

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Desain Penelitian

Model penelitian ini adalah eksperimental murni yang dilakukan di laboratorium dengan rancangan *pre test, post test dan controlled group design* terhadap hewan uji.

#### B. Populasi dan Sampel Penelitian

Subyek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Spargue Dawley*. subyek yang di teliti memiliki kriteria inklusi sebagai berikut:

1. Usia sekitar 2-4 bulan
2. Memiliki berat badan 150-250 gram
3. Berjenis kelamin jantan

Sampel didapat dari laboratorium PAU Pasca Sarjana Universitas Gadjadara. Jumlah subyek dalam penelitian ini adalah 25 ekor yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, masing masing kelompok terdiri dari 5 ekor subyek.

Besarnya sampel pada penelitian ini menggunakan rumus

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

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

$$r-1 \geq 15/4$$

$$r-1 \geq 3,75$$

$$r \geq 5$$

Keterangan :

t = Banyaknya kelompok

perlakuan

r = Jumlah replikasi

Masing masing kelompok akan di beri perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif (Na CMC 0,5%), hewan uji yang sudah diinduksi alloxan 80mg/kgBB sehingga menjadi diabetik di beri suspensi Na CMC 0,5% dengan dosis 2 ml/200grBB selama 14 hari.
2. Kelompok 2 sebagai kontrol positif, hewan uji yang sudah diinduksi alloxan 80mg/kgBB sehingga menjadi diabetik dan diberikan perlakuan glibenklamid 1 kali sehari selama 14 hari masing masing 0,09 mg/200grBB/hari/tikus
3. Kelompok 3 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgBB sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan ekstrak kulit *Garcinia mangostan* 1 kali sehari selama 14 hari masing masing 50 mg/kgBB/hari/tikus
4. Kelompok 4 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgBB sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan ekstrak kulit *Garcinia mangostan* 1 kali sehari selama 14 hari masing masing 100 mg/kgBB/hari/tikus
5. Kelompok 5 sebagai kelompok uji yang diinduksi alloxan 80mg/kgBB sehingga menjadi diabetik dan di berikan perlakuan ekstrak kulit *Garcinia mangostan* 1 kali sehari selama 14 hari masing masing 200 mg/kgBB/hari/tikus

### C. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas: pemberian ekstrak kulit *Garcinia mangostana* 1 kali sehari selama 14 hari dengan dosis masing-masing 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB,

200 mg/kgBB, pemberian gilbenklamid 1 kali sehari selama 14 hari dengan dosis 0,09 mg/200gBB/hari/tikus dan pemberian placebo (suspensi Na CMC 0,5% 2ml/200gBB).

2. Variabel terikat : kadar trigliserida darah

3. Variabel terkontrol :

- a. Subyek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Spargue Dawley (umur 2 bulan dan berat 150-250 gram).
- b. Faktor hormonal menggunakan tikus jantan agar tidak terpengaruh oleh siklus hormonal seperti menstruasi dan kehamilan yang akan mengganggu hasil penelitian dan proses pengambilannya menggunakan randomisasi.
- c. Kondisi pakan dan kandang sama.
- d. Waktu pengambilan sampel adalah sebelum diinduksi alloxan, 48 jam setelah diinduksi alloxan dan sesudah 14 hari perlakuan.
- e. Lama penelitian dan takaran sampel yang di uji adalah 14 hari dengan takaran sampel yang berbeda untuk masing masing obyek yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB ekstrak kulit *Garcinia mangostana*.

#### D. Definisi Operasional

1. Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*)

Ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) sampel kulit buah yang dipakai adalah kulit buah yang segar dan masak yang ditandai dengan warna merah merata dan konsistensi lebih lunak. Kulit buah

tersebut kemudian dianalisa lebih lanjut di Laboratorium Farmasetika Prodi Farmasi FKIK UMY. Pemberian ekstrak *Garcinia mangostana L* dilakukan setiap pagi 1 kali sehari dengan dosis masing masing 50mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB selama 14 hari. Cara pemberiannya dengan cara di sonde atau per-oral.

