

### **BAB III**

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

##### **A. DESAIN PENELITIAN**

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

##### **B. WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Gizi dan Pangan PAU UGM. Waktu penelitian bulan November 2008.

##### **C. SUBYEK PENELITIAN**

Subyek penelitian ini adalah tikus putih (*Strain Wistar*) diperoleh dari Farmasi UGM. Subyek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut:

1. Usia sekitar 2 bulan
2. Memiliki berat badan  $\pm$  200 gram
3. Berjenis kelamin jantan

Jumlah sampel dalam penelitian adalah 15 ekor. Subyek dipilih secara acak, dibagi menjadi 3 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok kontrol positif, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB intraperitoneal) sehingga menjadi diabetik dan diberi obat glibenklamid 1 kali

sehari selama 10 hari, masing-masing 0,1 mg/200gr BB.

- b. Kelompok kontrol negatif, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB intraperitoneal) sehingga menjadi diabetik dan hanya diberi aquades.
- c. Kelompok uji, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB intraperitoneal) sehingga menjadi diabetik diberi campuran bawang putih (180 mg/200gr BB) dan sirih (15 mg/200gr BB) 1 kali sehari selama 10 hari.

#### **D. VARIABEL PENELITIAN**

1. Variabel bebas : Campuran bawang putih (*Allium sativum* L) dengan dosis 180 mg/200gr BB dan sirih (*Piper betle* L) dengan dosis 15 mg/200gr BB. Pemberian secara oral (sonde) pada masing-masing subyek.
2. Variabel terikat : LDL-kolesterol dalam darah masing-masing subyek.
3. Variabel kontrol :
  - a. Usia : diatasi dengan pemilihan subyek penelitian yang memiliki usia sekitar 2 bulan.
  - b. Jenis kelamin : diatasi dengan pemilihan subyek dari jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
  - c. Berat badan : diatasi dengan pemilihan subyek yang memiliki berat badan  $\pm$  200 gram.

#### **E. DEFINISI OPERASIONAL**

1. Bawang putih yang digunakan adalah bawang putih dengan spesies *Allium*

*sativum* L. Bawang putih dengan dosis 180 mg/200gr BB ditumbuk hingga halus dan diencerkan dengan air rebusan daun sirih. Pemberian secara oral dengan sonde.

2. Sirih yang digunakan adalah sirih hijau dengan spesies *Piper betle* L. Sirih dengan dosis 15 mg/200gr BB dimasukan dalam 2 ml air yang telah mendidih, selama 10 menit. Pemberian secara oral (sonde) bersama-sama dengan bawang putih.
3. Kadar LDL adalah kadar LDL yang diambil dari serum darah hewan uji sebanyak 3 kali, yaitu sebelum induksi alloxan, sebelum perlakuan (setelah induksi alloxan, dan dibiarkan selama 48 jam), dan setelah perlakuan selama 10 hari.
4. Alloxan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang jika diberikan pada hewan percobaan cenderung merusak sel pulau pankreas, dan menimbulkan diabetes alloxan. Alloxan diberikan dengan dosis 125 mg/kg BB intraperitoneal.
5. Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu diantara penyakit tidak menular yang akan meningkat jumlahnya di masa datang. DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya.

## F. INSTRUMEN PENELITIAN

### 1. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu, larutan Reagen KIT LDL, alloxan,

antikoagulan EDTA, glibenklamida, dan darah.

## 2. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, alat-alat gelas, neraca analitik, blender, kain saring, tabung, saringan, sonde, pipet, sentrifuse kecil Hettich EBA III, eppendorf, dan spektrofotometer (UV-1202 Shimadzu).

## G. CARA KERJA

- a. Persiapan
- b. Tiap-tiap tikus ditimbang berat badan
- c. Sebelum pemeriksaan darah ke-1, hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam.
- d. Diambil darah dan diperiksa kadar LDL.
- e. Selanjutnya hewan uji diberi alloxan sehingga menjadi diabetik
- f. Untuk melihat reaksi yang telah ditimbulkan, dibiarkan selama 48 jam, kemudian diambil darah dari hewan uji sebanyak 1,5 ml. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar LDL yang ke-2.
- g. Subyek pada kelompok uji diberi campuran bawang putih (180 mg/200gr BB) dan sirih (15 mg/200gr BB) 1 kali sehari selama 10 hari, per oral. Subjek pada kelompok kontrol positif diberi glibenklamid 1 kali sehari selama 10 hari, masing-masing 0,1 mg/200gr BB, per oral. Kelompok kontrol negatif tidak diberi campuran bawang putih dan sirih ataupun glibenklamid, hanya diberi aquades.
- h. Sebelum pemeriksaan kadar LDL ke-3, hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam.

- i. Pengambilan darah ke-3 sebanyak 1,5 ml tiap hewan uji.
- j. Dilanjutkan pemeriksaan kadar LDL tiap subyek yang diberi perlakuan.

Metode yang digunakan adalah colometric test dengan menggunakan spektrofotometer.

## H. BAGAN PENELITIAN



Gambar 4. Bagan Rancangan Penelitian

### Keterangan:

- Pemeriksaan kadar glukosa darah dan LDL ke-1: Pemeriksaan kadar glukosa darah dan LDL ke-1 sebelum diinduksi alloxan.
- Pemeriksaan kadar glukosa darah dan LDL ke-2: Pemeriksaan kadar glukosa darah dan LDL ke-2 setelah diinduksi alloxan dan sebelum diberi perlakuan.
- Pemeriksaan kadar LDL ke-3: Pemeriksaan kadar LDL ke-3 setelah subyek diberi perlakuan.
- Perlakuan A: Pemberian obat glibenklamida setelah diinduksi alloxan pada kontrol positif.

- Perlakuan B: Pemberian aquades setelah induksi alloxan pada kelompok kontrol negatif.
- Perlakuan C: Pemberian campuran bawang putih dan sirih pada kelompok uji setelah diinduksi alloxan.

## **I. ANALISIS DATA**

Data hasil pengukuran dianalisis dengan seperangkat komputer dengan metode Oneway ANOVA kemudian dilanjutkan dengan Post Hoc Test. Untuk mengetahui kebermaknaan interkelompok digunakan uji Paired Samples T Test.