

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental murni. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *pre and post test control design* untuk mengetahui manfaat air rendaman tempe terhadap kadar kolesterol total pada *Rattus norvegicus* yang diinduksi aloksan.

B. Populasi Dan Sampel Penelitian

Populasi penelitian adalah *Rattus norvegicus* jantan yang diperoleh dari laboratorium gizi dan pangan Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada(UGM) secara random. Sampel yang digunakan memiliki kriteria inklusi sebagai berikut :

1. Memiliki berat badan 150-250 gram
2. Berjenis kelamin jantan, sehat dan belum pernah mendapat perlakuan
3. Usia 2-4 bulan

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 30 ekor yang diacak dan dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor sampel.

1. Kelompok 1 sebagai kontrol tanpa perlakuan. Hanya diberi makan dan minum selama masa penelitian.
2. Kelompok 2 sebagai kontrol positif, hewan uji yang sudah diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan

glibenklamid satu kali sehari selama 14 hari masing masing 0,09 mg/200grbb/hari/tikus.

3. Kelompok 3 sebagai kontrol negatif, kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan tidak diberi perlakuan.
4. Kelompok 4 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe satu kali sehari selama 14 hari dengan dosis 40gr/L
5. Kelompok 5 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe satu kali sehari selama 14 hari dengan dosis 80gr/L.
6. Kelompok 6 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe satu kali sehari selama 14 hari dengan dosis 160 gr/L.

C. Lokasi Dan Waktu Penelitian

Penelitian dan pengukuran kadar glukosa darah dan kolesterol dilakukan di laboratorium gizi dan pangan Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada(UGM).

D. Variabel Penelitian

1. Variabel independent(variabel bebas)

Variabel independent adalah variabel yang mempengaruhi. Pada penelitian ini variabel bebas yaitu pemberian induksi aloksan dan air rendaman tempe berbagai dosis.

2. Variabel dependent(variabel tergantung)

Variabel dependent adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas. Pada penelitian ini variabel dependent adalah kadar kolesterol total masing-masing subjek.

3. Variabel terkendali :

- a. Usia : pemilihan subjek penelitian yang memiliki usia 3 bulan.
- b. Jenis kelamin : pemilihan subjek penelitian yang berjenis kelamin jantan.
- c. Berat badan : pemilihan subjek penelitian yang mempunyai berat badan berkisar antar 150-250 gram.
- d. Suhu dan kelembapan udara yang diusahakan normal.
- e. Kondisi pakan dan kandang sama pada tiap kelompok .
- f. Waktu pemeriksaan : pemeriksaan subjek penelitian dilakukan pada waktu yang sama . Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan sebelum, sesudah induksi aloksan dan sesudah pemberian air rendaman tempe.
- g. Lama perlakuan : waktu pemberian perlakuan sama pada tiap kelompok subjek penelitian.

E. Definisi Operasional

1. Tikus Diabetes Melitus

Tikus diabetes mellitus adalah tikus yang mengalami glukosemia, dengan kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dL, karena di induksi aloksan 80 mg/dL. Tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian

yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina. Tikus putih jantan juga mempunyai kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis tubuh dan lebih stabil dibanding tikus betina (Sugiyanto, 1995). Skala data variabel ini adalah nominal.

Aloksan adalah toksin yang beraksi dengan merusak sel beta pulau langerhans pada pankreas sehingga menurunkan produksi insulin (Carvalho, *et al.*, 2003). Single dose aloksan intraperitoneal yang dapat berefek diabetogenik pada mencit atau tikus sebesar 140-180 mg/kgBB (Etuk, 2010). Dosis yang digunakan pada penelitian sebesar 80 mg/kgBB (lebih rendah dari dosis yang bisa menimbulkan diabetes mellitus tipe 1) dengan tujuan untuk membuat tikus mengalami diabetes namun tidak merusak seluruh sel beta langerhans. Aloksan diberikan pada kelompok hewan uji 2,3,4,5,dan 6. Waktu paruh aloksan pada suhu 37 derajat celcius dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik , aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan(Szkudelski, 2001; Rees dan Alcolado, 2005).

2. Air rendaman tempe

Air rendaman tempe adalah air rendaman yang mengandung tempe yang dibuat dengan cara, tempe yang dibungkus daun pisang(tempe 18-24 jam) dipotong-potong kecil, lalu dicampur dengan air panas dan ditunggu selama 12 jam. Lalu dosis yang diberikan per hari 40gr/L, 80gr/L dan 160gr/L selama 14 hari. Diberikan sekali sehari 1 cc.

