

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian 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 (1995), yaitu:

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

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

$$r \geq 5$$

Keterangan : T = jumlah perlakuan = 5

r = jumlah replikasi

Setiap kandang diberi tanda dan nomor untuk mencit. Penempatan perlakuan pada setiap kandang dilakukan secara random. Setelah dirandom, maka didapatkan penempatan perlakuan pada setiap kandang seperti pada Tabel 3.1 sebagai berikut :

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

Tabel 3.1 Pengaturan Randomisasi Mencit

Kandang	No. Mencit				
	A	3	4	8	10
B	13	16	17	20	22
C	1	5	11	21	23
D	2	7	15	18	19
E	6	9	14	24	25

Tabel 3.2 Penempatan Mencit Pada Setiap Kelompok

Kandang	Perlakuan (Dosis minyak bekatul)	No. Mencit				
		A	0 ml	2	4	12
B	0,25 ml	5	7	10	14	20
C	0,5 ml	1	3	6	8	21
D	0,75 ml	11	16	17	22	23
E	1 ml	9	13	15	19	24

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan adalah seluruh mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster betina berumur delapan minggu. Sampel yang digunakan adalah berat badan sebanyak 25 ekor mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster betina yang berumur delapan minggu.

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

D. Lokasi Penelitian

Pembuatan pakan berlemak dan pakan bekatul dilakukan di Laboratorium Ekologi, Jurusan Biologi FPMIPA UPI. Pemeliharaan mencit dan pemberian perlakuan dilakukan di rumah kaca Kebun Botani FPMIPA UPI. Penimbangan berat badan mencit dilakukan di rumah kaca kebun botani.

E. Alat dan Bahan

a. Spesifikasi Alat

Tabel 3.3 Alat

No.	Alat-alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Oven	Merek National	1 unit
2.	Neraca timbangan analitik	Merek AND	1 unit
3.	Beker glass, gelas ukur 1 L	Merek Pirex	5 unit
4.	Tempat minum mencit	-	5 unit
5.	Kandang mencit	-	5 unit
6.	Magnetic stirrer	-	1 unit
7.	Baskom besar	-	2 buah
8.	Kertas Label	-	2 lbr

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

b. Spesifikasi Bahan

Tabel 3.4 Daftar Bahan

No.	Bahan	Jumlah
1.	Mencit jantan galur Swiss Webster	25 ekor
2.	Bekatul	500 g
3.	Lemak daging sapi	250 g
4	Pakan mencit	20 kg
5	Sekam	1 karung
6	Aquadest	8 L
7.	Air	30 L

F. Prosedur Kerja

1. Tahap Persiapan

a. Pembuatan Minyak Bekatul

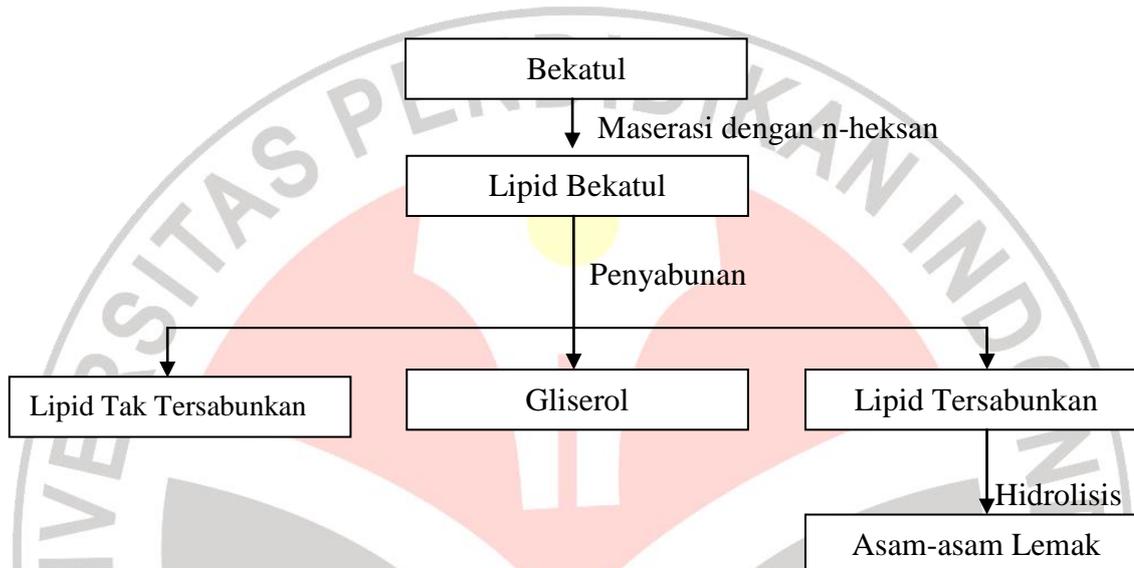
Objek atau bahan pembuatan minyak bekatul adalah bekatul yang berasal dari Baleendah, Jawa Barat. Lokasi pembuatan minyak bekatul bertempat di Laboratorium *Reaserch*, Laboratorium Kimia Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia UPI. Alat-alat yang digunakan adalah set alat maserasi, alat-alat gelas standar kimia organik dan biokimia, magnetik stirrer, batu didih, neraca analitik, pemanas listrik, dan oven

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

listrik. Bahan kimia yang digunakan terdiri dari n-heksana sebagai pelarut.