## 2. Trigliserida darah

Trigliserida darah adalah lemak yang mengandung tiga molekul asam lemak sehingga efisien untuk penyimpanan bentukan dari energi metabolik. Nilai normal kadar trigliserida darah adalah dibawah 150 mg/dl. Trigliserida darah ini di ambil setelah hewan ujin di puasakan terlebih dahulu selama 8-12 jam. Pengambilan sampel di lakukan 3 kali yaitu sebelum induksi alloxan, 48 jam setelah induksi alloxan dan setelah 14 hari pemberian perlakuan. Sampel glukosa darah puasa akan di ambil melalui vena oftalmika yang ada disinus orbitalis karena jumlahnya lebih banyak bila di bandingkan dengan vena lateralis diekor, selain itu pada vena lateralis mudah lisis sehingga akan menyulitkan pada saat pembacaan data.

## 3. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) diabetik alloxan

Tikus putih diabetic alloxan adalah tikus putih jantan galur *Spargue Dawley* yang diinduksi alloxan. Dikatakan diabetik bila glukosa plasma sewaktu tikus putih (*Rattus norvegicus*) > 200mg/dl atau kadar glukosa plasma puasanya >126 mg/dl.

### E. Instrumen Penelitian

#### 1. Bahan

Alloxan, aquades, glibenklamid, serum darah, larutan Na-CMC 0,5 % dan Etanol 70%.

#### 2. Alat

Neraca analitik, blender, kain saring, tabung, saringan, sonde, pipet, gelas kaca, spuit.

### F. Cara Pengumpulan Data

#### 1. Pembuatan ekstrak kulit *Garcinia mangostana*

Pembuatan ekstrak kulit *Garcinia mangostana* dilakukan di laboratorium *fito medicine*. Kulit *Garcinia mangostana* yang telah dikupas bersih, kemudian dipotong kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya, potongan kulit *Garcinia mangostana* digiling dan dijadikan serbuk simplisia. Serbuk kulit *Garcinia mangostana* disari dengan penyari etanol 70% menggunakan metode maserasi yaitu dengan merendam serbuk simplisia dalam etanol 70% hingga 2 cm dari permukaan serbuk simplisia selama 5 x 24 jam. Selama maserasi, sesekali serbuk diaduk agar penyarian sempurna. Selanjutnya, serbuk disaring dan diambil sarinya. Serbuk di *remaserasi* menggunakan penyari yang sama selama 3 hari. Filtrate diuapkan dengan *rotary evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kental hingga beratnya konstan.

## 2. Pengelompokan hewan uji

Sebanyak 25 ekor tikus ditimbang dan dibagi secara acak menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor, yaitu : kelompok I sebagai kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok II sebagai kontrol positif diberi Glibenklamid 0,09 mg/200grBB, kelompok III diberi ekstrak kulit *Garcinia mangostana* 50 mg/kgBB, kelompok IV diberi ekstrak kulit *Garcinia mangostana* 100 mg/kgBB, kelompok V diberi ekstrak kulit *Garcinia mangostana* 200 mg/kgBB. Setelah di bagi menjadi 5 kelompok hewan uji di adaptasi terlebih dahulu selama 3 hari.

## 3. Pengambilan sampel trigliserida darah awal

Pengambilan sampel trigliserida darah pertama di lakukan setelah 3 hari hewan uji di adaptasikan. Sebelum pengambilan darah hewan uji berpuasa selama 8-12 jam. Pengambilan sampel trigliserida darah awal ini di gunakan untuk melihat kadar trigliserida darah normal pada hewan uji sebanyak 1,5 ml.

