

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. DESAIN 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 ini berlangsung di dua tempat, pembuatan ekstrak kulit manggis di Lab. Penelitian Farmasi UMY dengan periode 11 maret 2013 sampai 1 april 2013, dan perlakuan terhadap hewan uji di PAU UGM pada periode 1 april 2013 sampai akhir mei 2013.

##### C. POPULASI DAN SAMPEL

Subyek penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus Norvegicus*) diperoleh dari . Subyek yang diteliti memiliki kriteria inklusi sebagai berikut :

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

Sampel didapat dari kantor PAU UGM dan Lab Farmako UGM. Jumlah sampel dalam penelitian adalah 25 ekor. Subyek dipilih secara acak, dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Hasil tersebut berdasarkan rumus besar sampel eksperimental federer yaitu  $(k-1)(n-1) \geq 15$  (federer, et al., 2008) uraiannya sebagai berikut :

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

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

$$(n-1) \geq 3$$

$$n \geq 5$$

Keterangan :

K : Jumlah Kelompok

N : Jumlah hewan coba perkelompok

Masing-masing kelompok diberi perlakuan sebagai berikut :

1. Kelompok I kontrol negatif, hewan uji diinduksi alloxan (80mg/kgBB tikus) sehingga menjadi diabetik dan hanya diberi 2 ml Na-CMC 0,5 %.
2. Kelompok II kontrol positif, hewan uji diinduksi alloxan (80mg/kgBB tikus) sehingga menjadi diabetik dan diberi obat glibenklamid 1 kali sehari selama 14 hari, masing-masing 0,09 mg/200grBB/hari/tikus yang ditambahkan 2 ml Na-CMC 0,5 %.
3. Kelompok III, hewan uji diinduksi alloxan (80mg/kgBB tikus) sehingga menjadi diabetik dan diberi ekstrak kulit buah manggis (50 mg/kgBB/hari/tikus) yang ditambahkan 2 ml Na-CMC 0,5 %.
4. Kelompok IV, hewan uji diinduksi alloxan (80mg/200gr BB tikus) sehingga menjadi diabetik dan diberi ekstrak kulit buah manggis (100 mg/kgBB/hari/tikus) yang ditambahkan 2 ml Na-CMC 0,5 %.
5. Kelompok V, hewan uji diinduksi alloxan (80mg/kgBB tikus) sehingga menjadi diabetik dan diberi ekstrak kulit buah manggis (200 mg/kgBB/hari/tikus) yang ditambahkan 2 ml Na-CMC 0,5 %.

## D. VARIABEL dan DEFINISI OPERASIONAL

### 1. Variabel

- a. Variabel bebas : dosis ekstrak kulit *G. Mangostana*, yaitu 50 mg/kgBB, 100mg/kgBB, 200mg/kgBB.
- b. Variabel terikat : kadar kolesterol total darah masing-masing subyek.
- c. Variabel terkendali :
  - 1) Obyek penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Spargue Dawley (umur 2 – 4 bulan dan berat 150-200 gram).
  - 2) Faktor genetik menggunakan tikus satu galur yaitu dari galur Spargue Dawley dan proses pengambilan menggunakan randomisasi.
  - 3) Faktor hormonal menggunakan galur Sprague Dawley jantan agar tidak terpengaruh oleh siklus hormonal yang akan mengganggu hasil penelitian.
  - 4) Kondisi pakan dan kandang sama.
  - 5) Waktu pengambilan sampel adalah sebelum diinduksi alloxan, 48 jam setelah diinduksi alloxan dan sesudah 14 hari perlakuan.
  - 6) Lama penelitian dan takaran sampel yang diuji 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 manggis.

## 2. Definisi Operasional

### a. Ekstrak kulit manggis

Ekstrak kulit manggis adalah kulit manggis yang diekstraksi menggunakan metode maserasi. Ekstrak kulit manggis yang diberikan kepada hewan uji masing masing dengan dosis 50mg/kgBB tikus, 100mg/KgBB tikus, 200mg/KgBB tikus. Ekstrak diberikan secara oral dengan menggunakan spuit.

### b. Kolesterol total adalah kadar kolesterol total yang diambil dari serum darah hewan uji sebanyak 3 kali, yaitu sebelum induksi alloxan, sebelum perlakuan (setelah induksi alloxan, dan dibiarkan selama 48 jam), dan setelah perlakuan selama 14 hari.

## E. INSTRUMEN PENELITIAN

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, blender, kain saring, tabung, saringan, sonde, pipet, gelas kaca, oven, dan spuit.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloxan, aquades, glibenklamid, serum darah, ekstrak kulit manggis, etanol 70% dan Na-CMC 1%.

## F. CARA PENGAMBILAN DATA

### 1. Pembuatan Ekstrak Kulit manggis (*Garcinia mangostan L*)

Pembuatan ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostan L*) dilakukan di laboratorium *fito medicine*. Kulit buah manggis (*Garcinia mangostan L*) yang telah terkupas bersih dari kotoran-kotoran, kemudian

dirajang kecil-kecil dan dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya digiling dan dijadikan serbuk simplisia. Serbuk kulit buah manggis (*Garcinia mangostan L*) disari dengan etanol 70% menggunakan metode maserasi yaitu dengan merendam serbuk simplisia dalam etanol 70% hingga 2cm dari permukaan serbuk simplisia selama 5 x 24 jam. Selama maserasi, sesekali serbuk diaduk agar penyarian sempurna. Selanjutnya, disaring dan diambil sarinya. Serbuk *diremaserasi* 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 (Glibenklamid), dan kelompok III, IV, dan V sebagai variabel bebas yang diberi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostan L*) dengan dosis masing-masing 50mg/kgBB, 100mg/kgBB, dan 200mg/kgBB.

## 3. Pengambilan sampel darah awal

Pengambilan sampel darah pertama dilakukan setelah hewan uji diadaptasikan 3 hari. Sampel darah diambil pada ekor tikus. Sebelum pengambilan darah hewan uji berpuasa selama 8-12 jam. Pengambilan sampel darah awal ini di gunakan untuk melihat kadar glukosa darah normal pada hewan uji sebanyak 1,5 ml.

#### 4. Induksi Alloxan

Setelah pengambilan sampel darah awal, semua hewan uji diinduksi Alloxan. Alloxan disuntikan dengan dosis 80mg/kgBB tikus agar menderita diabetes mellitus tipe II. Tiap 80 mg/kgBB alloxan ditambahkan ke 2 ml Na-CMC 0,5 %. Alloxan disuntikan secara intraperitoneal pada tikus, dihitung dengan rumus :

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

$$\text{Pelarut (aquades) /ml} = \frac{3ml}{80mg}$$

Untuk melihat reaksi yang telah ditimbulkan maka pengambilan sampel darah berikutnya dilakukan setelah 48 jam pasca induksi alloxan. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan kadar kolesterol total darah sebagai sampel ke-1 sebelum perlakuan.

#### 5. Pembuatan suspensi CMC 0,5 %

Suspensi CMC dibuat dengan melarutkan CMC 0,5 g ke dalam akuades 10 ml, aduk sampai mengembang, kemudian dihaluskan sampai homogen. Setelah itu ditambahkan dengan akuades sampai volume total larutan CMC 100 ml.

#### 6. Pemberian glibenklamid

Kelompok II dari hewan uji yang diinduksi alloxan diberi glibenklamid dengan dosis 0,09mg/200grBB dimana didapat dari hasil konversi dari dosis manusia yaitu 5mg/kgBB

Hasil konversi dosis gilbenklamid manusia pada hewan uji

$$\begin{aligned} (\text{mg/kgBB}) &= 5\text{mg} \times 0,018 \\ &= 0,09\text{mg}/200\text{grBB} \end{aligned}$$

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

Dosis glibenklamid tersebut kemudian ditambahkan ke 2 ml Na-CMC 0,5 %.

7. Pemberian perlakuan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostan L*)

Kelompok III, IV, dan V diberi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostan L*) dengan dosis 50, 100, 200 mg/KgBB dan masing masing ditambahkan ke 2 ml Na-CMC 0,5% agar larutannya homogen, dan diberikan selama 14 hari.

