

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

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

#### B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Gizi dan Pangan PAU-UGM.

Waktu penelitian pada 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:

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 glibenklamide 1 kali sehari selama 10 hari, masing-masing 0,1 mg.

3. Kelompok uji, hewan uji diinduksi alloxan (125 mg/kg BB iv) sehingga menjadi diabetik dan masing-masing diberi campuran bawang putih (180 mg) dan sirih (15 mg) 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 setiap hari secara oral (sonde) pada masing-masing subyek.

##### **2. Variabel Tergantung**

Kadar glukosa dalam darah masing-masing subyek.

##### **3. Variabel Terkendali**

- 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 dimasukkan dalam 2 ml air yang telah mendidih, selama 10 menit. Pemberian secara oral (sonde) bersama-sama dengan bawang putih.

3. Kadar glukosa darah adalah kadar glukosa yang diambil dari serum darah hewan uji setelah puasa selama 8-12 jam.
4. Alloxan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang jika diberikan pada hewan percobaan yang cenderung merusak sel pulau pankreas, dan menimbulkan diabetes alloxan
5. Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu di antara 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**

a. Larutan Reagen KIT Glucose DIASYS yang terdiri dari:

Phosphare Buffer Ph 7,5	250 mmol/l
Phenol	5 mmol/l
4-Aminoantipyrine	0,5 MMOL/L
Glucose Oxidase	>15 KU/l
Peroxidase	>1 KU/l

b. Alloxan

c. Antikoagulan EDTA

d. Glibenklamide

### e. Darah

#### 2. Alat

Alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar glukosa darah adalah: neraca analitik, blender, kain saring, tabung, saringan, sonde, pipet, sentrifuse kecil Hettich EBA III, eppendorf, spektrofotometer (UV-1202 Shimadzu), gelas kaca.

#### G. Cara Kerja

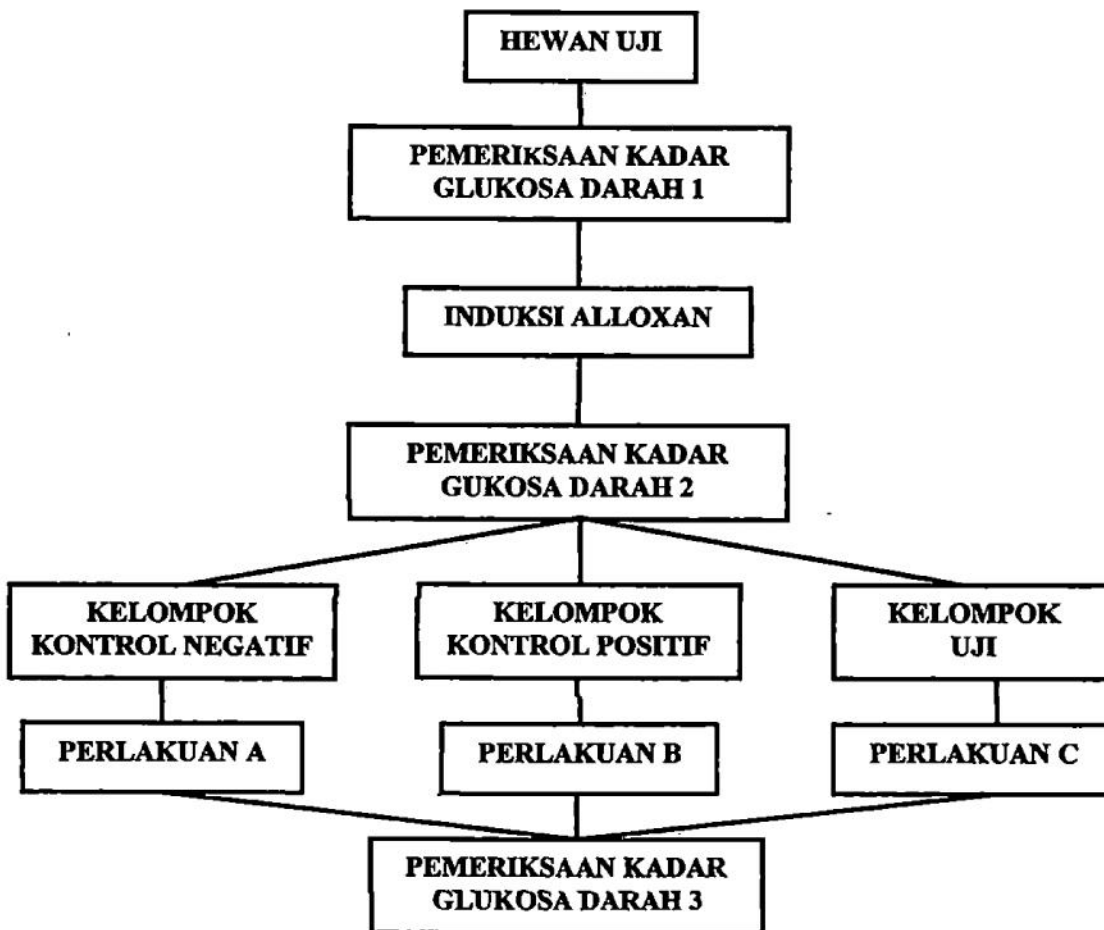
1. Persiapan
2. Tiap-tiap tikus ditimbang berat badan
3. Sebelum pemeriksaan kadar glukosa darah<sup>1</sup>, hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam.
4. Diambil darah dan diperiksa kadar glukosa darah..
5. Selanjutnya hewan uji diberi alloxan sehingga menjadi diabetik
6. Untuk melihat reaksi yang telah ditimbulkan, dibiarkan selama 48 jam, kemudian diambil darah dari hewan uji sebanyak 1,5 ml. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah<sup>2</sup>.
7. Subyek pada kelompok uji diberi campuran bawang putih (180 mg) dan sirih (15 mg) 1 kali sehari selama 10 hari pada masing-masing subyek. Subjek pada kelompok kontrol positif diberi glibenklamide 1 kali sehari selama 10 hari, masing-masing 0,1 mg. Kelompok kontrol negatif tidak diberi campuran ekstrak bawang putih dan sirih ataupun glibenklamide, tetapi hanya diberi air putih.
8. Sebelum pemeriksaan kadar glukosa darah<sup>3</sup>, hewan uji dipuasakan selama 8-12 jam.

9. Pengambilan darah 3 sebanyak 1,5 ml tiap hewan uji.
10. Pemeriksaan kadar glukosa darah tiap subyek yang diberi perlakuan.

Metode yang digunakan adalah colometric test dengan menggunakan spektrofotometer. Pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan reagen KIT Glucose DYASIS metode GOD-PAP.

#### H. Bagan Penelitian

Bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Bagan Rancangan Penelitian

**Keterangan:**

- Pemeriksaan kadar glukosa kadar 1: Pemeriksaan kadar glukosa darah sebelum diinduksi alloxan.
- Pemeriksaan kadar glukosa darah 2: Pemeriksaan kadar glukosa darah setelah diinduksi alloxan dan sebelum diberi perlakuan.
- Pemeriksaan kadar glukosa darah 3: Pemeriksaan kadar glukosa darah setelah subyek diberi perlakuan.
- Perlakuan A: Pemberian aquades pada tikus induksi alloxan pada kelompok kontrol negatif.
- Perlakuan B: Pemberian obat glibenklamide setelah tikus diinduksi alloxan pada kontrol positif.
- Perlakuan C: Pemberian campuran bawang putih dan sirih pada kelompok uji setelah tikus diinduksi alloxan.

**I. Analisis Data**

Data hasil pengukuran dianalisis dengan seperangkat komputer dengan metode One Way ANOVA kemudian dilanjutkan dengan Post Hoc Test. Untuk mengetahui kebermaknaan interkelompok digunakan uji Paired Sample T-Test.