## 4. Induksi Alloxan

Setelah pengambilan sampel trigliserida darah awal hewan uji di induksi Alloxan. Alloxan di suntikan pada subyek melalui intraperitoneal dengan dosis 80mg/kgBB tikus agar menderita diabetes mellitus. Alloxan dalam bentuk powder dilarutkan dalam aquades. Tiap 80mg Alloxan dilarutkan dalam 3 ml aquades. Alloxan di suntikan secara intraperitoneal pada tikus, dihitung dengan rumus :

$$\text{Dosis aloxan/hewan} = \frac{\text{berat hewan (g)}}{1000g} \times 80mg$$

$$\text{Pelarut (aquades) (ml)} = \frac{\text{berat hewan (g)}}{200\text{g}} \times 3\text{ml}$$

Untuk melihat reaksi yang telah ditimbulkan maka pengambilan sampel trigliserida darah berikutnya di lakukan setelah 48 jam pasca induksi allixan. Selanjutnya di lakukan pemeriksaan kadar glukosa darah sebagai sampel ke-1 sebelum perlakuan.

5. Pembuatan suspensi CMC 0,5 %

Suspensi CMC dibuat dengan melarutkan CMC 0,5 g ke dalam aquades hangat 100 ml. Penggunaan suspensi Na CMC digunakan setelah dingin.

6. Pemberian placebo (Na CMC 0,5%)

Kelompok I dari hewan uji yang telah diinduksi alloxan diberikan suspensi Na CMC 0,5% sebanyak 2ml/200gBB. Pemberian placebo ini dilakukan 1 kali sehari selama 14 hari sebanyak kontrol negatif.

7. Pemberian glibenklamid

Kelompok II dari hewan uji yang diinduksi alloxan diberi glibenklamid dengan dosis 0,09mg/200grBB, dan dilarutkan dengan suspensi Na-CMC 0,5% 2ml/200grBB. Pemberian glibenklamid ini 1 kali selama 14 hari. Dosis glibenklamid didapat dari hasil konversi dari dosis manusia yaitu 5mg/kgBB.

Hasil konversi dosis glibenklamid manusia pada hewan uji  
(mg/200grBB) = = 0,09mg/200grBB

$$\text{Dosis Gilbenklamid per ekor} = \frac{\text{berat hewan(g)}}{200\text{g}} \times 0,09 \text{ mg}$$

#### 8. Pemberian perlakuan ekstrak kulit *Garcinia mangostana*

Kelompok III, IV, dan V dari hewan uji yang di induksi alloxan di beri ekstrak kulit *Garcinia mangostana* masing masing dengan dosis 50mg /kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB selama 14 hari. Sebelum di berikan kepada hewan uji ekstrak kulit *Garcinia mangostana* di encerkan dulu dengan aquades hingga volumenya mencapai 3ml.

$$\text{Dosis ekstrak kelompok III (mg)} = \frac{\text{berat badan (g)}}{1000 \text{ g}} \times 50 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis ekstrak kelompok IV (mg)} = \frac{\text{berat badan (g)}}{1000 \text{ g}} \times 100 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis ekstrak kelompok V (mg)} = \frac{\text{berat badan (g)}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ mg}$$

Pengenceran = vol pemberian – dosis ekstrak = 3ml – dosis ekstrak

#### 9. Pengambilan data

Pengambilan sampel darah dilakukan 3 kali. Sampel darah yang akan di periksa adalah trigliserida. Waktu pengambilan sampel adalah sebelum hewan uji diinduksi aloxan, 48 jam setelah diinduksi aloxan, dan setelah 14 hari pemberian perlakuan.

