

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian *eksperimental* laboratorik dengan rancangan *pretest and post test group design*.

B. Waktu dan tempat Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian tersebut dilakukan di Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan mulai dari bulan Juni sampai Juli 2013.

C. Populasi dan Subyek Penelitian

Penelitian ini menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

1. Usia sekitar 2 bulan
2. Memiliki berat badan 150-200 gram
3. Jenis kelamin jantan
4. Sehat

Jumlah sampel penelitian sebanyak 20 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*), dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri dari 5 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*). Semua tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberi pakan BR

2. Tiap kelompok mendapat perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok A : hewan uji diberikan lemak babi (*sus*) sebanyak 2,5 ml dan diberi terapi jus buah anggur merah (*Rattus norvegicus*) sebanyak 1,5 ml.
- b. Kelompok B : hewan uji diberi jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) sebanyak 1,5 ml.
- c. Kelompok C : hewan uji diberi lemak babi (*sus*) sebanyak 2,5 ml.
- d. Kelompok D : hewan uji diberi *aquadest*.

D. Identifikasi Variabel Penelitian

- 1) Variabel Bebas : pemberian jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) merah.
- 2) Variabel Terikat : penurunan kolesterol LDL. Kadar kolesterol masing-masing sampel kelompok *treatment* dibandingkan dengan kelompok *control negative*.
- 3) Variabel Pengganggu Terkendali
 - a) Ras : subyek dari galur *Wistar*.
 - b) Usia : semua subyek penelitian usia sekitar 2 bulan.
 - c) Jenis kelamin : subyek penelitian dari jenis kelamin jantan.

- d) Berat badan : subyek penelitian berat badan antara 150-200 gram.
- e) Sehat : subyek penelitian aktivitas geraknya lincah dan tidak adanya luka.

E. Definisi Operasional Variabel

1. Jus buah anggur merah

Jus dibuat dengan menggunakan buah. Prinsipkerjanya ialah dengan memasukkan bahan kedalam *juicer* dengan ditambahkan air sesuai dengan perhitungan dibawah.

Pemberian jus personele tiap hari sekali yaitu dengan dosis 1,5 ml per tikus.

2. Kadar kolesterol LDL

Pengukuran kadar kolesterol dilakukan 2 kali, yaitu 1 x pengukuran *pretest* (untuk mengetahui keadaan awal LDL kolesterol darah tikus putih) dan 1 x pengukuran *post test* (setelah 2 minggu). Pemeriksaan kadar LDL kolesterol dilakukan setelah puasa lebih dari 12 jam. Hal itu dilakukan untuk menghindari kekeruhan plasma akibat trigliserida dan kilomikron yang mengganggu pengukuran kolesterol LDL (Ragland.et.al, 2000. Metode yang digunakan adalah *Direct Homogenous*, yaitu satu ml (mili liter) darah tikus putih dipusingkan dengan kecepatan 1500 rpm selama 15-20 menit untuk memisahkan serum dari darah,

kemudian mengambil 10 ml serum kemudian ditambah 1000ul reagen pengukuran LDL (merek *Roche Diagnostic cat no.148923*). Setelah itu, tabung sampel diinkubasi selama 20 menit. Masukkan sampel serum ke dalam spektrofometer dan hasil pembacaan spektrofotometer dalam satuan mg/dl dengan panjang gelombang 500 nm (Rosari, 2004).

F. Instrumen Penelitian

1. Bahan

- a) Air putih / *aquadest*
- b) Bahan anggur jenis anggur merah (*Vitis vinivera*) merah
- c) Lemak babi (*sus*)
- d) Larutan reagen KIT LDL 100 μ l
- e) Darah 0,5 ml
- f) Alkohol
- g) Pakan AD 2 \rightarrow BR 2

2. Alat

- a) Kandang tikus
- b) Timbangan
- c) *Sonde oral* 10ml
- d) Gelas beker
- e) *Blender*
- f) Timbangan jus

- g) Gunting
- h) Penimbang berat badan tikus
- i) Saringan
- j) Mikropipet 10 μ l
- k) *Yellow tip*
- l) *Blue tip*
- m) *Mixer fortex*
- n) *Tabung kufet*
- o) Gelas tabung
- p) *Inkubator*
- q) *Spektrofotometer*
- r) *Ependorf*
- s) *Holder tikus*
- t) *Handscoon*
- u) Kapas

G. Prosedur Penelitian

1. Sampel 1

- a. Tiap-tiap tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditimbang berat badannya.
- b. Diambil darah sebanyak kurang lebih 2ml dan diperiksa kadar kolesterol LDL darah untuk melihat kadar kolesterol awal pada hewan uji.
- c. Kelompok sampel 1 diberi minyak babi (*sus*) sebanyak 2,5 ml per hari setiap jam 10.00 WIB selama 7 hari.
- d. Hari ke 8, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan di dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.
- e. Setelah lebih dari 12 jam, plasma darah diperiksa absorbansinya.
- f. Hari ke 8, semua tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberi terapi jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) sebanyak 1,5ml per hari selama 7 hari.
- g. Hari ke 15, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.
- h. Setelah lebih dari 12 jam, dilihat hasilnya.

2. Sampel 2

- a. Tiap-tiap tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditimbang berat badannya.
- b. Diambil darah sebanyak kurang lebih 2 ml dan diperiksa kadar kolesterol LDL darah untuk melihat kadar kolesterol awal pada hewan uji.
- c. Beri terapi jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) sebanyak 1,5 ml selama 7 hari.
- d. Hari ke 15, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.
- e. Setelah lebih dari 12 jam, dilihat hasilnya.

3. Sampel 3

- a. Tiap-tiap tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditimbang berat badannya.
- b. Diambil darah sebanyak kurang lebih 2 ml dan diperiksa kadar kolesterol LDL darah untuk melihat kadar kolesterol awal pada hewan uji.
- c. Kelompok sampel 1 diberi minyak babi (*sus*) sebanyak 2,5 ml per hari setiap jam 10.00 WIB selama 7 hari.
- d. Hari ke 8, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan di dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.

- e. Setelah lebih dari 12 jam, plasma darah diperiksa absorbansinya.
 - f. Hari ke 8, semua tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberi terapi jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) sebanyak 1,5 ml per hari selama 7 hari.
 - g. Hari ke 15, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.
 - h. Setelah lebih dari 12 jam, dilihat hasilnya.
4. Sampel 4
- a. Tiap-tiap tikus putih (*Rattus norvegicus*) ditimbang berat badannya.
 - b. Diambil darah sebanyak kurang lebih 2 ml dan diperiksa kadar kolesterol LDL darah untuk melihat kadar kolesterol awal pada hewan uji.
 - c. Beri terapi jus buah anggur merah (*Vitis vinivera*) sebanyak 1,5 ml selama 7 hari.
 - d. Hari ke 15, semua darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) sampel 1 diambil sebanyak 2 ml. Darah disimpan dalam *freezer* selama lebih dari 12 jam.
 - e. Setelah lebih dari 12 jam, dilihat hasilnya.

H. Analisis Data

Data yang didapatkan pada penelitian ini akan diproses dengan pengukuran analisis *paired t test and Wilcoxon signed ranks test*.