

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental murni laboratorium dengan rancangan penelitian *pretest-posttest control group design*.

B. Subyek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus putih *rattus norvegicus*, jantan, umur 2 bulan, berat rata-rata 200 gram yang diperoleh dari Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada.

Jumlah sampel penelitian adalah 25 ekor tikus putih, yang dibagi dalam 5 kelompok yaitu;

1. Kelompok kontrol negatif: hewan uji yang diberi makanan normal dan air putih saja.
2. Kelompok kontrol positif: hewan uji yang telah diberi diet tinggi kolesterol sehingga mengalami hiperkolesterol.
3. Kelompok uji kadar I: hewan uji yang diberi diet tinggi kolesterol sehingga mengalami hiperkolesterol kemudian diberi kombinasi jus biji pepaya 100 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari.
4. Kelompok uji kadar II: hewan uji yang diberi diet tinggi kolesterol sehingga mengalami hiperkolesterol kemudian diberi kombinasi jus biji pepaya 200 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70 mg/kbbb/hari.

5. Kelompok uji kadar III: hewan uji yang diberi diet tinggi kolesterol sehingga mengalami hiperkolesterol kemudian diberi kombinasi jus biji pepaya 400 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70mg/kbbb/hari.

Rumus Federer yang digunakan adalah $(t-1)(n-1) \geq 15$, dimana

T = jumlah kelompok

N = jumlah sampel tiap kelompok

Deketahui : $t = 5$

Ditanya : $n = ?$

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

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

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

$$n \geq 4,75$$

$$n=5$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka jumlah sampel minimal tiap kelompok adalah 5. Dari hasil tersebut jumlah sampel penelitian adalah 25 ekor tikus putih *Rattus Norvegicus*.

C. Tempat dan Waktu

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium PAU Universitas Gadjah Mada.

2. Waktu penelitian

Waktu penelitian dilakukan selama 1 bulan, mulai bulan Desember 2016.

D. Variabel dan Definisi Operasional

1. Variabel

Variabel dalam penelitian ini antara lain:

- a. Variabel bebas : kombinasi jus biji pepaya dan jus kunyit
- b. Variabel tergantung : kadar trigliserida
- c. Variabel terkontrol : strain, umur, jenis kelamin, dan berat badan tikus

2. Definisi Operasional

- a. Trigliserida: lemak darah yang dibawa oleh serum lipoprotein. Kadar normal trigliserida adalah <150 mg/dL.
- b. Tikus hipertrigliserida: tikus yang mengalami kenaikan kadar trigliserida setelah diberi diet tinggi trigliserida selama 7 hari. Diketahui setelah dilakukan pengukuran kadar trigliserida II, hipertrigliserida jika kadar trigliserida dalam darah lebih dari 200 mg/dL.
- c. Kombinasi jus biji pepaya dan jus kunyit: biji pepaya matang yang telah dihaluskan dan dihomogenisasikan kemudian disaring, serta kunyit di haluskan menggunakan blender.
- d. Pemberian kombinasi jus biji pepaya dan jus kunyit: jus biji pepaya dan jus kunyit sesuai dosis, diberikan selama 21 hari, 1x sehari setiap pagi pada kelompok uji.
- e. Diet tinggi kolesterol: pemberian kuning telur per oral sebanyak 2ml/hari selama 7 hari dan diberikan setiap hari.

- f. Perubahan kadar trigliserida: selisih nilai kadar trigliserida sebelum dan sesudah diberi kombinasi jus biji pepaya dan jus kunyit. Pemeriksaan dilakukan dengan menggunakan metode *Enzymatic Colorimetric Test "CHOD-PAP"*. Skala: rasio

E. Instrumen Penelitian

1. Alat penelitian

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini antara lain: 25 buah kandang tikus, alas dan tutup kandang, tempat minum dan tempat pakan tikus, sonde, sarung tangan, timbangan analitik, mikrohematokrit, rak tabung reaksi, tabng reaksi, 25 buah ependrof, *centrifuge*, label, pencatat waktu, vortex, pipet, blender, homogenizer, dan penyaring.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalma penelitian ini antara lain: jus biji pepaya dan jus kunyit berbagai dosis, pakan BR 2, kuning telur, air minum tikus (air putih), reagen KIT kolesterol dan akuades.

F. Tahapan Pelaksanaan Penelitian

Tahap-tahap yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi:

1. Persiapan Alat dan Bahan Penelitian

a. Pembuatan kombinasi jus biji pepaya dan jus kunyit

Biji buah pepaya matang dihaluskan dengan blender hingga halus kemudian ditimbang sesuai dengan kadar yang diinginkan. Setelah itu, ditambahkan akuades hingga mencapai volume 1 mL, kemudian

dihomogenisasikan menggunakan *homogenizer* dengan kecepatan 6612 rpm selama 2 menit.

kunyit yang telah dipilih di haluskan menggunakan blender hingga halus kemudian ditimbang sesuai kadar yang diinginkan setelah itu ditambahkan aquades hingga mencapai volume 1 mL, kemudian di hemogenizer dengan kecepatan 6612 rpm selama 2 menit lalu disaring.

2. Pelaksanaan Penelitian

a. Persiapan subyek Penelitian

Jumlah sampel penelitian adalah 25 ekor tikus kemudian dibagi menjadi 5 kelompok dengan metode random, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dan tiap kandang untuk 1 ekor tikus.

b. Penetapan Kadar

- 1) Kombinasi jus biji papaya dosis 1, 100 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari.

Untuk kadar tikus putih dengan berat badan 200 gram adalah

Biji papaya :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 100 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$$

Kunyit :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000} \times 70 \text{ mg} = 14 \text{ mg}$$

Jus biji papaya 20mg dilarutkan dengan aquades 1 mL dan kunyit 14mg dilarutkan dengan aquades sampai 1 mL yang diberikan peroral pada tikus.

- 2) Kombinasi jus biji pepaya dosis II 200 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari.

Untuk kadar tikus dengan berat badan 200 gram adalah

Biji pepaya :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$$

Kunyit :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000} \times 70 \text{ mg} = 14 \text{ mg}$$

Jus biji pepaya 40mg dilarutkan dengan aquades 1 mL dan kunyit 14mg dilarutkan dengan aquades sampai 1 mL yang diberikan peroral pada tikus.

- 3) Kombinasi jus biji pepaya kadar III 400 mg/kgbb/hari dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari.

Untuk kadar tikus dengan berat badan 200 gram adalah

Biji pepaya :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 400 \text{ mg} = 80 \text{ mg}$$

Kunyit :

$$\frac{200 \text{ g}}{1000} \times 70 \text{ mg} = 14 \text{ mg}$$

Jus biji pepaya 80mg dilarutkan dengan aquades 1 mL dan kunyit 14mg dilarutkan dengan aquades sampai 1 mL yang diberikan peroral pada tikus.

c. Perlakuan Hewan Uji

- 1) Kandang tikus yang bersih dipersiapkan dan diberi label terlebih dahulu, satu kandang untuk satu ekor tikus,
- 2) Dua puluh lima ekor tikus putih *rattus norvegicus* ditimbang dan dicatat berat badannya, selanjutnya dibagi menjadi lima kelompok, setiap kelompok terdiri dari lima ekor tikus,
- 3) Tikus diadaptasikan terhadap lingkungan selama 2 hari kemudian tiap kelompok diambil 2 ekor tikus untuk dilakukan pemeriksaan darah I,
- 4) Masing-masing kelompok tikus diberi diet tinggi kolesterol setiap hari selama 7 hari dan pakan 200 g BR2 serta satu botol air minum per hari,
- 5) Semua tikus dilakukan pemeriksaan darah II untuk mengetahui tikus sudah mengalami hiperkolesterol,
- 6) Pakan dan air minum diganti setiap hari, kandang dibersihkan setiap hari agar hewan uji tetap kondisi sehat,
- 7) Kelompok tikus yang telah mengalami hiperkolesterol mendapat perlakuan sebagai berikut:
 - a) Kelompok kontrol positif diberipakan BR2 20mg serta air minum setiap hari selama 30 hari,
 - b) Kelompok uji I mendapat 20 g pakan BR 2, air minum, jus biji pepaya kadar I dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari setiap hari selama 30 hari,

- c) Kelompok uji II mendapat 20 g pakan BR2, air minum, jus biji pepaya kadar II dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari setiap hari selama 30 hari,
 - d) Kelompok uji III mendapat 20 g pakan BR2, minum, jus biji pepaya kadar III dan jus kunyit 70 mg/kgbb/hari setiap hari selama 30 hari,
- 8) Semua tikus ditimbang dan dicatat berat badannya pada saat sebelum adaptasi, dan pemeriksaan darah I,II, dan III.

d. Pengamatan

Setelah dilakukan perlakuan selama 21 hari, maka tiap obyek penelitian dilakukan pemeriksaan darah III. Pengambilan sampel darah tikus dilakukan dengan memasukkan mikrohematokrit ke bagian medial dari mata (sinus orbitalis) tikus. Darah yang keluar ditampung dalam ependorf. Darah tersebut diambil serumnya. Pengambilan serum dilakukan kurang lebih 30 menit sampai 1 jam setelah pengambilan darah. Langkah-langkah pengambilan serum sebagai berikut:

- 1) Darah disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit
- 2) Cairan bening bagian atas (serum) diambil dan dipindahkan ke dalam tabung baru.

Serum tersebut diperiksa kadarkolesterol menggunakan metode *Enzymatic Colorimetric Test "CHOD-PAP"*. Tahap-tahap yang dikerjakan untuk masing-masing pemeriksaan kolesterol meliputi:

- 1) Pengambilan serum 10 μL
- 2) Ditambahkan reagen kolesterol 1000 μL
- 3) Dicampur dan diinkubasi pada suhu kamar ($20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$) selama 20 menit
- 4) Diukur absorbansinya pada $\lambda 546$ mikrolab 300
- 5) Diukur absorbansi Standar 200 mg/dL dan absorbansi blanko selama 45 menit,
- 6) Dilakukan perhitungan

$$\text{kadar kolester} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi standar}} \times \text{konsentrasi standar}$$

Gambar 3. Rumus Kadar kolesterol.

Konsentrasi standar = 20mg/dL

G. Analisis Data

Analisis data dilakkan dengan perangkat komputer dengan uji varians satu jalan (One Way Anova) yang dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*.