdapat pada lampiran 3.

4.6.3. Jus Terung Ungu

Hasil buah Terung Ungu yang diblender sehingga menjadi sediaan jus. Terong ungu yang digunakan pada penelitian ini adalah Terung Ungu yang berbentuk lonjong. Jus terung ungu diberikan kepada tikus putih menggunakan sonde lambung. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Novita Fadlia pada tahun 2011 dosis jus terung yang optimal untuk efek diuresis Jus Terung Ungu adalah 2,6 gr/3ml dengan memperhatikan faktor konversi berat badan manusia ke berat badan tikus. Sehingga, dosis jus terong yang digunakan pada penelitian ini adalah 1,3gr/3ml, 2,6gr/3ml dan 5,2gr/3ml.

Cara pembuatan jus terong ungu :

- 1) Terong ungu dicuci bersih kemudian dipotong kecil-kecil dan ditimbang sebanyak 100 gram lalu dimasukkan blender
- 2) Menambahkan air sebanyak 115 ml

Rumus penambahan air untuk dosis 2,6 gram/3 ml pada perlakuan P3:

$$\frac{2,6}{3} = \frac{100}{x}$$

- X = 115 ml air
- 3) Memblender campuran terong ungu dan air hingga menjadi sediaan jus (dosis 2,6 gr/3 ml)
 - 4) Mengambil sediaan jus menggunakan sonde sebanyak 60 ml untuk dosis P3 dan P4
 - 5) Menambahkan air kembali ke dalam blender sebanyak 115 ml
 - 6) Memblender campuran jus terong ungu dan air hingga menjadi sediaan jus (dosis 1,3 gr/3 ml)
 - 7) Mengambil sediaan jus menggunakan sonde sebanyak 18 ml untuk dosis P2
 - 8) Sehingga didapatkan jus terong ungu dengan dosis sebagai berikut:
 - a) Dosis I : 3 ml jus yang mengandung 1,3 gr terong ungu
 - b) Dosis II : 3 ml jus yang mengandung 2,6 gr terong ungu
 - c) Dosis III : 3 ml jus yang mengandung 5,2 gr terong ungu

4.6.4 Kadar Trigliserida

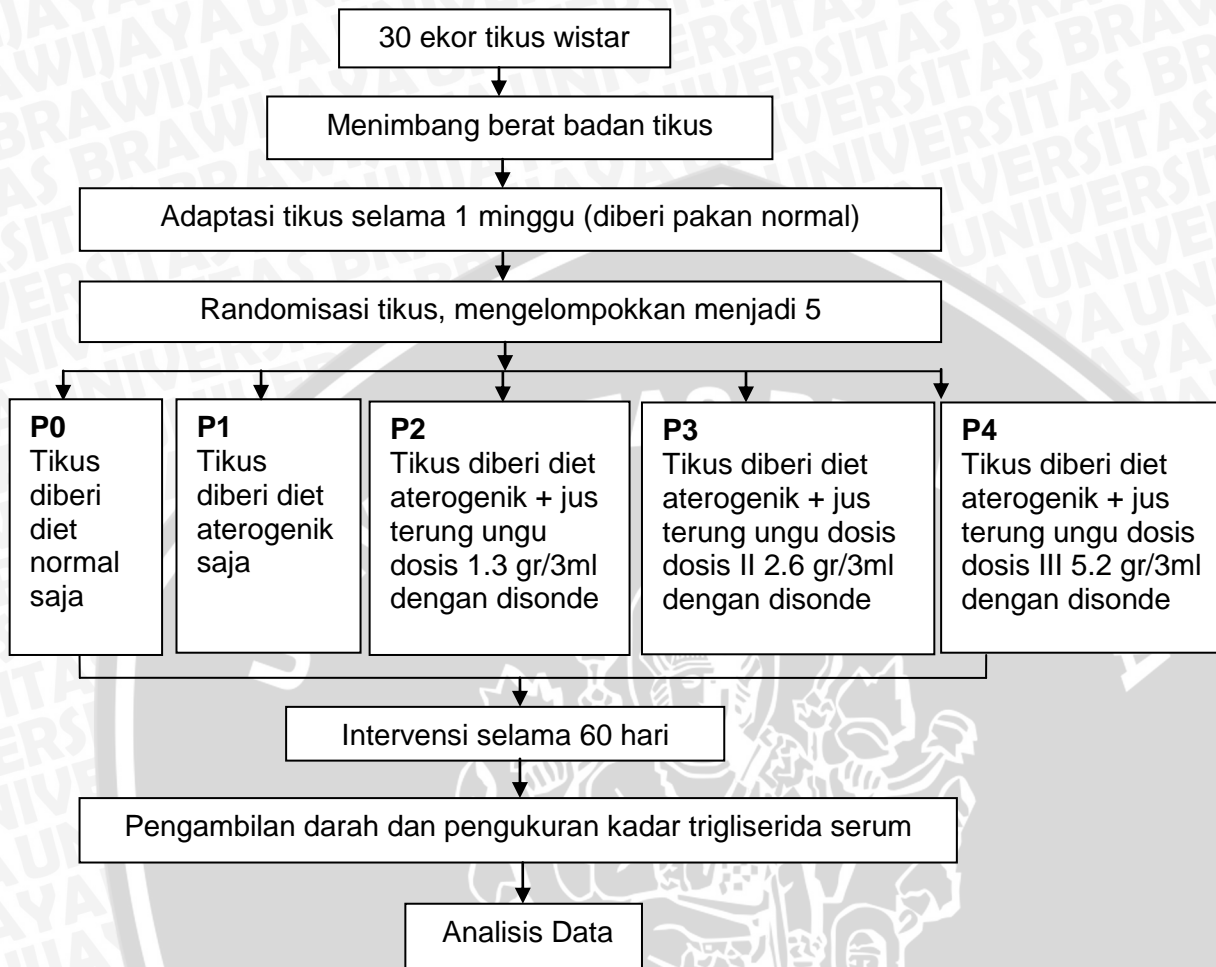
Kadar trigliserida serum darah hewan uji diambil dari jantung bagian ventrikel kanan pada saat akhir diberi perlakuan selama 60 hari. Serum yang diperoleh dari darah sampel penelitian di sentrifuge, kemudian dibaca dengan menggunakan *Enzimatic Colorimetri* dan dinyatakan dalam mg/dl.

