

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Desain Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium dengan metode analitik prospektif.

B. Tempat dan Waktu

Penelitian dilakukan di laboratorium pusat studi pangan dan gizi Universitas Gajah Mada dan dilakukan pada 10 – 30 Agustus 2008.

C. Populasi dan Sampel

Subyek penelitian ini adalah tikus putih strain Wistar diperoleh dari LP3HP – LPPT UGM. Subyek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut :

1. Umur sekitar 2 bulan.
2. Memiliki berat badan antara 120 - 150 gram.
3. Berjenis kelamin betina.



Jumlah sampel dalam penelitian adalah 25 ekor, dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor subyek. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok kontrol negatif hanya diberi air putih dan makanan biasa (pelet) tanpa pemberian seduhan petai cina atau obat glibenklamid selama 7 hari.
2. Kelompok kontrol positif diberi obat glibenklamid 1 kali sehari selama 7 hari, masing-masing 0,1 mg/kgBB.
3. Kelompok sampel pertama diberi ekstrak air biji petai cina 70%, masing-masing 1 mg/kg.
4. Kelompok sampel kedua diberi ekstrak air biji petai cina 70%, masing-masing 1,5 mg/kg.
5. Kelompok sampel ketiga diberi ekstrak air biji petai cina 70%, masing-masing 2 mg/kg.

D. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

1. Kriteria Inklusi
 - a. Tikus putih strain Wistar berat 120-150 gram.
 - b. Umur 2 bulan.
 - c. Berjenis kelamin betina.
2. Kriteria eksklusi
Tidak ada.

E. Identifikasi Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. *Variabel bebas*, yang meliputi perlakuan coba, perlakuan control negative, perlakuan control positif.

b. *Variabel tergantung*, dalam hal ini adalah kadar glukosa darah.

c. *Variabel terkendali*, terdiri dari :

(1) Variabel subjek penelitian, meliputi :

(a) Umur: diatasi dengan pemilihan subyek penelitian yang memiliki usia sekitar 2 bulan.

(b) Jenis kelamin: pemilihan subyek dari jenis kelamin sama adalah betina.

(c) Berat badan: pemilihan subyek yang memiliki berat badan antara 120-150 gram.

(d) Lama perlakuan: lama penelitian sama tiap kelompok yaitu 7 hari

(2) Variabel perawatan

Jenis dan kualitas makanan dan minuman setiap hewan uji diusahakan sama.

(3) Variabel bahan coba

Infus ekstrak biji Petai Cina dibuat dalam satu kali proses pembuatan dan diberikan pada setiap hewan uji dengan cara yang sama.

2. Definisni Operasional

- a. Kadar gula darah puasa normal adalah 70-105 mg/dL. Pemeriksaan kadar gula darah menggunakan reagen KIT Glucose Dyasis metode GOD-PAP. Prinsipnya adalah gula diubah menjadi asam glukonik dan H₂O₂ oleh enzim oksidase. H₂O₂ yang terbentuk bereaksi dengan 4-Aminoantipyrin dan phenol dengan bantuan enzim hydrogen peroksidase membentuk chinonimine yang berwarna dan intensitasnya diukur secara fotometrik (Barham dan Trinder,1972).
- b. Ekstrak biji petai cina dibuat dalam tiga kadar ekstrak yaitu sebanyak 70% Ektrak dibuat dengan etanol. Masing-masing dibagi dalam 3 dosis yaitu 1 mg/kg, 1,5 mg/kg, 2 mg/kg.

F. Bahan dan Alat Penelitian

1. Bahan:

- a. Ekstrak biji lamtoro 70%.
- b. Alloxan.
- c. Antikoagulan EDTA.
- d. Glibenklamid.
- e. Darah.

2. Alat:

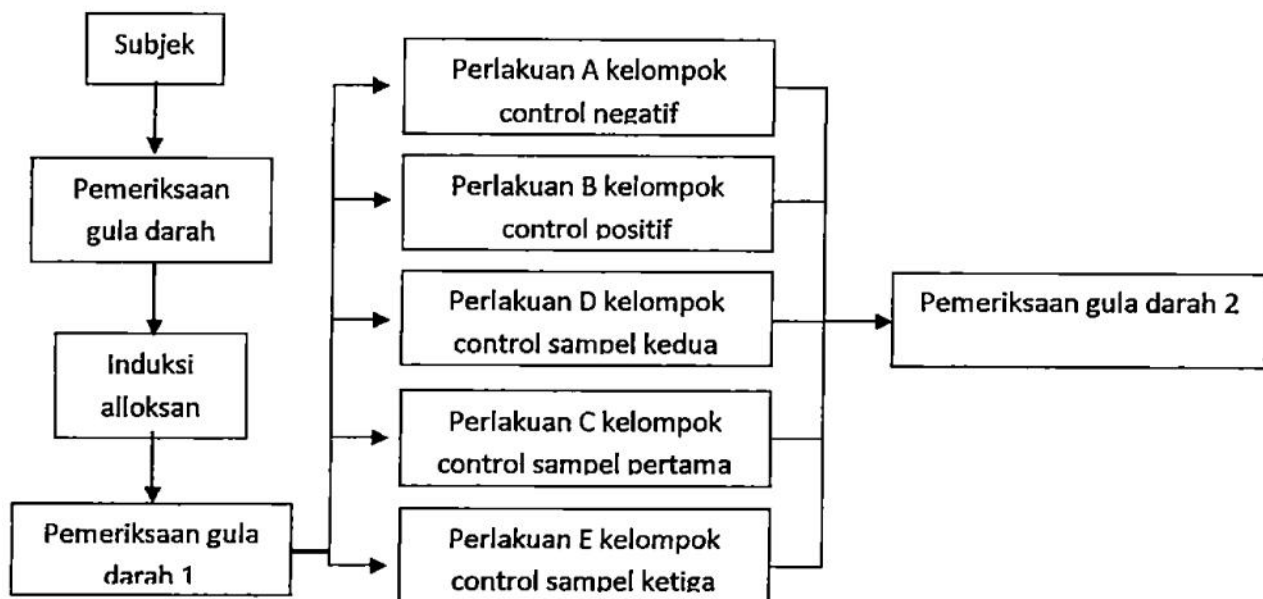
- a. Sutek.
- b. Tabung reaksi.
- c. Mikro pipet.
- d. Neraca analitik.
- e. Spektrofotometer mikrolab 300.
- f. Sentrifuge.
- g. Vortex.
- h. Sonde.
- i. Tisu.
- j. Gelas kaca.

G. Rancangan Penelitian

1. Hewan uji dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu, sekitar 2 - 3 hari.
2. Masing-masing tikus ditimbang berat badannya.
3. Sebelum pengambilan darah, hewan uji dipuasakan selama 8 - 12 jam.
4. Diambil darah awal dan diperiksa kadar gula darah untuk melihat kadar gula normal pada hewan uji.
5. Setelah 2 hari berikutnya, hewan uji diberi alloxan (bahan kimia untuk menaikkan kadar gula darah) dengan dosis 30 mg/kg. waktu kerja optimum alloxan adalah 48 jam.

6. Dibiarkan selama 48 jam untuk melihat reaksi yang telah ditimbulkan, kemudian diambil darah dari tikus sebanyak 1,5 ml. selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar gula darah pertama sebelum perlakuan.
7. Subyek pada kelompok kontrol negatif tidak diberi seduhan petai cina ataupun obat glibenclamide, tetapi hanya diberi air putih selama 7 hari. Pada kelompok kontrol positif diberi obat glibenklamid, dengan dosis 1 mg/kgBB selama 7 hari. Pada kelompok sampel pertama diberi ekstrak biji petai cina dengan dosis 1 mg/kg, kelompok sampel kedua diberi ekstrak biji petai cina dengan dosis 1,2 mg/kg, dan kelompok sampel ketiga diberi ekstrak biji petai cina dengan dosis 2 mg/kg masing-masing selama 7 hari.
8. Sebelum pengambilan darah kedua, subyek dipuaskan selama 8-12 jam, selanjutnya diambil darahnya sebanyak 1,5 ml pada masing-masing subyek.
9. Pemeriksaan kadar gula darah setelah tiap subyek diberi perlakuan.

Bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar dibawah ini



Gambar 3. Bagan Rencana Penelitian

Keterangan:

- Pemeriksaan kadar gula darah: pemeriksaan gula darah sebelum diinduksi alloxan.
- Pemeriksaan kadar gula darah 1 : pemeriksaan gula darah setelah diinduksi aloxan dan sebelum diberi perlakuan.
- Perlakuan A: pemberian air putih sebagai blangko pada kelompok kontrol negatif.
- Perlakuan B: pemberian obat glibenclamide pada kelompok kontrol positif.
- Perlakuan C: pemberian ekstrak biji petai cina dengan dosis 1mg/kg pada kelompok sampel pertama.

- Perlakuan D: pemberian ekstrak biji petai cina dengan dosis 1,5 mg/kg pada kelompok sampel kedua.
- Perlakuan E: pemberian kestrak biji petai cina dengan dosis 2 mg/kg pada kelompok sampel ketiga.

H. Analisis Data

Data hasil pengukuran dianalisis dengan uji ANOVA satu jalan kemudian dilanjutkan dengan *post hoc test* menggunakan SPSS versi 15 W.