

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

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

B. Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biomedis FKIK UMY & PAU-UGM (Pusat Antar Universitas-Universitas Gadjah Mada). Penelitian dilakukan selama dua bulan.

C. Subyek Penelitian

Subyek penelitian ini adalah 25 ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawley* yang diperoleh dari PAU-UGM. Subyek penelitian memiliki kriteria sebagai berikut: usia sekitar 2 bulan, memiliki berat badan 170-250 gram, jenis kelamin jantan.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Ekstrak etanol batang *H. formicarum* yaitu dosis 0,135 gram/Kg BB, 0,27 gram/kg BB, dan 0,54 gram/Kg BB

2. Variabel tergantung

Kadar Kolesterol total dan Trigliserida masing-masing subyek

3. Variabel terkendali

Usia 2 bulan, jenis kelamin jantan, berat badan subyek 170-250 gram

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol batang *H.formicarum* adalah hasil ekstrak serbuk batang *H.formicarum* dengan menggunakan penyari etanol 70%. Pada orang dewasa 70 kg, kapsul yang berisi ekstrak air *H.formicarum* diminum 3 gram setiap harinya. Jika berat badan orang dewasa (70 kg) dikonversikan ke tikus 200 gram maka akan didapatkan nilai 0.018 (Lawrence & Bacharah, 1964). Dosis tersebut tersebut sama dengan $3 \text{ gram} \times 0,018 = 0,054 \text{ gram} / 200 \text{ gram BB}$ atau 0,27 gram/kg BB. Sehingga dosis *H. formicarum* untuk tikus yang digunakan pada penelitian ini adalah dosis 0,135 gram/kg BB, 0,27 gram/kg BB dan 0,54 gram/kg BB.
2. Kadar gula darah puasa adalah kadar glukosa serum darah hewan uji setelah berpuasa selama 8-12 jam diambil dari vena orbita hewan uji.
3. Kolesterol total dan trigliserida diukur dan diambil dari darah vena hewan uji setelah berpuasa selama 8-12 jam.

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Kandang tikus, Timbangan tikus, Spuit injeksi, Spektrofotometer, Effendrof,

Mikro haematokrit, Sentrifuga

2. Bahan

Ekstrak etanol *H.formicarum*, Aloksan, Glibenklamid.

G. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan ekstrak etanol batang *H.formicarum*

Tumbuhan *H.formicarum* yang digunakan diambil dari daerah Pegunungan Kubing, Kabupaten Belitung, Provinsi Kep.Bangka Belitung. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah batang bagian bawah yang menggelembung dan berongga.

Batang tersebut dikupas kulit luarnya, lalu dibelah menjadi beberapa bagian, dibersihkan semut-semut yang terdapat didalamnya. Kemudian diiris potongan batang tersebut menjadi sangat tipis lalu dikeringkan di dalam oven pada suhu 60^oc sampai kering. Cecahan umbi sarang semut yang telah kering diblender sampai menjadi serbuk. Batang *H.formicarum* diekstrak dengan penyari etanol 70% menggunakan teknik maserasi. Serbuk batang *H.formicarum* direndam (maserasi) dengan larutan etanol 70% selama 24 jam dan diambil filtratnya dengan melakukan penyaringan. Kemudian, hasil saringan diuapkan di atas penangas air. Pada akhir proses ini, akan didapatkan ekstrak murni berupa cairan kental dari serbuk batang *H.C*

2. Pengelompokan hewan uji

Jumlah subjek penelitian adalah 25 ekor. Subyek dibagi menjadi 5 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok I : Kelompok kontrol negatif, diinduksi aloksan dosis 130 mg/kgBB
- b. Kelompok II : Kelompok kontrol positif, diinduksi aloksan dosis 130 mg/kgBB & glibenklamid dosis 0,5 mg/kgBB
- c. Kelompok III : Kelompok perlakuan diinduksi aloksan dosis 130 mg/kg BB & ekstrak etanol batang *H. formicarum* dosis 0,135 gram/KgBB
- d. Kelompok IV : Kelompok perlakuan diinduksi aloksan dosis 130 mg/kg BB & ekstrak etanol batang *H. formicarum* dosis 0,27 gram/KgBB
- e. Kelompok V : Kelompok perlakuan diinduksi aloksan dosis 130 mg/kgBB & ekstrak etanol batang *H. formicarum* dosis 0,54 gram/Kg BB

3. Induksi diabetes dengan aloksan

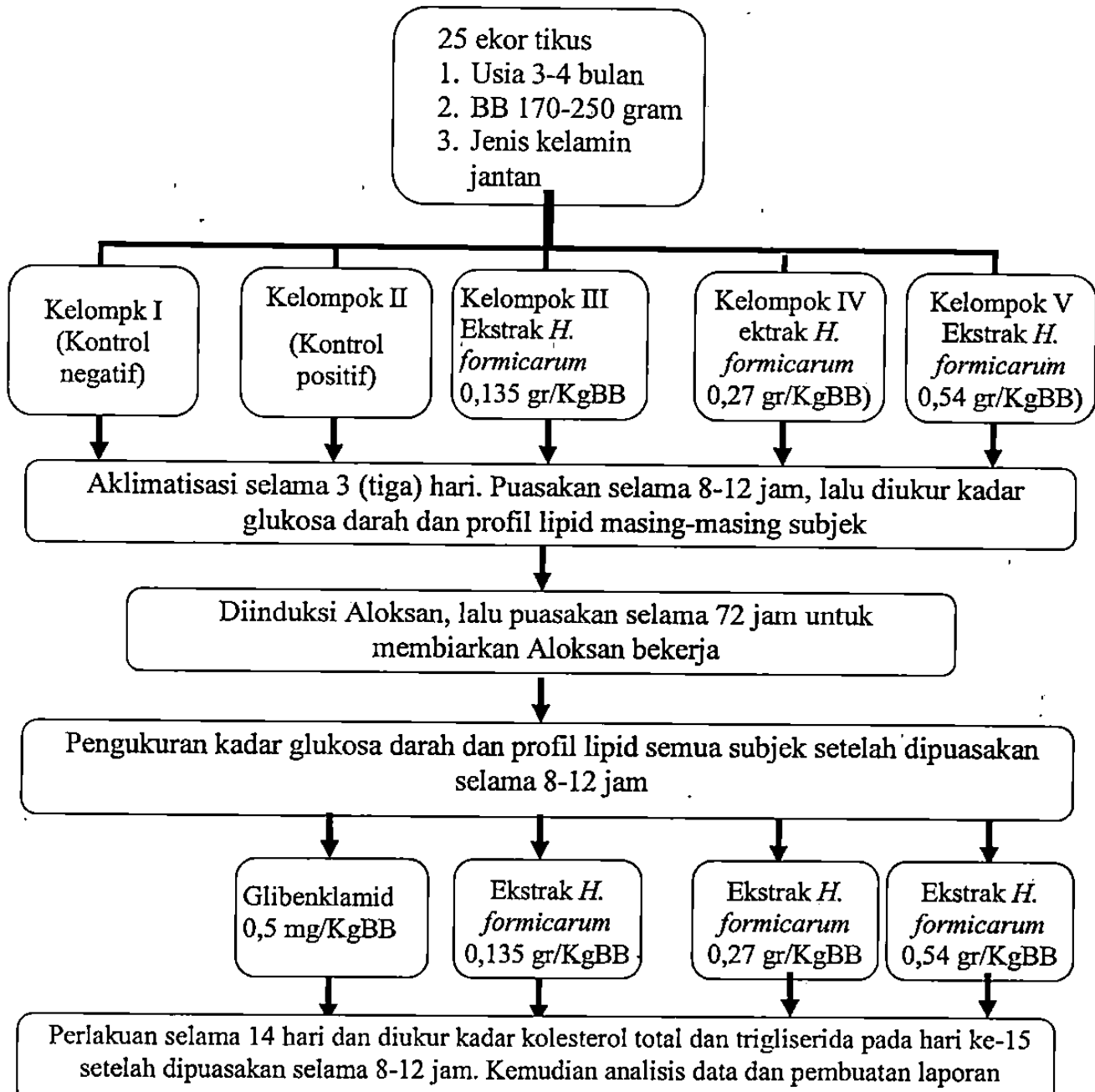
Subyek diaklimatisasi dalam kandang selama 3 hari, diberi makan dan minum seperti biasanya. Setelah 3 hari, tikus dipuasakan selama 8-12 jam. Setelah itu, kadar glukosa darah, kolesterol total dan trigliserida masing-masing tikus diukur. Kemudian tikus diberi makan dan minum seperti biasa. 1 hari kemudian, kelompok I-V diinduksi DM dengan aloksan dosis tunggal 130 mg/KgBB secara subkutan. Tikus dipuasakan selama 72 jam untuk

membiarkan aloksan bekerja. Setelah itu, tikus diberi makan dan minum seperti biasa. 1 hari kemudian, Kadar kolesterol total dan trigliserida masing-masing tikus diukur kembali setelah dipuasakan selama 8-12 jam.

4. Uji efek ekstrak etanol batang *H. formicarum*

Setelah dilakukan pengukuran kadar kolesterol total dan trigliserid yang ke-2 maka tikus-tikus diberi perlakuan sesuai dengan kelompok masing-masing selama 16 hari. Pemberian ekstrak batang sarang semut melalui sonde per oral. Pada hari ke 17, semua kelompok tikus diukur kolesterol total dan trigliserida setelah dipuasakan selama 8-12 jam.

H. Skema Prosedur Penelitian



I. Analisis Data

Data kolesterol total dan trigliserida tiap kelompok diuji normalitasnya, kemudian dilanjutkan dengan uji *homogeneity of variances*. Setelah mengetahui varians populasi bersifat identik, uji signifikansi penurunan kolesterol total dan trigliserida tiap kelompok dilakukan dengan uji *t* dua sampel.