4.6.5 Berat Badan

Berat badan tikus ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik dan untuk mengetahui perkembangan berat badannya, tikus ditimbang setiap seminggu sekali dan dinyatakan dalam satuan gram.

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Langkah-langkah dalam pelaksanaan penelitian ini adalah:



Gambar 4.1 Diagram alur penelitian

Penjelasan terkait alur penelitian terdapat pada lampiran 6.

Keterangan:

- Kontrol (P0) : Kelompok kontrol negatif (diet normal)
- Perlakuan 1 (P1) : Kelompok kontrol positif (diet aterogenik)
- Perlakuan 2 (P2) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 1,3 gr/3 ml
- Perlakuan 3 (P3) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 2,6 gr/3 ml
- Perlakuan 4 (P4) : diberi pakan aterogenik + jus terong ungu 5,2 gr/3 ml

4.7.2 Pemeriksaan kadar trigliserida

Cara pemeriksaan kadar trigliserida menggunakan metode *Colorimetric*

Enzymatic Test :

1. Hewan coba dibius dengan eter hingga mati/pingsan
2. Kemudian dibedah dan diambil darahnya dari jantung bagian ventrikel
3. Darah yang telah didapat dimasukkan ke dalam tabung dan didamkan selama 10 -20 menit supaya tidak lisis kemudian dicentrifuge selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm
4. Serum tikus yang telah didapat diambil 10 μ L + 10 μ L standar + 1000 μ L reagen trigliserida dan diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37^oC
5. Dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm dengan satuan mg/dl

4.8. Pengumpulan Data

1. Data berat badan tikus diperoleh dari hasil penimbangan berat badan tikus menggunakan alat timbang digital yang dilakukan 1 minggu sekali
2. Data asupan pakan tikus diperoleh dari selisih antara berat pakan awal dikurangi sisa pakan (waste) yang dilakukan setiap hari. Tujuannya adalah untuk mengetahui intake tikus dalam sehari yang dicatat dalam tabel berat badan tikus setiap harinya.
3. Data kadar trigliserida diketahui dari hasil pemeriksaan kadar trigliserida menggunakan metode *Colorimetric Enzymatic Test* (Ahadyah, 2012)

4.9 Analisa Data

Data yang didapat dianalisis dengan program SPSS (*Statistical Package for Social Science*) for windows versi 14 secara statistik dengan menggunakan uji *one-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan derajat trigliserida serum pada masing-masing kelompok perlakuan Jika terdapat perbedaan maka dapat dilanjutkan

dengan uji Tuckey untuk mengetahui perbedaan tiap kelompok. Uji statistik dilakukan pada tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$), perbedaan dikatakan bermakna jika $p < 0,05$.