#### G. Uji Validitas dan Realibilitas

Kesahlian (validitas) dan keterandalan (realibilitas) pada penelitian ini di tentukan oleh ketepatan alat ukur, ketepatan cara pengukuran dan dosis

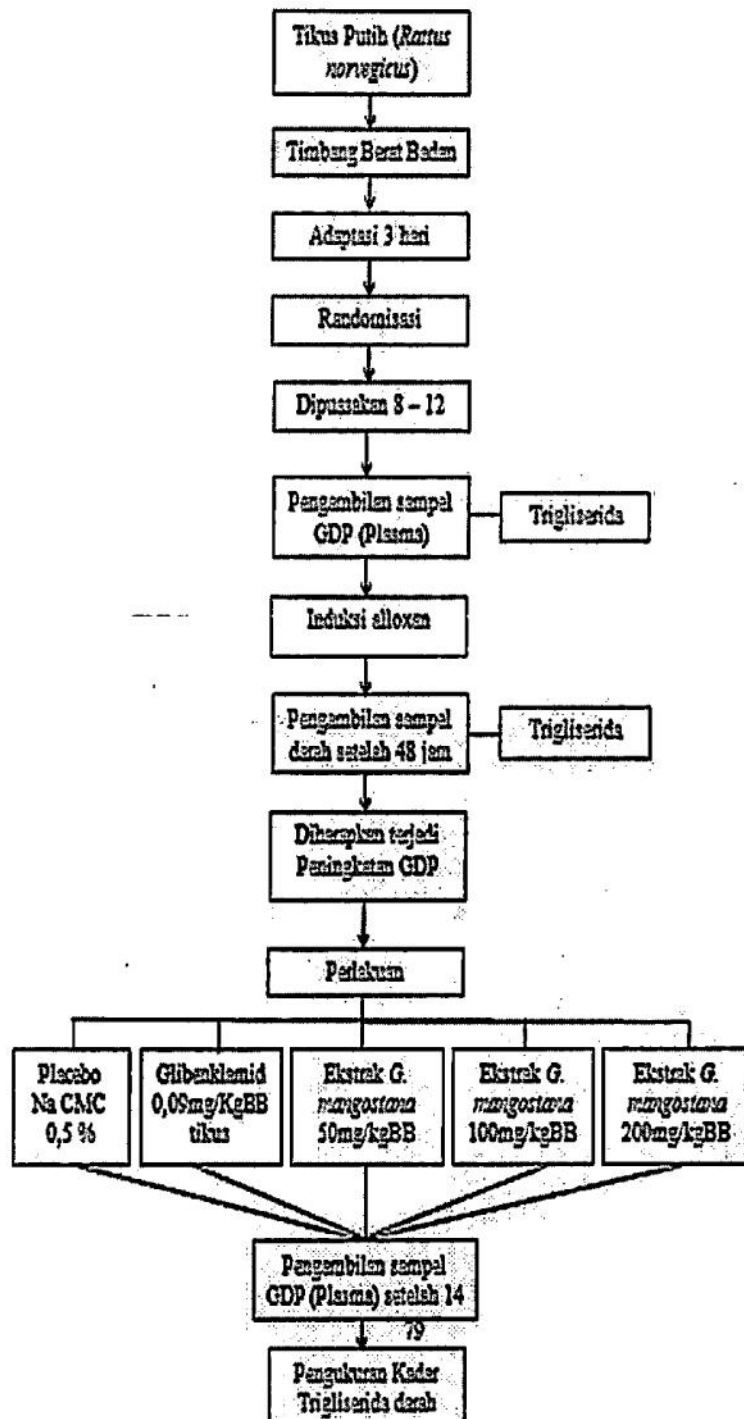


bahan coba serta obat yang tepat. Serta menggunakan metode Analisa Bivariat untuk melihat hubungan dua variabel, yaitu dengan menggunakan uji *Chi Square* untuk mengetahui hubungan antara antioksidan dengan penurunan kadar trigliserida darah.

#### **H. Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji beda setelah sebelumnya dilakukan uji homogenitas dan uji normalitas menggunakan *Kruskal Wallis*. Data yang diperoleh di analisis menggunakan program SPSS 15.0 version. Data *pre alloxan* dan *post alloxan* di analisis menggunakan uji statistika. Data masing-masing kelompok perlakuan dianalisis menggunakan uji *Paired T test*.

## I. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian