

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen adalah penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 2003).

B. Desain Penelitian

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), karena pada penelitian ini unit eksperimen dan faktor lingkungan bersifat homogen. Secara acak mencit-mencit dikelompokkan pada setiap kelompok kontrol dan perlakuan. Banyaknya pengulangan yang dilakukan (replikasi) diperoleh dari Gomez dan Gomez, 1995 yaitu :

$$T(r-1) \geq 20$$

$$6(r-1) \geq 20$$

$$6r - 6 \geq 20$$

$$6r \geq 26$$

$$r \geq 5$$

Keterangan:

T = jumlah perlakuan = 6

r = jumlah replikasi = 5

Jumlah mencit yang diperlukan dalam setiap kelompok adalah 5 ekor. Setiap kotak diberi tanda dan nomor untuk mencit. Penempatan perlakuan pada setiap kandang dilakukan randomisasi. Berikut merupakan rencana pengacakan mencit dan penempatan dalam kandang:

Tabel 3.1 Pengaturan Pengacakan Mencit

1E	2C	3D	4E	5C
6F	7C	8D	9A	10A
11F	12F	13C	14B	15B
16D	17B	18A	19E	20F
21B	22C	23A	24D	25F
26D	27E	28E	29A	30B

Tabel 3.2 Peta Kandang

Kandang	Nomor Mencit				
A	29	9	10	18	23
B	15	17	30	21	14
C	5	7	22	13	2
D	16	26	3	24	8
E	28	19	4	27	1
F	11	25	20	6	12

Keterangan:

- A : kontrol negatif
- B : kontrol positif
- C : ekstrak daun Jati Belanda dengan dosis 0,5 g/kg BB
- D : ekstrak daun Jati Belanda dengan dosis 1 g/kg BB
- E : ekstrak daun Jati Belanda dengan dosis 1,5 g/kg BB
- F : ekstrak daun Jati Belanda dengan dosis 2 g/kg BB

C. Populasi dan Sampel penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit dan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kadar kolestrol dan berat hati dari 30 ekor mencit betina dewasa. Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif, mencit diberi pakan CP551 tanpa pemberian pakan berlemak dan ekstrak daun Jati Belanda.
2. Kelompok kontrol positif, mencit diberikan pakan berlemak tanpa pemberian ekstrak daun Jati Belanda.
3. Kelompok dosis I, kelompok mencit diberi pakan CP551 dan ekstrak daun Jati Belanda sebanyak 0,5 g/ kg BB.
4. Kelompok dosis II, mencit diberi pakan CP551 dan ekstrak daun jati belanda sebanyak 1 g/ kg BB,
5. Kelompok dosis III, kelompok mencit diberi pakan CP551 dan ekstrak daun jati belanda sebanyak 1,5 g/ kg BB,
6. Kelompok dosis IV, mencit diberi pakan CP551 dan ekstrak daun Jati Belanda sebanyak 2 g/ kg BB.

D. Lokasi Penelitian

Pemeliharaan dan pemberian ekstrak daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) dilakukan di rumah hewan Kebun Botani Jurusan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Pembuatan ekstrak daun Jati Belanda dan Pengukuran kadar kolesterol darah dilakukan di laboratorium Institut Pertanian Bogor (IPB).

E. Cara Kerja

1. Tahap persiapan
 - a. Aklimatisasi Mencit

Pemeliharaan dilakukan di rumah hewan kebun botani. Sebelum diberi perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama seminggu dengan tujuan agar hewan uji beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan.

Mencit dikelompokkan dalam kandang berukuran 30x20x12 cm berdasarkan perlakuan yang diberikan dengan kepadatan 5 ekor setiap kandang. Selama aklimatisasi, mencit diberi pakan standar dan minum. Aklimatisasi dilakukan selama satu minggu, hal tersebut agar mencit mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang akan ditempati selama penelitian berlangsung.

b. Pembuatan Pakan Berlemak

Lemak daging sapi sebanyak 250 gram dan air dipanaskan kemudian dicampurkan dengan bahan dasar pakan standar, campurkan sampai homogen sehingga adonan pakan tersebut dapat dibentuk pelet. Setelah itu, dikeringkan menggunakan oven.

2. Penentuan Dosis

Mencit yang digunakan dibagi menjadi enam kelompok dosis pemberian ekstrak daun Jati Belanda yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dosis 0,5 g/ kg BB, 1 g/ kg BB, 1,5 g/ kg BB, 2 g/ kg BB.