Berikut alur ekstraksi dan karakterisasi minyak bekatul:



1) Ekstraksi Lipid Bekatul

Ekstraksi lipid dari bekatul dilakukan dengan teknik ekstraksi padat-cair dengan maserasi n-heksan. Sebanyak 2 kg bekatul ditempatkan dalam satu wadah dan direndam dengan n-heksan. Ekstrak hasil maserasi disaring menggunakan corong Buchner, lalu filtratnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* dalam keadaan vakum. Ekstrak pekat ini berupa minyak yang kemudian ditimbang sehingga diperoleh massanya.

2). Pemisahan Fraksi Lipid Tersabunkan

a). Penyabunan

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

Setiap 5 gram minyak bekatul disabunkan dengan menambahkan 50 ml larutan NaOH 15% dalam etanol. Campuran dipanaskan pada suhu 50°C sambil diaduk menggunakan magnetik stirrer selama 30 menit. Untuk pembuatan larutan NaOH dalam etanol yaitu 15 gram NaOH padat dilarutkan dalam 100 ml etanol 95%. Minyak tersabunkan yang terbentuk kemudian dipisahkan dari minyak tak tersabunkan dan ditampung dalam wadah lain.

b). Hidrolisis Fraksi Tersabunkan oleh Asam

Lipid tersabunkan dalam gelas kimia ditambah larutan HCl 6 N sebanyak 300 ml. Penambahan larutan HCl dilakukan sedikit demi sedikit sambil diaduk menggunakan magnetic stirrer selama 30 menit.

b. Aklimatisasi Mencit

Pemeliharaan dilakukan di green house Kebun Botani Jurusan Pendidikan Biologi UPI. Sebelum diberi perlakuan, mencit-mencit diaklimatisasi pada suhu ruangan rata-rata 23-26°C, proses ini dilakukan selama seminggu dengan tujuan agar hewan uji teradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Mencit-mencit dikelompokkan dalam kandang berukuran 30 cm x 20 cm x 12 cm berdasarkan perlakuan yang diberikan dengan kepadatan lima ekor tiap kandang.

Selama aklimatisasi, mencit-mencit tersebut hanya diberi pakan biasa dan air minum secara ad libitum. Makanan diberikan 5 gram/ekor setiap harinya dan botol minum dibersihkan setiap tiga hari sekali dan diganti airnya atau diisi ulang dengan air apabila air sudah habis. Aklimatisasi biasanya digunakan untuk menghadapi faktor-faktor yang terjadi dalam lingkungan agar lebih terkontrol di laboratorium.

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

c. 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 beratnya mencapai satu kg lalu ditambah air sampai homogen sehingga adonan dapat dibentuk pellet. Setelah itu, dikeringkan menggunakan oven.

c. Penentuan dosis

Pada penelitian ini, bahan yang diuji adalah bekatul. Konsentrasi minyak bekatul yang digunakan adalah 0ml, 0,25ml, 0,5ml, 0,75ml, dan 1ml dari banyaknya pakan yang diberikan. Penentuan dosis ini berdasarkan penelitian sebelumnya (Kahlon, 1996).

Tabel 3.5. Penentuan Dosis

No.	Kelompok Perlakuan	Jumlah Bekatul (ml/ekor/hari)
1	Kontrol	0
2	I	0,25
3	II	0,5
4	III	0,75
5	IV	1

Bekatul disaring kemudian ditimbang sesuai perhitungan diatas. Bekatul dan pakan standar dicampur dengan air hingga menjadi adonan. Adonan ini kemudian **Rangga Banyu Oktara, 2012**

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

digiling menggunakan penggilingan daging hingga membentuk pelet. Pelet kemudian dikeringkan menggunakan oven.

2. Tahap Perlakuan

a. Pemberian Pakan Berlemak

Pemberian pakan berlemak dilakukan selama seminggu, mencit diberi makan berlemak dengan komposisi perbandingan pakan dan lemak sapi 1:4 dan minum setiap hari seperti biasa.

b. Pemberian minyak Bekatul

Perlakuan dilakukan selama dua minggu, mencit diberi makan dan minum seperti biasa. Pemberian dosis dilakukan secara oral dengan metode feeding, yaitu dengan cara mencampurkan bekatul yang telah ditentukan dosisnya kedalam 5 gram pakan untuk tiap ekornya. Berikut tabel pemberian dosis bekatul.