3. Kolesterol total

Kolesterol total adalah kadar keseluruhan kolesterol yang beredar dalam tubuh manusia. Nilai rujukan kolesterol total adalah 120-200 mg/dL darah (Hardjoeno, 2003).

Sedangkan pedoman profil lemak darah menurut US National Cholesterol Education Program (NCEP) (2001) :

- a. Sehat / normal : kadar kolesterol < 200 mg/dL
- b. Mengkhawatirkan / batas tinggi : kadar kolesterol 200-239 mg/dL
- c. Buruk / tinggi : kadar kolesterol \geq 240 mg/dL

F. Alat Dan Bahan Penelitian

1. Bahan

- a. Aloksan
- b. Aquades
- c. Glibenklamid
- d. Tempe

2. Alat

- a. S spuit injeksi
- b. Timbangan
- c. Alat pengukur gula darah
- d. Kandang tikus
- e. Alat pengukur kadar kolesterol total

G. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan air rendaman tempe

Pembuatan air rendaman tempe dilakukan dengan cara tempe yang dibungkus daun pisang dipotong-potong kecil, lalu dicampur dengan air panas dan ditunggu selama 12 jam. Lalu dosis yang diberikan per hari 40gr/L, 80gr/L dan 160gr/L selama 14 hari. Diberikan sekali sehari cc.

2. Pengelompokan hewan uji

Sebanyak 30 ekor mencit ditimbang dan dibagi secara acak menjadi 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor, yaitu : Kelompok 1 sebagai kontrol tanpa perlakuan. Kelompok 2 sebagai kontrol positif, hewan uji yang sudah diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan glibenklamid satu kali sehari selama 14 hari masing masing 0,09 mg/200grbb/hari/tikus. Kelompok 3 sebagai kontrol negatif, kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan tidak diberi perlakuan. Kelompok 4 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc selama 14 hari dengan dosis 40gr/L. Kelompok 5 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc sehari selama 14 hari dengan dosis 80gr/L. Kelompok 6 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc selama 14 hari dengan dosis 160gr/L.

3. Pemberian perlakuan air rendaman tempe berbagai dosis

Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 30 ekor yang diacak dan dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor sampel.

- a. Kelompok 1 sebagai kontrol tanpa perlakuan. Hanya diberi makan dan minum selama masa penelitian.
- b. Kelompok 2 sebagai kontrol positif, hewan uji yang sudah diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan glibenklamid satu kali sehari selama 14 hari masing masing 0,09 mg/200grbb/hari/tikus.
- c. Kelompok 3 sebagai kontrol negatif, kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan tidak diberi perlakuan.
- d. Kelompok 4 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc selama 14 hari dengan 40gr/L.
- e. Kelompok 5 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc selama 14 hari dengan dosis 80gr/L.
- f. Kelompok 6 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgbb sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan air rendaman tempe 1 kali sehari sebanyak 1 cc selama 14 hari dengan dosis 160gr/L.

4. Pengambilan data

Pengambilan data dilakukan 3 kali. Pemeriksaan kadar kolesterol total dilakukan sebelum, sesudah induksi aloksan, dan sesudah pemberian air rendaman tempe.

H. Uji Validitas Dan Reliabilitas

Penelitian dilakukan di Pusat Antar Universitas(PAU) Universitas Gadjah Mada(UGM) dan menggunakan alat yang telah terstandarisasi.

I. Analisis Data

Uji statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS (Statistical Product and Service Solutions) PC versi 15.0. Analisa data dilakukan untuk menjawab hipotesis penelitian, oleh karena itu diperlukan uji statistik yang sesuai dengan variabel penelitian (Widyastuti, 2013).

Data yang telah terkumpul akan dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *shapiro-wilk* karena jumlah sampel kurang dari 50 sampel, jika distribusi data normal selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan uji T berpasangan atau *Paired T-Test*, jika distribusi data tidak normal menggunakan uji *Wilcoxon*. Kemudian data perubahan kolesterol ditest normalitasnya dengan Shapiro Wilk. Bila data terdistribusi normal digunakan uji anova dan bila persebaran data tidak normal maka digunakan Kruskal-Wallis Test.