Masing-masing dosis :

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

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

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

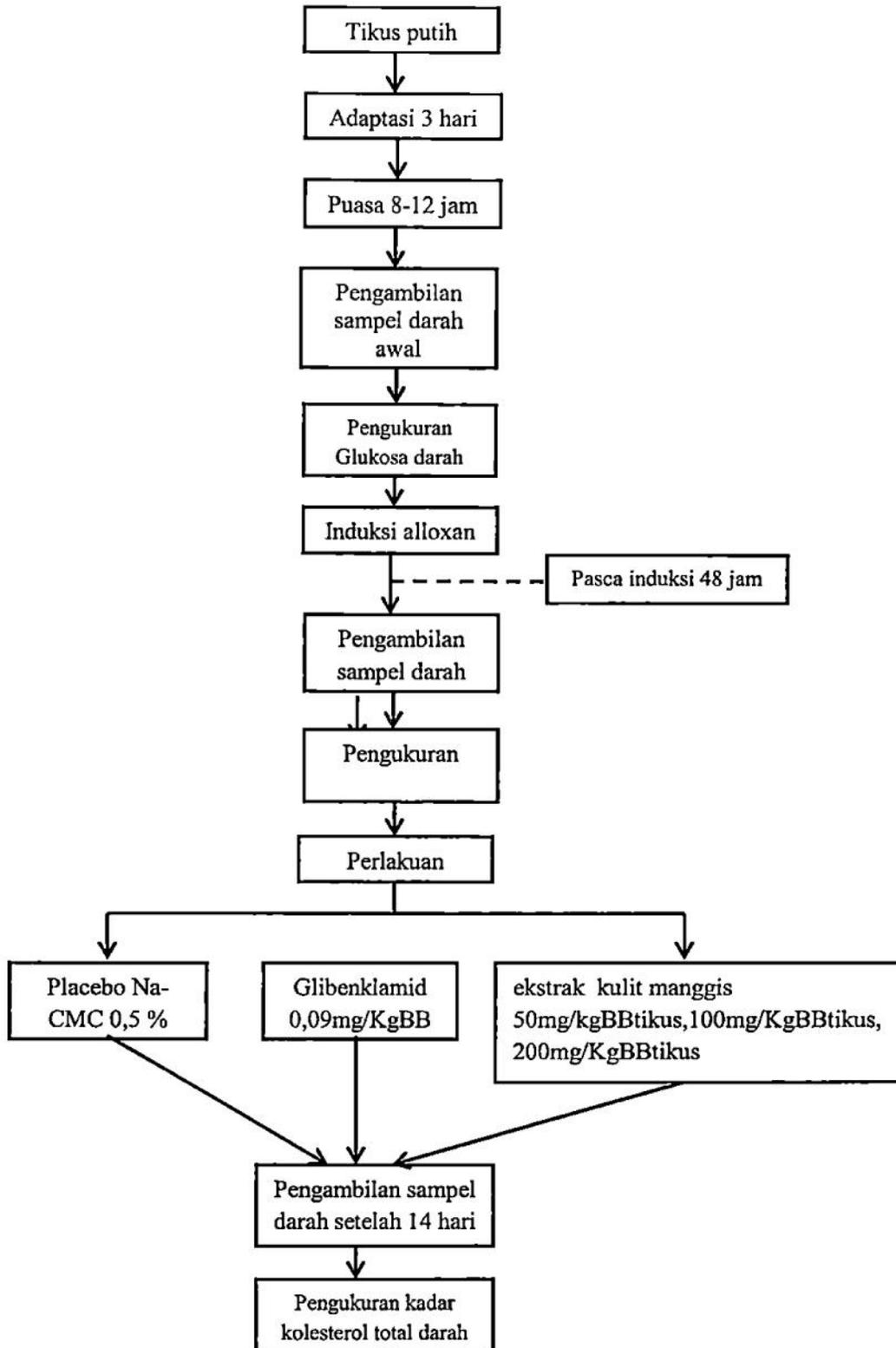
Pengenceran = vol pemberian – dosis ekstrak

$$= 3\text{ml} - \text{dosis ekstrak}$$

8. Pengambilan data

Pengambilan data dilakukan 3 kali. Sampel darah vena diambil di bagian pleksus retroorbitalis tikus spargue dawley untuk pemeriksaan kadar kolesterol total darah. Sampel darah yang akan diperiksa adalah serum darah puasa, sehingga hewan uji harus di puasakan terlebih dahulu

sebelum pengambilan sampel darah. Waktu pengambilan sampel adalah sebelum hewan uji diinduksi aloxan, 48 jam setelah diinduksi alloxan, dan setelah 14 hari pemberian perlakuan.

**G. BAGAN PENELITIAN**

## **H. ANALISIS DATA**

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan seperangkat komputer dengan analisis one way ANOVA.

## **I. UJI VALIDITAS DAN REALIBILITAS**

Kesahlian (validitas) dan keterandalan (realibilitas) pada penelitian ini di tentukan oleh ketepatan alat ukur ( Spektofotometer ), ketepatan cara pengukuran dan dosis bahan coba serta obat yang tepat.