Tabel 3.6. Pemberian minyak Bekatul

Nama Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus
Kontrol	0 ml minyakbekatul/hari	5 ekor
I	0,25 ml minyakbekatul / hari	5 ekor
II	0.50 ml minyakbekatul / hari	5 ekor

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

III	0,75 ml minyakbekatul / hari	5 ekor
IV	1 ml minyakbekatul / hari	5 ekor

c. Pengukuran Berat Badan

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

G. Analisis Data

Data yang diperoleh sebelumnya dilakukan uji kenormalan menggunakan uji Kolomogorov-Smirnov dan dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan uji Leven's dengan menggunakan program statistik SPSS 17. Selanjutnya untuk melihat perbedaan antar perlakuan dilakukan uji lanjut Duncan dengan program Statistik Analysis System.

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

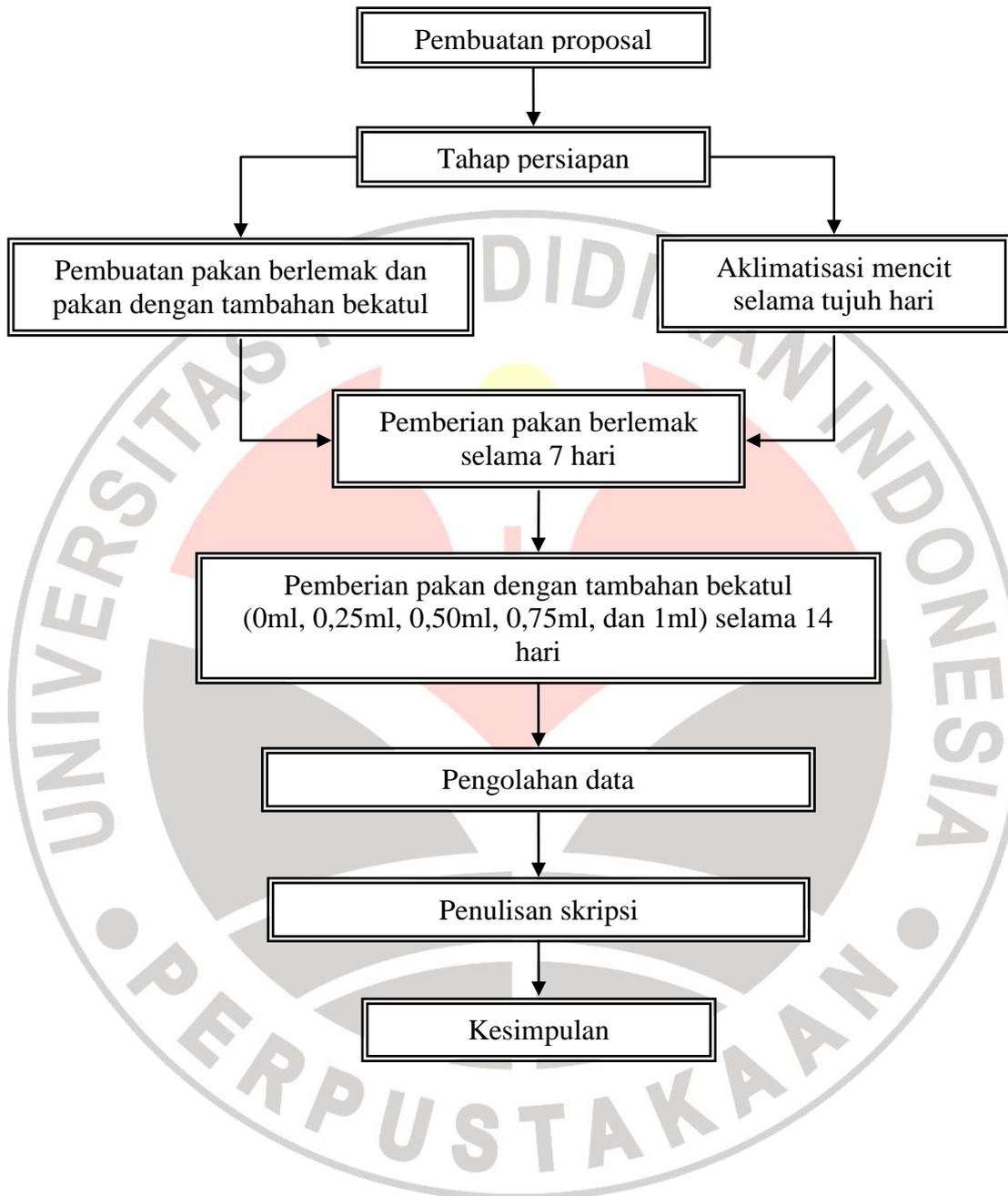
H. Alur Penelitian



Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu



Gambar 3.1. Diagram Alur Penelitian

Rangga Banyu Oktara, 2012

Pengaruh Pemberian Pakan Minyak Bekatul Terhadap Berat Badan Pada Mencit (*Mus Musculus*) Galur Swiss Webster Betina