

### **BAB III**

#### **METODOLOGI PENELITIAN**

##### **A. Desain Penelitian**

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

##### **B. Populasi dan Sample Penelitian**

Sample dalam penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih jantan galur *Sprague dawley* sebanyak 25 ekor dengan umur 2-3 bulan dengan berat 150-200 gram yang ditentukan 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 yaitu sebanyak 5.

Sample dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu 1 kelompok negatif, 1 kelompok positif dan 3 kelompok perlakuan dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih sehat. Tikus diperoleh dari

laboratorium gizi Universitas Gadjah Mada, sehingga hewan uji harus di adaptasikan terlebih dahulu.

1. Kriteria Inklusi

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

2. Kriteria Eksklusi

Tikus yang sakit pada masa perlakuan

**C. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium gizi Universitas Gadjah Mada.

Waktu penelitian dimulai pada bulan Maret.

**D. Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : Ekstrak Etanol Fraksi Kloroform Mengkudu (*Morinda citrifolia L*)
2. Variabel terikat : Kadar glukosa darah
3. Variabel terkontrol
  - a. Usia: Pemilihan subyek penelitian yang memiliki usia sekitar 2- 3 bulan
  - b. Berat badan: Pemilihan subyek yang memiliki berat badan 150-200 gram.
  - c. Waktu pengukuran dan lama perlakuan : melakukan pengukuran kadar glukosa darah pada waktu yang sama.

- d. Dosis perlakuan dan lama perlakuan : pemberian dosis perlakuan yang sama disesuaikan pada masing-masing kelompok tikus dan memberikan perlakuan selama 14 hari.
  - e. Penyesuaian lingkungan : melakukan adaptasi pada sample penelitian terlebih dahulu selama 3 hari.
4. Variabel tak terkontrol : Subyek diberi pakan secara *ad libitum*, jenis pakan yang diberi sama, namun jumlah yang dikonsumsi masing-masing sample tidak diobservasi.

#### **E. Definisi Operasional**

1. Diabetes melitus adalah salah satu di antara penyakit tidak menular yang akan meningkat jumlahnya di masa datang. Diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya.
2. Kadar glukosa darah adalah kadar glukosa yang diambil dari serum darah hewan uji setelah puasa selama 8-12jam.
3. Aloksan merupakan derivat pirimidin sederhana yang merusak sel beta pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Dalam percobaan ini tikus disuntikan aloksan sebanyak 120 mg/kgBB.
4. Ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu adalah buah mengkudu segar yang diiris dengan pisau, dikeringkan lalu dihaluskan dengan blender. Kemudian buah mengkudu dimaserasi dengan etanol 70% dan hasilnya di *vaccum rotary evaporator* sampai mendapatkan ekstrak yang kental kemudian ekstrak yang kental tadi di fraksi dengan menggunakan

kloroform. Kemudian hasilnya dipisahkan dari endapan lalu kentalkan pakai *vaccum rotary evaporator*.

#### **F. Alat dan Bahan Penelitian**

1. Alat Penelitian : Kandang tikus, timbangan tikus, timbangan, blender, sonde, pipet, pisau, alat pengukur glukosa darah, spuit
2. Bahan Penelitian : Tikus *Sprague Dawley*, aloksan, glibenklamid, ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu (*Morinda citrifolia L*)

#### **G. Pelaksanaan Penelitian**

1. Penyediaan dan persiapan hewan uji
  - a. Pemilihan 25 tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* yang sehat.
  - b. Aktimasi tikus sebelum perlakuan. Selama aktimasi tikus hanya diberi makan dan minum selama 3 hari.
  - c. Pemeriksaan kadar gula darah pertama kali yaitu sebelum pemberian aloksan. Sebelum diambil darahnya tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 8-10 jam.
  - d. Tikus putih jantan galur *Sprague Dawley* diinduksi aloksan 120 mg/kgBB.
  - e. Tikus dibiarkan selama 48 jam setelah diinduksi aloksan. Kemudian diukur kembali kadar glukosa darah kedua pada masing-masing subyek untuk mengetahui kadar glukosa darah post aloksan.
  - f. Tikus yang sudah diinduksi aloksan selanjutnya diberi ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu 14 hari kemudian diukur kadar glukosa darahnya.

## 2. Pengelompokan hewan uji

Hewan uji sebanyak 25 ekor dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur *Sprague Dawley*.

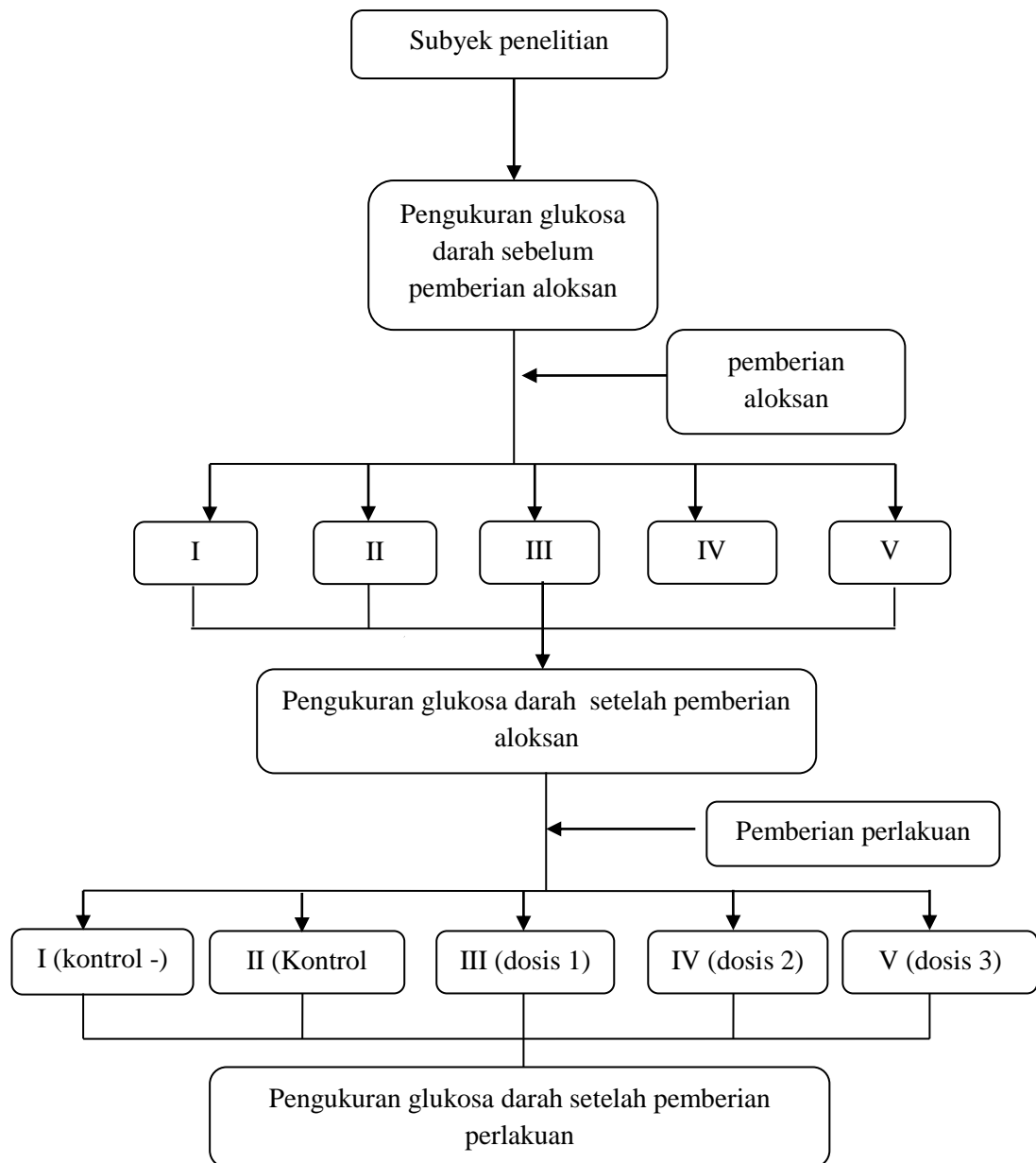
- a. Kelompok I : Kelompok tikus putih normal diinduksi aloksan 120mg/kgBB dan tanpa perlakuan.
- b. Kelompok II : Kelompok tikus putih yang diinduksi aloksan 120mg/kgBB dan diberi glibenklamid dengan dosis 0,09 mg/kgBB
- c. Kelompok III : Kelompok tikus putih yang diinduksi aloksan 120 mg/kgBB sehingga menjadi diabetik kemudian diberi ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu dengan dosis 1.4 mg/kgBB
- d. Kelompok IV : Kelompok tikus putih yang diinduksi aloksan 120 mg/kgBB sehingga menjadi diabetik, kemudian diberi ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu dengan dosis 2.8 mg/kgBB
- e. Kelompok V : Kelompok tikus putih yang diinduksi aloksan 120mg/grBB sehingga menjadi menjadi diabetik, kemudian diberi ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu dengan dosis 4.2 mg/grBB.

## 3. Penyediaan ekstrak fraksi kloroform mengkudu

Ekstrak etanol fraksi kloroform mengkudu adalah buah mengkudu segar yang diiris dengan pisau, dikeringkan lalu dihaluskan dengan blender. Kemudian buah mengkudu dimaserasi dengan etanol 70% dan hasilnya di *vaccum rotary evaporator* sampai mendapatkan ekstrak yang kental kemudian ekstrak yang kental tadi difraksi dengan menggunakan

kloroform. Kemudian hasilnya dipisahkan dari endapan lalu kentalkan pakai *vaccum rotary evaporator*.

#### 4. Bagan Penelitian



Gambar 2. Bagan Penelitian

## H. Analisis Data

Skala pengukuran variabel penelitian ini adalah skala rasio yaitu rerata kadar glukosa dengan jumlah kelompok lebih dari 2 dan tidak berpasangan, uji hipotesis pilihan menggunakan uji statistik *Oneway Anova* bila distribusi data normal. Apabila distribusi data tidak normal uji statistik menggunakan uji *Kruskal Wallis* dilanjutkan *Mann-Whitney*.