

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental longitudinal.

B. Desain Penelitian

Post test control group design.

C. Subyek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley berjumlah 17 ekor, sehat dan aktivitasnya normal. diperoleh dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UMY. Subyek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut:

1. Usia sekitar 4 bulan,
2. Berat badan rata-rata antara 340 gram
3. Jenis kelamin jantan.

Tikus tersebut dilakukan dengan baik dan sesuai etika penelitian dengan pemberian diet (yaitu BR) dan minuman tikus secara *ad libitum*.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Dosis buah merah

2. Variabel Terikat

Variabel terikatnya adalah kadar glukosa pada masing-masing subyek.

3. Variabel Kendali

a. Variabel Subjek Penelitian

- i. Jenis kelamin : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dari jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
- ii. Jenis Tikus Putih : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dari jenis tikus putih yang sama yaitu Sprague Dawley.
- iii. Berat Badan : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dengan berat badan antara 310-370 gram.
- iv. Umur : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dengan umur yang sama yaitu 4 bulan.

b. Variabel Perawatan

Perlakuan yang diberikan kepada subjek adalah sama meliputi pemberian makan dan minum, jenis dan kualitasnya sesuai dengan kelompoknya.

c. Variabel Bahan Uji

Berupa minyak buah merah yang diproduksi oleh CV Papua Cendrawasih Industri dan Jaya Makmur Wamena-Papua. Cara pemberian minyak buah merah pada tiap subjek sama yakni peroral.

D. Definisi Operasional

1. Kadar Glukosa Darah : Jumlah mg glukosa dalam tiap 100 ml plasma darah, dinyatakan dalam mg/dl
2. Dosis perlakuan : Dosis yang digunakan adalah ekstrak buah merah sebesar 30ml dan 45ml dan kontrol positif (alloxan) 120mg/kgBB.
3. Lama perlakuan : Lama perlakuan adalah pemberian ekstrak buah merah selama 24 hari.
4. Alloxan

Alloxan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang jika diberikan pada hewan percobaan cenderung merusak sel pulau pankreas dan menimbulkan diabetes alloxan. Obat ini bersifat sitotoksik terhadap sel beta pankreas yang dimediasi oleh reaktivitas oksigen spesies.

E. Instrumen Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar glukosa darah

1. Bahan

a. Larutan reagen KIT Glucose DYASIS yang terdiri dari:

- Phosphate Buffer Ph 7,5 : 250 mmol/L
- Phenol : 5 mmol/L
- 4-aminoantipyrine : > 15 KU/L
- Glucose Oxidase : > 1 KU/L

- b. Alloxan
- c. Ekstrak buah merah
- d. Darah
- e. Aquades

2. Alat

- a. Kandang Tikus
- b. Spektrofotometer
- c. Mikropipet
- d. Tabung Reaksi
- e. Vortek
- f. Sonde lambung / jarum oral
- g. Timbangan (DHAUS) untuk menimbang berat badan tikus
- h. Alat homogenisasi
- i. Sentrifuse
- j. Eppendorf
- k. Micro-hematocrite tube

F. Cara Kerja

1. Sampel penelitian 17 ekor tikus putih jantan dibagi menjadi kelompok masing-masing 2 dan 5 ekor.
2. Sebelum diinduksi alloxan, hewan uji dipuasakan selama 12 jam (bahan

kimia untuk menaikkan kadar glukosa darah).

3. Subjek pada kelompok I (kontrol negatif) hanya mendapat perlakuan makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Subjek pada kelompok II (kontrol positif) hewan coba mendapat perlakuan alloxan, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Kelompok III (kelompok uji) hewan coba mendapat perlakuan ekstrak buah merah dosis 30 ml, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Kelompok IV (kelompok uji) hewan coba mendapat perlakuan alloxan, ekstrak buah merah dosis 45 ml, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum.
4. Pemeriksaan kadar glukosa darah sesudah perlakuan.
5. Analisis Statistik

G. Cara Pengumpulan Data

Pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan reagen KIT Glucose DYASIS metode GOD-PAP. Prinsipnya adalah glukosa diubah menjadi asam glukonik dan H_2O_2 oleh enzim oksidase. H_2O_2 yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrine dan phenol dengan bantuan enzim hydrogen peroksidase membentuk *chinonimine* yang berwarna dan intensitasnya diukur secara fotometrik (Barham et al, 1972).

Tabel 6. Komposisi Campuran dalam Penetapan Kadar Glukosa Darah

	Blanko	Sampel	Standart
Sampel	-	10 μ l	-
Standart	-	-	10 μ l
Aquades	10 μ l	-	-
Reagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

Campur baik-baik, inkubasikan selama 20 menit pada suhu 20-25°C atau 10 menit pada suhu 37°C. Baca absorbansinya pada panjang gelombang 500nm.

$$\text{Kadar glukosa darah (mg/dl)} = \frac{A \text{ sampel} - A \text{ blanko}}{A \text{ standar} - A \text{ blanko}} \times \text{konsentrasi standar}$$

H. Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar glukosa darah dianalisis dengan uji Oneway ANOVA untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan penurunan kadar glukosa antar kelompok. Dilanjutkan dengan uji post hoc antar kelompok untuk menjawab pada antar kelompok manakah terdapat perbedaan kebermaknaan penurunan kadar glukosa darah tersebut.