

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental yang dilakukan di laboratorium dengan rancangan penelitian *pre-test, post-test controlled group design*.

B. Populasi dan Sample Penelitian

Subyek dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley* yang di tentukan berdasarkan rumus federer yaitu:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq (4,75)$$

$$n = 5$$

Keterangan :

t = Banyaknya perlakuan

n = Jumlah perlakuan

Dari rumus diatas didapatkan jumlah perlakuan minimal 5 ekor. Maka jumlah tikus yang di perlukan 25 ekor, dengan umur 2-3 bulan, dengan berat 150-200 gram.

Tikus diperoleh dari Laboratorium Gizi UGM dengan kriteria sebagai berikut :

1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus putih jantan
- b. Usia 2-3 bulan
- c. Berat tikus 150-200 gram

2. Kriteria Eksklusi

- a. Tikus yang sakit pada masa perlakuan
- b. Tikus yang cacat fisik

C. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Gizi UGM. Penelitian ini dilakukan mulai bulan Maret 2015 .

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Ekstrak etanol mengkudu (*morinda citrifolia L*)

2. Variabel terikat

Kadar glukosa darah pada masing-masing subyek

3. Variabel pengganggu

a. Variabel terkendali

1) Usia

Memilih subyek yang berumur sekitar 2-3 bulan.

2) Berat badan

Memilihan subyek dengan berat badan antara 150-200 gram.

3) Waktu pengukuran kadar glukosa darah

Dengan melakukan pengukuran kadar glukosa darah pada waktu yang sama.

4) Dosis perlakuan dan lama perlakuan

Dikendalikan dengan pemberian dosis perlakuan yang sama disesuaikan pada masing-masing kelompok tikus dan memberikan perlakuan selama sebulan.

5) Penyesuaian lingkungan

Dikendalikan dengan melakukan adaptasi pada subyek penelitian terlebih dahulu selama 3 hari.

b. Variabel tak terkendali

Subyek diberi pakan secara *ad libitum*, jenis pakan yang diberi sama, namun jumlah yang dikonsumsi masing-masing subyek tidak diobservasi.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol mengkudu (*morinda citrifolia L*) adalah hasil ekstrak buah mengkudu (*morinda citrifolia L*) menggunakan penyari etanol 70% dengan teknik maserasi.
2. Kadar gula darah adalah kadar glukosa serum darah setelah hewan uji berpuasa selama 8 – 12 jam.
3. Tikus diabetes mellitus adalah tikus putih galur *Sprague Dawley* yang diinduksi hiperglikemik dengan aloksan.

4. Aloksan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang jika diberikan pada hewan uji akan merusak sel beta pulau langerhans pada pankreas dan menimbulkan diabetes.

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

- a. Kandang tikus
- b. Timbangan tikus
- c. Timbangan analitik
- d. Spektrofotometer
- e. Kapas dan Alkohol
- f. Sonde
- g. Tempat makan dan tempat minum tikus
- h. Panci
- i. Blender
- j. Pisau

2. Bahan

- a. Ekstrak etanol mengkudu (*morinda citrifolia L*)
- b. Aloksan
- c. Glibenklamid

G. Jalannya Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Etanol Mengkudu (*Morinda citrifolia L*)

Buah mengkudu (*morinda citrifolia L*) tersebut di kupas kulit luarnya, lalu di belah menjadi beberapa bagian. Iris potongan buah tersebut

menjadi sangat tipis lalu keringkan dalam oven pada suhu 60°C sampai kering. Buah mengkudu (*morinda citrifolia L*) yang sudah kering diblender sampai menjadi serbuk. Buah mengkudu (*morinda citrifolia L*) diekstrak dengan penyaring etanol 70% menggunakan teknik maserasi. Serbuk buah mengkudu (*morinda citrifolia L*) direndam (maserasi) dengan larutan etanol 70% selama 24 jam dan di ambil filtratnya dengan melakukan penyaringan. Kemudian, hasil saringan diuapkan diatas pemanas air. Pada tahapan akhir proses ini, akan didapatkan ekstrak murni berupa cairan kental dari serbuk buah mengkudu (*morinda citrifolia L*)

2. Perlakuan hewan uji

- a. Subyek diaklimatisasi dalam kandang selama 3 hari serta diberi makan dan minum seperti biasanya.
- b. Tikus dipuasakan selama 8-12 jam, setelah itu di ukur kadar glukosa darah masing-masing tikus, kemudian tikus diberi makan dan minum seperti biasa.
- c. Setelah 1 hari, tikus diinduksi dengan aloksan.
- d. Kemudian diukur kembali kadar glukosa darah kedua pada masing-masing subjek untuk mengetahui kadar glukosa darah post aloksan.
- e. Setelah itu tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok yaitu :
- f. Kelompok I : Kelompok kontrol negatif, tikus diinduksi dengan aloksan.
- g. Kelompok II : kelompok kontrol positif, tikus diinduksi aloksan & di beri glibenklamid dosis 0,09 mg/kgBB

- h. Kelompok III : Kelompok perlakuan, tikus diinduksi aloksan & diberi perlakuan ekstrak etanol mengkudu (*Morinda citrifolia L*) dosis 1,4 mg/kgBB.
- i. Kelompok IV : Kelompok perlakuan, tikus diinduksi aloksan & diberi perlakuan ekstrak etanol mengkudu (*Morinda citrifolia L*) dengan dosis 2,8 mg/kgBB.
- j. Kelompok V : kelompok perlakuan, tikus diinduksi aloksan & diberi perlakuan ekstrak etanol mengkudu (*Morinda citrifolia L*) dengan dosis 4,2 mg/kgBB.
- k. Tikus diukur kembali kadar glukosa darahnya dengan pengambilan darah setelah perlakuan untuk mengetahui kadar glukosa darah pasca perlakuan.

H. Analisis Data

Dalam penelitian ini analisis data menggunakan uji normalitas dan uji beda.

Skala pengukuran variabel penelitian ini adalah skala rasio yaitu rerata kadar glukosa darah dengan jumlah kelompok lebih dari 2 dan tidak berpasangan. Uji hipotesis pilihan menggunakan uji statistik One Way Anova bila distribusi data normal, apabila distribusi data tidak normal dengan uji normalitas Shapiro-Wilk, uji statistik menggunakan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan Mann-Whitney