Dosis ekstrak daun Jati Belanda di tentukan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu dosis efektif daun Jati Belanda adalah 1 g/kg BB (Lestari dan Muhtadi, 1997; Kristiani, 2003; Rachmadani 2001 dalam Rahayu, 2007).

3. Pembuatan Ekstrak

Daun Jati Belanda yang sudah digiling halus, diekstraksi dengan air bebas ion (aquades). Kemudian dipekatkan pada suhu 80°C selama kurang-lebih 4 jam. Ekstrak yang diperoleh disaring dan dipekatkan kemudian dicekokkan pada mencit percobaan sesuai dengan dosis yang telah diperoleh (Rachmadani, 2001).

- a. Pada proses pembuatan dosis 0,5 g daun Jati Belanda, ditambahkan air aquades sebanyak 10 ml.

- b. Pada proses pembuatan dosis 15 g daun Jati Belanda, ditambahkan air aquades sebanyak 10 ml.
- c. Pada proses pembuatan dosis 1,5 g daun Jati Belanda, ditambahkan air aquades sebanyak 10 ml.
- d. Pada proses pembuatan dosis 2 g daun Jati Belanda, ditambahkan air aquades sebanyak 10 ml.

4. Tahap Perlakuan

a. Tahap Pemberian Pakan Berlemak

Setelah mencit diaklimatisasi selama satu minggu, kemudian pada minggu ke dua setiap kelompok mencit baik kontrol positif, maupun kelompok perlakuan diberi pemberian pakan berlemak selama satu minggu. Pada tahap ini dilakukan penimbangan berat badan mencit yang bertujuan untuk mengetahui pertambahan berat badan yang diakibatkan oleh pemberian pemberian pakan berlemak.

b. Pemberian Ekstrak Daun Jati Belanda

Pada minggu ke tiga dilakukan pemberian ekstrak daun jati belanda sebanyak 1 ml untuk setiap mencitnya pada masing-masing konsentrasi. Pemberian ekstrak daun Jati Belanda dilakukan setiap pagi selama 7 hari.

c. Pengambilan Darah

Mencit yang telah diberi pakan berlemak dan perlakuan ekstrak daun jati belanda, selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan, lalu mencit di dislokasi pada bagian leher. Tahap berikutnya dilakukan pembedahan pada bagian dada mencit, lalu dilakukan pemotongan pada bagian vena cava inferior sehingga mengeluarkan banyak darah. Darah akan diambil dengan menggunakan spuit 1 ml.

Darah mencit yang telah diperoleh dimasukkan ke dalam tabung ependorf sebanyak 0.5 ml, lalu untuk mendapatkan lapisan serum maka darah tersebut akan disentrifuge dengan kecepatan 10000 rpm selama 5 menit.

d. Pengukuran Berat Hati

Mencit yang sudah didislokasi pada bagian leher disimpan pada bak bedah untuk dilakukan pembedahan dengan posisi ditelentangkan. Hal tersebut untuk mempermudah pembedahan, bagian tangan dan kaki mencit di rentangkan menggunakan jarum sehingga bagian dada dapat terlihat dan mudah untuk disayat. Bagian dada disayat dengan menggunakan pisau bedah, setelah tersayat kemudian dilakukan pengambilan organ hati yang selanjutnya dilakukan penimbangan berat hati.

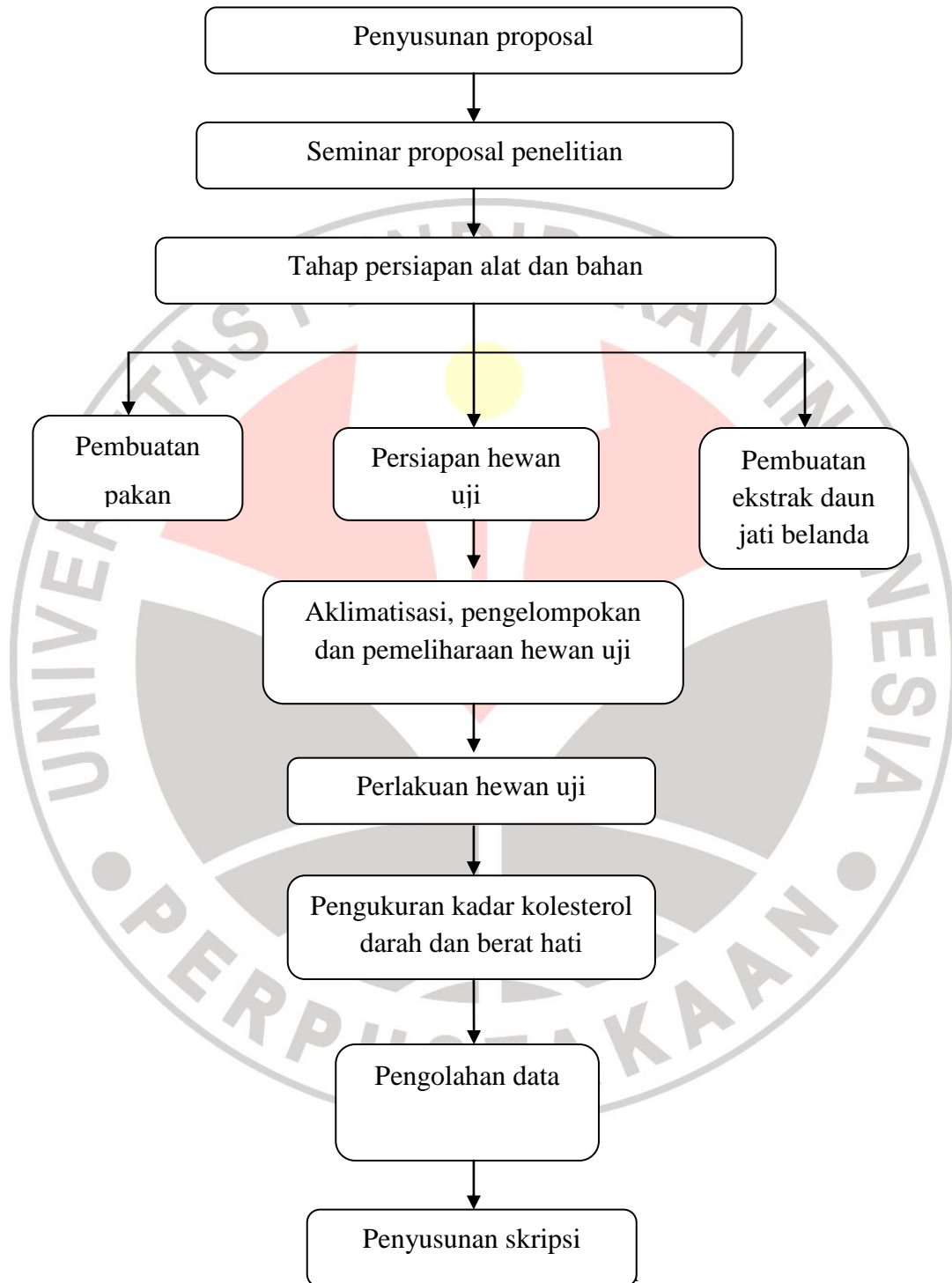
e. Pengukuran Kadar Kolesterol

Pengukuran kadar kolesterol darah dilakukan di Lab. Fisiologi FKH IPB. Kadar kolesterol diukur dengan metode *CHOS-PAP Enzymatik Colorimeter Test for Cholesterol With Lipid Clearing Factor (LCF)* dengan cara mengambil sampel darah mencit sebanyak 10 μL dipipet ke dalam kuvet kemudian ditambahkan 1000 μL reagen lalu di homogenisasi dengan vortex. Sampel dan standar diinkubasi selama 10 menit pada suhu 20-25°C kemudian dimasukkan ke dalam spektrofotometer dengan panjang gelombang 493 nm, membaca hasilnya pada spektrofotometer dalam bentuk *absorbance* (Putri, 2008).

F. Teknik Analisis Data

Data yang telah diperoleh dianalisis secara statistika menggunakan program SPSS 16 *for windows*. Tahap awal yang dilakukan adalah uji persyaratan yaitu uji normalitas dan uji homogenitas. Uji normalitas menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov, sedangkan uji homogenitas menggunakan uji Leven's. Kemudian bila data yang diperoleh memiliki varians data homogen, maka pengujian dilanjutkan menggunakan statistika parametrik dengan uji ANOVA (*Analysis of Variance*) untuk mengetahui perbedaan rata-rata dari masing-masing perlakuan. Apabila hasil uji Anova memperlihatkan perbedaan data yang signifikan, maka dilakukan uji lanjutan Duncan (Sudjana, 2002).

G. Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian