

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### A. Jenis Penelitian

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

#### B. Desain Eksperimen

Desain eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Desain ini sering digunakan jika percobaan bersifat homogen, seperti percobaan dalam laboratorium atau rumah kaca (Nazir, 2003). Secara acak mencit-mencit dikelompokkan pada setiap kelompok kontrol dan perlakuan. Banyaknya pengulangan yang dilakukan (replikasi) diperoleh dari (Gomez dan Anturo) yaitu:

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

$$5(r-1) \geq 20$$

$$r \geq 5$$

Keterangan : T = jumlah perlakuan = 5

r = jumlah replikasi

Setiap kotak diberi tanda dan nomor untuk mencit. Penempatan perlakuan pada setiap kandang dilakukan randomisasi. Setelah dirandom, maka didapatkan penempatan perlakuan pada setiap kandang sebagai berikut:

**Tabel 3.1 Pengaturan Randomisasi Mencit**

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

**Tabel 3.2 Penempatan Kandang Mencit**

Kandang	Perlakuan (konsentrasi bekatul) %	No. Mencit				
		A	0	2	7	15
B	3,3	13	16	17	20	22
C	6,6	3	4	8	10	12
D	10	1	5	11	21	23
E	13,3	6	9	14	24	25

### C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan adalah seluruh sampel darah dan berat badan mencit (*Mus musculus. L*) Swiss Webster jantan dara berumur 3 bulan. Sampel yang digunakan adalah kadar kolesterol darah dan berat badan dari 25 ekor mencit (*Mus musculus. L*) Swiss Webster jantan yang berumur 3 bulan.

#### D. Lokasi Penelitian

Pembuatan campuran pakan bekatul dilakukan Laboratorium Ekologi, Jurusan Pendidikan Biologi FPMIPA UPI. Pemeliharaan mencit, pemberian perlakuan, serta pengambilan sampel darah dan pengukuran berat badan dilakukan di rumah kaca Kebun Botani FPMIPA UPI. Pengukuran kadar kolesterol mencit dilakukan di Laboratorium Institut Pertanian Bogor.

#### E. Alat dan Bahan

##### 1. Daftar Alat Penelitian

Tabel 3.3. Alat Penelitian

No	Nama Alat	Jumlah
1.	Oven	1 unit
2.	Neraca timbangan analitik	1 unit
3.	Gelas Beaker	2 buah
4.	Gelas ukur 1000 ml	1 buah
5.	Tempat makan dan minum mencit	25 unit
6.	Timerswitch	1 unit
7.	Magnetik stirrer	1 unit
8.	Kertas label	2 lembar
9.	Termometer	1 buah
10.	Saringan	5 buah
11.	Kandang mencit	25 unit
12.	Alat penggiling	1 unit
13.	Sentrifuge	1 unit
14.	Spektrofotometer	1 unit
15.	Mikropipet	1 unit
16.	Kuvet	1 unit
17.	Kit	1 unit

## 2. Daftar Bahan Penelitian

**Tabel 3.4. Bahan Penelitian**

No	Nama Bahan	Jumlah
1.	Mencit	25 ekor
2.	Pakan mencit biasa	30 kg
3.	Lemak daging sapi	5 kg
4.	Bekatul	1 kg
5.	Sekam	25 kg
6.	Aquades	200 ml
7.	Etanol	50 ml

**F. Prosedur Kerja**

## 1. Tahap persiapan

## a. Aklimatisasi Mencit

Pemeliharaan dilakukan di *green house* Kebun Botani Jurusan Pendidikan Biologi UPI. Sebelum diberi perlakuan, mencit-mencit diaklimatisasi pada suhu ruangan rata-rata 23-27°C, periode ini dilaksanakan selama seminggu dengan tujuan agar hewan uji teradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Mencit-mencit berada dalam kandang berukuran 30 cm x 20 cm x 12 cm. Mencit dikandangkan satu ekor ekor tiap kandangnya. Selama aklimatisasi, mencit-mencit tersebut hanya diberi pakan biasa dan air minum secara *ad libitum*. Komposisi pakan standar ini dapat dilihat pada Lampiran 1. Makanan diberikan 6 gram setiap hari dan botol minuman dibersihkan tiap tiga hari sekali dan diganti airnya atau diisi ulang dengan air apabila air sudah habis. Kandang dibersihkan dan diganti serbuk gergajinya setiap satu minggu sekali. Aklimatisasi biasanya

digunakan untuk menghadapi faktor-faktor yang terjadi dalam lingkungan lebih terkontrol di laboratorium.

b. Pembuatan Pakan Berlemak

Lemak daging sapi sebanyak 250 gram dan air dipanaskan kemudian dicampurkan dengan bahan dasar pakan standar laboratorium, berasal dari PT. Charoen Pokhpand Indonesia hingga mencapai berat satu kg lalu ditambah air sampai homogen sehingga adonan dapat dibentuk pelet. Setelah itu, dikeringkan menggunakan oven.

c. Penentuan Dosis

Pada penelitian ini, bahan yang diuji adalah bekatul. Konsentrasi bekatul yang digunakan adalah 0%, 3,3%, 6,6%, 10%, dan 13,3% dari banyaknya pakan yang diberikan (6 gram/ekor/hari) dapat dilihat pada Tabel 3.3. Penentuan dosis berdasarkan penelitian sebelumnya (Kahlon, 2003) dan kandungan serat pada pakan dengan penambahan bekatul dapat dilihat pada Lampiran 2.

**Tabel 3.5. Penentuan Konsentrasi**

No.	Kelompok Perlakuan	Persentase Konsentrasi Bekatul dalam Pakan %	Jumlah Bekatul (g/6g/ekor/hari)
1	Kontrol	0	0
2	I	3,3	0,2
3	II	6,6	0,4
4	III	10	0,6
5	IV	13,3	0,8

d. Pembuatan Pakan dengan Tambahan Bekatul

Bekatul dengan dosis tiap kelompok perlakuan dicampurkan dengan air dipanaskan kemudian dicampurkan dengan bahan dasar pakan standar laboratorium, berasal dari PT. Charoen Pokhpand Indonesia hingga mencapai berat 6 mg untuk tiap individu mencit sampai homogen sehingga adonan dapat dibentuk pelet. Setelah itu, dikeringkan menggunakan oven.

2. Tahap Perlakuan

a. Pemberian Pakan Berlemak

Pemberian pakan berlemak dilakukan selama seminggu, mencit diberi makan berlemak dengan komposisi pakan dan lemak sapi (1:4). Tahap ini bertujuan untuk meningkatkan kadar kolesterol darah mencit, sehingga mencit mengalami *hiperkolesterolia*. Pada tahap ini mencit diberi air minum seperti biasa.

b. Pemberian Pakan dengan Penambahan Bekatul

Perlakuan dilaksanakan selama dua minggu, mencit diberi minum setiap hari seperti biasa. Pemberian dosis dilakukan secara oral. Konsentrasi bekatul diberikan secara rinci ditunjukkan pada Tabel 3.6.

**Tabel 3.6. Pemberian Pakan Bekatul**

Nama Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus
Kontrol	Tidak diberi bekatul	5
I	3,3 % bekatul / hari	5
II	6,6 % bekatul / hari	5
III	10 % bekatul / hari	5
IV	13,3 % bekatul / hari	5

c. Pengukuran Berat Badan

Pada penelitian ini berat badan setiap mencit ditimbang setiap hari dari mulai tahap aklimatisasi hingga akhir perlakuan.

d. Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah mencit diambil dari bagian abdominal aorta, dan jantung.

e. Pengukuran Kadar Kolesterol Total Darah

Kadar kolesterol diukur dengan metode CHOD-PAP *Enzymatic Colorimeter Test for Cholesterol with lipid Clearing Factor* (LCF) dengan cara mengambil sampel darah mencit sebanyak 10  $\mu\text{L}$  dipipet ke dalam kuvet kemudian ditambahkan 1000  $\mu\text{L}$  reagen lalu dihomogenisasi dengan *vortex*. Serum dipisahkan dari darah dengan mensentrifugasinya selama 20 menit kecepatan 1500 rpm. 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*. Sampel dan standar diukur absorbannya terhadap blanko (reagen) murni yang nantinya didapat  $\Delta A$ . Pengujian dilakukan dua kali (duplo).

$C = \text{Konsentrasi Standar} \times \frac{(\Delta A \text{ sampel})}{\Delta \text{ standar}}$

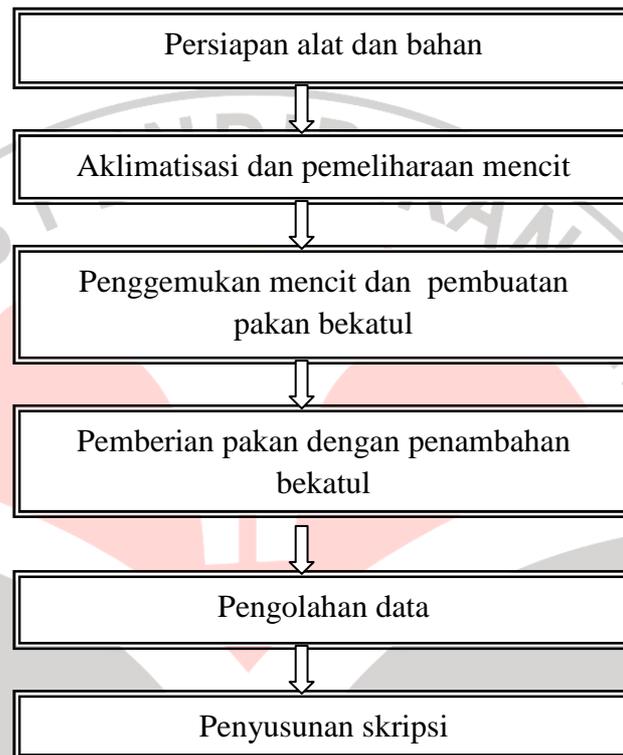
$\Delta \text{ standar}$

## 1 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistika menggunakan program SPSS 16. Uji normalitas dilakukan uji Kolmogorov-Smirnov. Selanjutnya dilakukan uji korelasi Moment Product Pearson, untuk mengetahui korelasi antara

berat badan dan kadar kolesterol darah setelah pemberian pakan dengan penambahan bekatul.

## 2 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian