

BAB III

METODE PENELITIAN

A. JENIS PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian *quasi experiment* dengan rancangan *pre and post test with control group design*.

B. POPULASI DAN SAMPEL PENELITIAN

Sampel penelitian ini menggunakan tikus *Rattus norvegicus* dengan berat badan rata-rata 214 gram. Penentuan jumlah sampel ini didasarkan pada rumus Federer $(n-1) \times (p-1) \geq 15$ dengan jumlah 4 kelompok sehingga masing-masing kelompok dihitung dengan rumus seperti berikut :

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

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

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan jumlah sampel yang diperlukan sebanyak 6 ekor *Rattus norvegicus* untuk setiap kelompok, jadi total sampel sebanyak 24 ekor, dimana kelompok I merupakan kontrol negatif, diberikan pakan dan minuman standar, dibuat hiperglikemia namun tidak diberi intervensi apapun (OO); kelompok II merupakan kontrol positif yang dibuat hiperglikemia, dan

diberikan obat standar berupa glibenklamid (OG); kelompok III merupakan kelompok yang dibuat hiperglikemia, dan diberikan intervensi berupa seduhan *Smallanthus sonchifolia* dengan satu kali pemberian 1 x 24 jam (OS), dan kelompok IV merupakan kelompok yang dibuat hiperglikemia, dan diberikan intervensi berupa seduhan *Smallanthus sonchifolia* dengan dua kali pemberian 2 x 24 jam (OSS).

C. LOKASI DAN WAKTU PENELITIAN

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2014

D. VARIABEL PENELITIAN

1. Variabel bebas pada penelitian ini adalah daun insulin (*Smallanthus sonchifolius*).
2. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada *Rattus norvegicus* .

E. DEFINISI OPERASIONAL

1. Variabel

a. Bebas.

Pemberian *Smallanthus sonchifolia* pada penelitian ini diambil dari bagian daun yang sudah kering sebanyak 2 lembar, kemudian diseduh dengan air panas 200 cc selama 5-10 menit setelah itu disaring. Hal ini berdasarkan dosis lazim dimasyarakat dalam penggunaan *Smallanthus sonchifolia*. Konversi dosis dari manusia ke *Rattus norvegicus* dengan berat 200 g adalah 0,0018. Dosis untuk *Rattus norvegicus* dengan berat 214 g adalah $(214 \text{ g}/200 \text{ g}) \times 0,018 \times 200 \text{ cc} = 3,852 \text{ cc}$. Karna volume lambung *Rattus norvegicus* adalah 5 cc maka peneliti memberikan 3 cc seduhan *Smallanthus sonchifolia* menggunakan sonde secara oral dengan pertimbangan menyisakan 2 cc untuk makan dan minum *Rattus norvegicus*. Pemberian seduhan *Smallanthus sonchifolia* pada penelitian ini dibagi menjadi dua yakni satu kali pemberian sebanyak 3 cc setiap 24 jam selama 3 hari pada kelompok OS dan pemberian sebanyak 3 cc setiap 12 jam selama 3 hari pada kelompok OSS. Skala datanya yakni rasio.

b. Terikat.

Kadar glukosa darah pada *Rattus norvegicus* merupakan hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah dipuasakan selama 8-12 jam. *Rattus norvegicus* pada penelitian ini akan dibuat mengalami hiperglikemia setelah diinduksi *Alloxan*. Berdasarkan pada penelitian lain

dosis *Alloxan* yang diberikan pada *Rattus norvegicus* yaitu 130 mg/kgBB (Nugroho, 2006). Dosis untuk *Rattus norvegicus* dengan berat 214 g adalah $(214 \text{ g} / 1000 \text{ g}) \times 130 \text{ mg} = 27,82 \text{ mg}$. *Rattus norvegicus* dikatakan mengalami hiperglikemia apabila kadar gula darahnya $>110 \text{ mg/dl}$ (Rachael, 2010). Pengecekan kadar glukosa darah dilakukan menggunakan alat uji gula darah Easy Touch GCU, model : ET-301F dengan mengambil darah dari ekor sampel diteteskan pada strip glukosa Dr, kemudian interpretasi angka yang muncul pada alat. Pengecekan kadar glukosa darah dilakukan sebelum induksi *Alloxan*, setelah induksi *Alloxan* dan setelah perlakuan (intervensi pemberian *Smilax chinensis*). Skala data DM yakni rasio.

F. KRITERIAN INKLUSI & EKSLUSI

1. Kriteria Inklusi

- a. *Rattus norvegicus* jantan berumur 3 bulan
- b. Berat badan rata-rata 214 gram
- c. Kondisi badan sehat (aktif dan tidak cacat)

2. Kriteria eksklusi

- a. *Rattus norvegicus* mati selama penelitian berlangsung.
- b. Tidak mengalami hiperglikemia ($<110 \text{ mg/dl}$) setelah diinduksi alloxan

G. INSTRUMEN PENELITIAN

1. Alat Penelitian

- a. Timbangan analitik HWN type Esj 210-48.

Fungsi : digunakan untuk menimbang jumlah obat dalam satuan gram & milligram.

- b. Timbangan gram, merk Toledo

Fungsi : untuk menimbang BB tikus

- c. Gunting jaringan

Fungsi : untuk memotong ujung ekor pada tikus

- d. Holder tikus

Fungsi : alat fiksasi untuk mengambil darah tikus

- e. Pipet

Fungsi : digunakan untuk meneteskan reagen cair.

- f. Gelas erlenmeyer

Fungsi : digunakan untuk menampung larutan dan mencampurkan bahan penelitian.

- g. Alat uji gula (Glukometer) darah Easy Touch GCU, Model : ET-301F

Fungsi : digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah

- h. Gelas ukur

Fungsi : untuk menampung dan mengukur volume larutan

- i. Kandang tikus

Fungsi : sebagai tempat untuk menampung sampel penelitian

- j. Botol minuman tikus

Fungsi : sebagai wadah untuk minum *Rattus norvegicus*

k. Sarung tangan

Fungsi : digunakan untuk melindungi tangan pada saat melakukan penelitian

l. Strip glukotest

Fungsi : media untuk menampung darah sampel yang kemudian diukur menggunakan glukometer

m. Spuid 3 ml dan jarum suntik runcing

Fungsi : untuk menginduksi *Alloxan* melalui intraperitoneal

n. Sonde oral

Fungsi : untuk memasukan cairan *Smallanthus sonchifolia* dan glibenklamid

o. Saringan

Fungsi : untuk menyaring *Smallanthus sonchifolia* yang telah diseduh

p. Kapas

Fungsi : untuk membersihkan *Rattus norvegicus* setelah pengambilan darah

2. Bahan Penelitian

a. *Smallanthus sonchifolia*

b. *Rattus norvegicus* jantan

c. Pakan *Rattus norvegicus*

d. Alkohol 70%

e. *Alloxan tetrahidrat*

f. Aquadest

- g. Glibenklamid 5 mg Generik
- h. Air panas
- i. Aquabidest steril

H. CARA PENGUMPULAN DATA

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu :

1. Tahap pertama

Pada tahap ini penelitian mengajukan surat permohonan izin untuk melakukan penelitian terkait.

2. Tahap kedua

Pada tahap ini peneliti menentukan subjek yang diteliti. Subjek penelitian adalah *Rattus norvegicus*. Subjek diaklimatisasi dalam kandang selama 3 hari dan diberi makan dan minuman standar. Pakan yang digunakan adalah AD 2,20 gram/ekor dengan pemberian satu kali per hari. Setelah itu dipuaskan selama 8-12 jam, kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. *Rattus norvegicus* tetap diberi makan dan minum seperti biasa. Setelah itu, semua kelompok diinduksi *Alloxan* dosis tunggal 27,82 mg/ekor secara intraperitoneal. *Rattus norvegicus* dibiarkan makan dan minum seperti biasa selama 72 jam untuk membiarkan *Alloxan* bekerja. Kadar glukosa darah masing-masing *Rattus norvegicus* diukur kembali setelah dipuaskan selama 8-12 jam yaitu pada hari ke 4 setelah induksi *Alloxan*. Jika kadar glukosa darah *Rattus norvegicus* belum meningkat atau belum mengalami hiperglikemi, maka *Rattus norvegicus*

tetap diberi makan dan minuman standar tanpa diberikan penambahan *Alloxan* selama 24 - 72 jam untuk membiarkan *Alloxan* bekerja kembali

3. Tahap ketiga

Setelah dilakukan pengukuran kadar glukosa darah yang kedua yaitu pada hari ke 8, maka hewan uji diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing selama 3 hari.

- a. *Daun Smalanthus sonchifolia* yang kering dibuat seperti teh dengan menggunakan air panas, dimana setiap ekor *Rattus norvegicus* pada kelompok OS diberikan 3 cc setiap 24 jam selama 3 hari dan pada kelompok OSS diberikan 3 cc setiap 12 jam selama 3 hari secara oral.
- b. Glibenklamid yang diberikan adalah tablet yakni dihaluskan sebelum diberikan secara oral pada kelompok OG dengan dosis 0,1 mg per ekor setiap 24 jam dalam 3 hari..

4. Tahap keempat melakukan *posttest* yakni mengukur kembali kadar gula darah *Rattus norvegicus* setelah diberikan intervensi.

5. Tahap kelima

Melakukan pengolahan data yang didapatkan dari hasil *pretest* dan *posttest*.

I. ANALISA DATA

Setelah data diperoleh dari hasil *pretest* dan *posttest*, proses selanjutnya adalah analisa data. Tahap pertama analisis data penelitian ini adalah menguji normalitas data penelitian. Data berdistribusi normal ($>0,05$) maka digunakan uji parametrik yakni *One Way Anova* untuk mengetahui adanya perbedaan pada semua kelompok. Untuk mengetahui kelompok yang memiliki pengaruh paling signifikan maka digunakan uji *Post Hoc* (LSD).

J. ETIK PENELITIAN

Ridwan (2013) mengemukakan etika penelitian pada hewan. Pada penelitian kesehatan yang menggunakan hewan sebagai sampel uji coba juga harus menerapkan prinsip 3 R dalam penelitian, yakni *replacement*, *reduction*, dan *refinement*. *Replacement* ialah keperluan untuk memanfaatkan hewan percobaan sudah diperhitungkan dengan seksama, baik dari pengalaman terdahulu ataupun literatur untuk menjawab pertanyaan penelitian serta tidak dapat digantikan oleh makhluk hidup lain seperti sel atau biakan jaringan.

Replacement dibagi menjadi dua bagian, pertama adalah relatif yaitu mengganti hewan percobaan dengan memakai organ/jaringan hewan dari rumah potong, hewan dari ordo lebih rendah dan yang kedua adalah absolut yaitu mengganti hewan percobaan dengan kultur sel, jaringan, atau program komputer. *Reduction* dapat diartikan sebagai pemanfaatan hewan dalam penelitian sesedikit mungkin, namun tetap mendapatkan hasil yang optimal. *Refinement* ialah memperlakukan hewan uji secara manusiawi, memeliharanya dengan baik, serta meminimalisir perlakuan yang dapat menyakiti hewan dan

menjamin kesejahteraan hewan uji sampai akhir penelitian. Pada dasarnya prinsip *refinement* berarti membebaskan hewan uji dari beberapa kondisi.

Kondisi Pertama yaitu bebas dari rasa lapar dan haus, dengan memberikan makanan dan minuman yang sesuai baik jumlah dan komposisi nutrisi untuk kesehatannya. Makanan dan minuman memadai dari kualitas dapat dibuktikan melalui analisa *proximate* makanan, analisis mutu air minum, serta uji kontaminasi secara berkala. Analisis pakan hewan untuk mendapatkan komposisi pakan, menggunakan metode standar.

Kedua, hewan uji terbebas dari ketidaknyamanan, tersedianya lingkungan bersih dan yang paling sesuai dengan biologi hewan uji yang dipilih, dengan memperhatikan suhu, siklus cahaya, kelembaban lingkungan, ukuran kandang untuk kebebasan bergerak, seta kebiasaan hewan untuk mengelompok atau menyendiri. Selanjutnya hewan uji harus bebas dari nyeri dan penyakit dengan menjalankan program kesehatan, pencegahan, dan pemantauan, serta pengobatan terhadap hewan uji jika diperlukan. Penyakit pada hewan uji dapat diobati dengan catatan tidak mengganggu jalannya penelitian. Penggunaan *analgesia* dan *anesthesia* dapat dipilih jika diperlukan untuk meminimalisir rasa nyeri saat melakukan tindakan invasif.