

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

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

#### B. Tempat dan Waktu penelitian

##### 1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium gizi dan pangan PAU UGM.

##### 2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan November 2008

#### C. Subyek Penelitian

Subyek Penelitian ini adalah tikus putih (Strain Wistar) yang memiliki kriteria antara lain :

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

Jumlah sampel penelitian adalah 15 ekor, dibagi menjadi 3 kelompok dengan metode random, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor subyek.

Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok kontrol negatif, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB iv) sehingga menjadi diabetik.

2. Kelompok kontrol positif, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB iv) sehingga menjadi diabetik dan diberi obat glibenklamid 1 kali sehari selama 10 hari, masing-masing 0,1 mg/200gr BB.
3. Kelompok uji, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB iv) 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 75 mg/200gr BB. Pemberian secara oral pada masing-masing subyek.

##### 2. Variabel Tergantung

Kadar kolesterol dalam darah masing-masing subyek.

##### 3. Variabel Terkendali

- a. Usia : dengan pemilihan subyek penelitian yang memiliki usia sekitar 2 bulan.
- b. Jenis kelamin : dengan pemilihan subyek dari jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
- c. Berat badan : dengan pemilihan subyek yang memiliki berat badan  $\pm 200$  gram.

### 1. Definisi Operasional

- a. Bawang putih (*Allium sativum* L.) dan sirih (*Piper betle* L.) yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman segar yang diperoleh dari pasar. Setiap kali pemberian sebanyak 0,65 ml.
- b. Kadar kolesterol total darah adalah kadar kolesterol yang diperoleh dari darah subyek penelitian setelah dipuasakan selama 8-12 jam.

### E. Instrumen Penelitian

Bahan-bahan dan alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar kolesterol total adalah :

#### 1. Bahan

Bahan yang digunakan yaitu, larutan Reagen KIT total kolesterol, alloxan, antikoagulan EDTA, glibenklamid, 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).

### F. Cara Kerja

1. Sampel penelitian 15 ekor tikus putih jantan menjadi 3 kelompok masing-masing 5 ekor.
2. Hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam sebelum pengambilan darah.

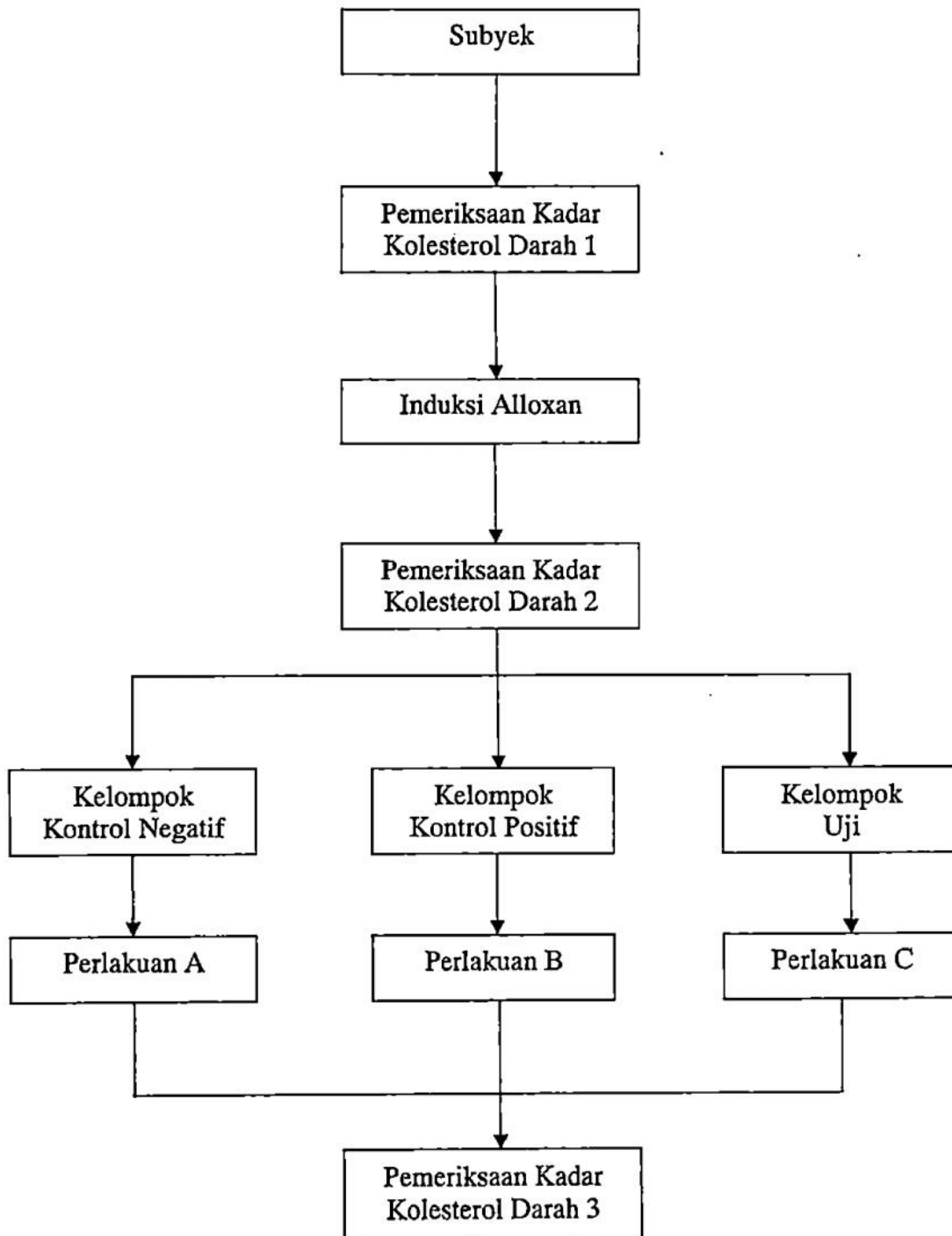
3. Kemudian diambil darah awal dan diperiksa kadar kolesterol total darah untuk melihat kadar kolesterol total normal pada hewan uji sebanyak 1,5 ml.
4. Setelah itu, hewan uji diberi alloxan (untuk menaikkan kadar glukosa darah)
5. Supaya dapat dilihat reaksinya, dibiarkan selama 48 jam dan dipuasakan selama 8-12 jam, lalu diambil darah tikus putih strain wistar sebanyak 1,5 ml. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total darah.
6. Subyek pada kelompok sampel diberi campuran bawang putih (*Allium sativum* L.) dan Sirih (*piper betle* L.), masing-masing selama 10 hari. Subyek pada kelompok kontrol positif diberi obat glikenklamid, masing-masing 0,1 mg/200gr BB. Pada kelompok kontrol negatif tidak diberi campuran Bawang putih (*Allium sativum* L.) dan Sirih (*Piper betle* L.) maupun obat glibenklamide tetapi hanya diberi aquades.
7. Pemeriksaan kadar kolesterol total darah setelah tiap subyek diberi perlakuan, hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam.
8. Pengambilan darah ke-3 sebanyak 1,5 ml tiap hewan uji.
9. Dilanjutkan pemeriksaan kadar kolesterol tiap subyek yang diberi perlakuan.

#### **G. Penetapan Kadar kolesterol Darah**

Kadar kolesterol darah ditentukan dengan menggunakan reaksi hidrolisis dan oksidasi enzimatik. Quinonimine sebagai indikator kolorimetrik dihasilkan

dari reaksi antara 4-aminoantipirin dan fenol oleh hydrogen peroksida oleh karena pengaruh aksi katalitik dari peroksidase.

#### H. Bagan Penelitian



Gambar 3. Bagan Rancangan Penelitian.

Keterangan :

- Pemeriksaan kadar kolesterol total darah 1 : Pemeriksaan kadar kolesterol total darah sebelum diinduksi alloxan.
- Pemeriksaan kadar kolesterol total darah 2 : Pemeriksaan kadar kolesterol total darah setelah diinduksi alloxan dan sebelum diberi perlakuan.
- Pemeriksaan kadar kolesterol total darah 3 : Pemeriksaan kadar kolesterol total darah setelah subyek diberi perlakuan.
- Perlakuan A : Pemberian aquades sebagai blangko pada kelompok kontrol negatif.
- Perlakuan B : Pemberian obat glibenklamid pada kelompok kontrol positif.
- Perlakuan C : Pemberian campuran bawang putih (*Allium sativum* L.) dan sirih (*Piper betle* L.) pada kelompok uji.

#### I. Analisis Data

Data dianalisis menggunakan seperangkat komputer, dengan rancangan uji ANNOVA satu jalan kemudian dilanjutkan dengan *paired t test*.