

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen karena dalam penelitian ini terdapat pengendalian perlakuan untuk memanipulasi objek penelitian disertai dengan adanya kontrol terhadap variabel tertentu sebagai pembanding (Nazir, 2003).

B. Desain Penelitian

Desain penelitian yang dilakukan menggunakan metode Rancang Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang dilakukan meliputi pengujian pengaruh bubuk kunyit hitam (*Curcuma caesia*) pada mencit (*Mus musculus*) *L Swiss Webster* jantan yang mengalami hiperglikemia. Penentuan dosis yang digunakan berdasarkan rumus konversi Laurence & Bacharach bubuk kunyit hitam (*Curcuma caesia*) yang digunakan adalah 15 mg/30 g BB/hari, 22,5 mg/30 g BB/hari dan 30 mg/30 g BB/hari.

Menurut Purawisastra (2001), banyaknya pengulangan untuk setiap kelompok menggunakan rumus Gomez and Gomez (1995) :

$$\begin{aligned}(n-1)(t-1) &\geq 15 \\(n-1)(5-1) &\geq 15 \\4n-4 &\geq 15 \\4n &\geq 19 \\n &\geq 4,75 = 5\end{aligned}$$

Keterangan : n = besar sampel tiap kelompok

t = jumlah kelompok

Setiap mencit (*Mus musculus*) yang akan diberi perlakuan sebelumnya diberi nomor, sehingga dapat dijadikan penanda setiap mencit (*Mus musculus*). Penempatan mencit (*Mus musculus*) untuk perlakuan dilakukan secara random.

Setelah dirandom maka didapatkan penempatan perlakuan pada setiap kandang sebagai berikut :

Tabel. 3.1. Penempatan mencit (*Mus musculus*) pada setiap kelompok

Kandang	Dosis Pemberian <i>Curcuma caesia</i> (mg)	Nomor Mencit				
		17	5	7	13	8
A	0	17	5	7	13	8
B	0	19	23	15	10	16
C	15	24	6	20	12	1
D	22,5	4	25	21	11	9
E	30	14	3	22	2	18

Keterangan :

- A :** Kontrol positif, kelompok mencit (*Mus musculus*) diberi pakan biasa, pakan berkarbohidrat tinggi dan tanpa pemberian bubuk kunyit hitam.
- B :** Kontrol negatif, kelompok mencit (*Mus musculus*) diberi pakan biasa tanpa pakan berkarbohidrat tinggi dan bubuk kunyit hitam.
- C :** Kelompok dosis 1, kelompok mencit (*Mus musculus*) diberi pakan biasa, pakan berkarbohidrat tinggi dan diberi bubuk kunyit hitam dengan dosis 15mg/30 g BB/hari.
- D :** Kelompok dosis 2, kelompok mencit (*Mus musculus*) diberi pakan biasa, pakan berkarbohidrat tinggi dan diberi bubuk kunyit hitam dengan dosis 22,5mg/30 g BB/hari
- E :** Kelompok dosis 3, kelompok mencit (*Mus musculus*) diberi pakan biasa, pakan berkarbohidrat tinggi dan diberi bubuk kunyit hitam dengan dosis 30 mg/30 g BB/hari.

C. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* jantan yang telah berumur empat bulan. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* jantan yang mengalami hiperglikemia dengan kisaran berat badan 30- 45 g yang diberi ekstrak kunyit hitam.

D. Lokasi Penelitian

Pembuatan pakan berkarbohidrat tinggi dilakukan di Laboratorium Struktur Hewan FPMIPA UPI. Pemeliharaan dan pengukuran kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus L.*) galur *Swiss Webster* jantan dilakukan di rumah mencit kebun Botani FPMIPA UPI.

E. Langkah Kerja

1. Tahap persiapan

a. Pembuatan pakan berkarbohidrat tinggi

Bahan utama pakan berkarbohidrat tinggi ini adalah singkong yang merupakan pangan sumber energi yang baik (Harper *et al*, 1987). Pembuatan pakan berkarbohidrat tinggi sebanyak 1 kg dibutuhkan singkong sebanyak 635 g, singkong dikupas dan ditimbang menggunakan timbangan kemudian dicuci dan diparut. Hasil parutan singkong kemudian direbus agar menjadi lebih lumat dan halus (Komunikasi Langsung Hernawati, 2014).

Singkong yang sudah lumat dan lembut tersebut kemudian dicampur dengan 113 g tepung jagung yang merupakan sumber karbohidrat tambahan, 165 g tepung ikan yang merupakan sumber protein hewani, 202 g bungkil kedelai yang merupakan sumber protein nabati dan campuran premix yang dijadikan sebagai sumber nutrisi sebanyak 10 g, garam yang merupakan sumber mineral sebanyak 20 g dan CaCO_3 yang dijadikan sumber nutrisi tambahan sebanyak 10 g. Bahan tersebut kemudian dicampur dalam loyang sehingga membentuk adonan yang kalis dan ditambahkan 30 ml minyak kelapa. Adonan yang didapatkan dikepal-kepal dan ditimbang per 15 g. Hasil adonan tersebut kemudian dikeringkan menggunakan oven dan diberikan mencit secara *ad libitum* (Komunikasi Langsung Hernawati, 2014).

b. Pembuatan bubuk kunyit hitam (*Curcuma caesia*)

Kunyit hitam yang berasal dari sumber yang sama yaitu BALITRO, pertama dicuci dengan air mengalir agar bebas dari kontaminasi. Kunyit hitam dipotong kecil dan tipis kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. Kunyit hitam (*Curcuma caesia*) yang telah benar-benar kering kemudian dihaluskan dengan blender sampai halus (ASTA, 1998).

2. Tahap aklimasi mencit

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* jantan. Mencit (*Mus musculus*) yang digunakan adalah mencit yang sehat dengan memperhatikan kejernihan mata, rambut yang bersih dan tidak berdiri.

Hewan uji ditempatkan di rumah mencit kebun Botani FPMIPA UPI. Sebelum mencit (*Mus musculus*) diberi perlakuan bubuk kunyit hitam. Mencit (*Mus musculus*) diaklimasi selama 15 hari dengan tujuan mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru dengan baik dalam ruangan yang memiliki pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap dengan suhu ruangan berkisar 23-26 °C dengan tujuan hewan uji dapat beradaptasi 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 lima ekor setiap kandang.

Selama masa aklimasi, mencit (*Mus musculus*) dalam kelompok kontrol negatif diberi pakan biasa sebanyak 15 g tiap ekor/hari dan kelompok kontrol positif dan perlakuan diberi pakan tambahan berkarbohidrat tinggi sebanyak 15-30 g /hari dengan tujuan untuk menaikkan kadar glukosa darah sehingga mencit mengalami hiperglikemia dan diberi minum berasal dari air ledeng.

Selama masa aklimasi berat badan mencit (*Mus musculus*) ditimbang setiap hari. Pada akhir masa aklimasi kadar glukosa darah mencit yang

sebelumnya telah dipuaskan diukur menggunakan alat glukometer (Gambar 3.2) untuk mengetahui kadar glukosa darah awal mencit (*Mus musculus*).



Gambar 3.2 Glukometer
Sumber : Dokumentasi pribadi, (2014)

3. Tahap Perlakuan

Pemberian bubuk kunyit hitam dilaksanakan selama 30 hari. Kelompok kontrol negatif setiap hari diberi pakan biasa dan tidak diberi pakan berkarbohidrat tinggi maupun bubuk kunyit hitam namun tetap diberi minum. Kelompok kontrol positif pada setiap harinya diberi pakan biasa dan tambahan pakan berkarbohidrat tinggi, namun tidak diberi bubuk kunyit hitam, sedangkan untuk kelompok perlakuan diberikan pakan biasa, pakan berkarbohidrat tinggi secara *ad libitum* dan bubuk kunyit hitam sesuai dengan kelompok dosis yang diberikan secara oral dengan alat *gavage*.

Selama masa perlakuan berat badan mencit (*Mus musculus*) pada setiap kelompok ditimbang menggunakan neraca *Ohaus*. Pada akhir masa perlakuan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) diukur kembali

menggunakan alat glukometer untuk mengetahui kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) setelah pemberian bubuk kunyit hitam.

4. Tahap Pengukuran Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*)

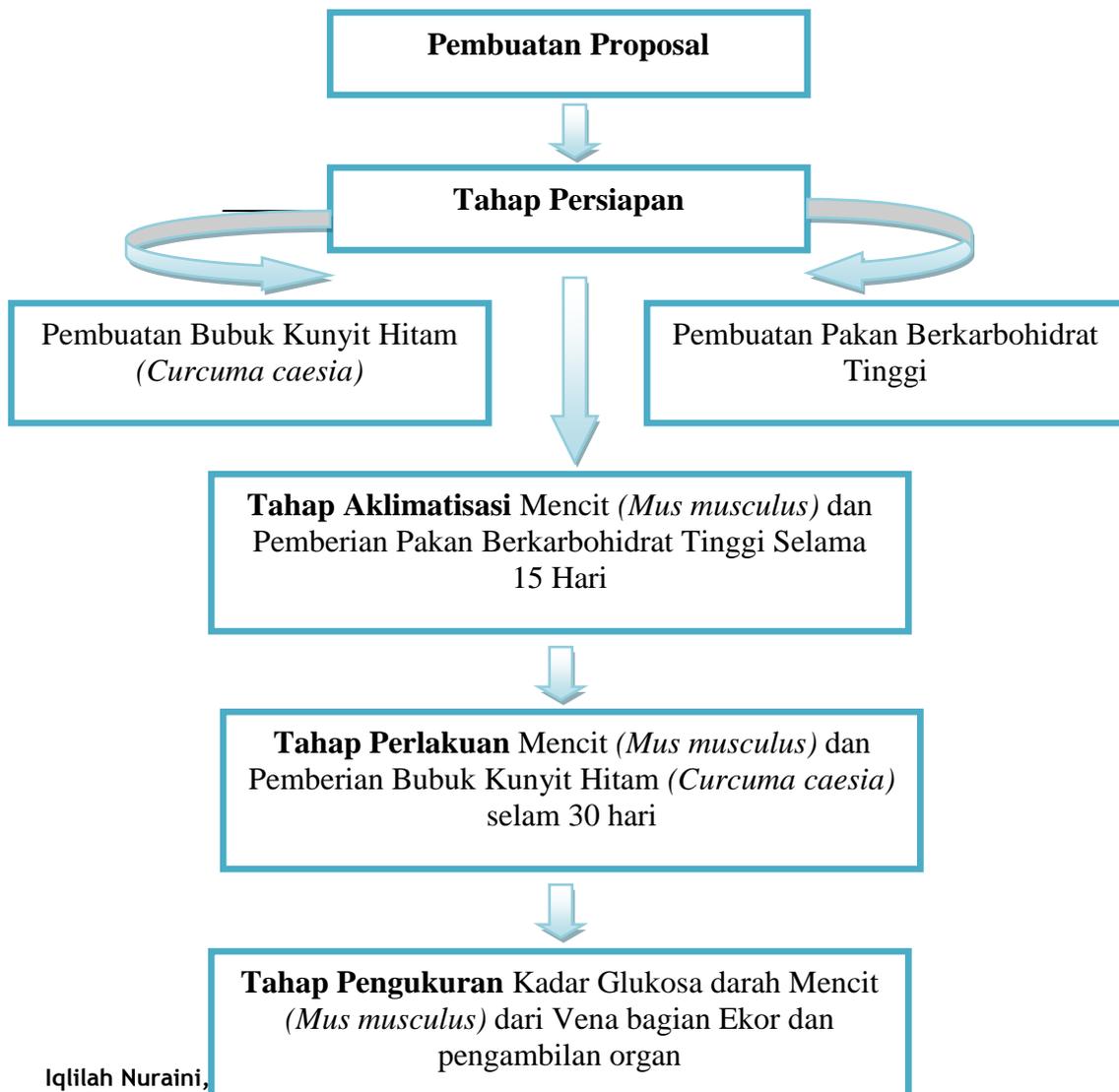
Pada mencit yang akan diukur kadar glukosa darah sebelumnya harus dipuaskan, kemudian darah diambil dari bagian vena pada ekor menggunakan lancet. Darah yang keluar disentuhkan pada *test strip* yang terpasang pada alat glukometer dan dibiarkan alat mengukur kadar glukosa darah secara otomatis. Angka yang tampil pada layar dicatat sebagai hasil dari pengukuran (mg/dL).

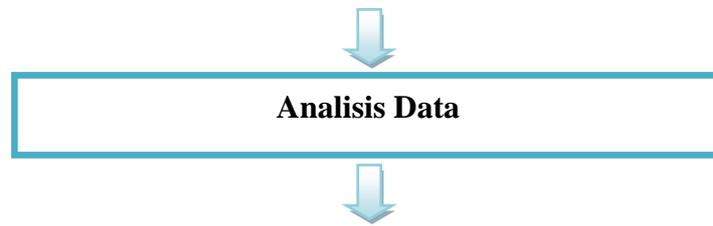
Beberapa penelitian menilai keakuratan pemeriksaan kadar glukosa darah dengan glukometer. Pemeriksaan ini ternyata cukup baik dengan sensitivitas 70 % dan spesivitas 90%. Weitsgsser dkk (2007), mendapatkan bahwa glucometer memiliki keakuratan yang cukup baik

F. Analisis Data

Data yang didapat dianalisis dan diolah menggunakan program SPSS 16.0. Untuk mengetahui normal tidaknya distribusi data maka dilakukan uji Normalitas *Shapiro-Walk* dan *Kolmogrov-smirnov*. Bila hasil signifikan $p > 0.05$ maka data terdistribusi normal. Dilanjutkan Uji One-Way Anova untuk melihat beda rata-rata secara umum semua kelompok. Uji Post Hoc (Tukey) digunakan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, terdapat perbedaan yang bermakna ketika nilai $p < 0.05$ pada One-Way Anova. Uji T dilakukan untuk mengetahui perbedaan rata-rata antar kelompok uji, terdapat perbedaan yang bermakna ketika nilai $p < 0.05$.

G. Alur Penelitian





Gambar 3.2. Bagan alur penelitian