

## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### A. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode eksperimen kuantitatif. Penelitian eksperimen merupakan penelitian dimana variabel yang hendak diteliti (variabel terikat) kehadirannya sengaja ditimbulkan dengan memanipulasi menggunakan perlakuan sesuai dengan kebutuhan (Nazir, 2003). Ada pun yang menjadi objek penelitian adalah pengaruh terapi maserat *Aloe vera* terhadap kadar gula darah *Mus musculus* L. jantan yang diinduksi aloksan.

### B. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), dimana terdapat mencit kelompok perlakuan dan mencit kontrol dengan faktor lingkungan yang homogen (Nazir, 2003). Kelompok perlakuan terdiri dari tiga kelas. Masing-masing kelas diberi perlakuan dengan pemberian maserat *Aloe vera* secara *gavage* sebanyak 0,70 ml/100 gram BB/ hari ; 1,05 ml/100 gram BB/ hari.; 1,40ml/100 gram BB/hari. Pembanding dari kelompok perlakuan adalah kelompok kontrol yang terdiri dari kontrol netral yaitu kelompok mencit yang hanya diberi akuades setiap harinya dan kontrol positif yaitu kelompok perlakuan yang diinduksi Aloksan tanpa diberi maserat *Aloe vera*.

Banyaknya pengulangan yang dilakukan (replikasi) untuk setiap kelompok perlakuan diperoleh dari Federer, 1977 yaitu:

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$n \geq \frac{19}{4}$$

$$n \geq 4,75 \sim 5 \text{ ekor}$$

Keterangan: T = jumlah perlakuan

n = jumlah replikasi

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka jumlah pengulangan yang dilakukan untuk setiap perlakuan ialah  $n \geq 5$ , untuk tindakan preventif dalam penelitian ini digunakan 6 ekor mencit uji. Mencit yang digunakan dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Pengacakan dilakukan untuk menghilangkan bias (Sudjana, 2002).

**Tabel 3.1** Hasil Pengocokan Mencit dan Jenis Perlakuan

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

Keterangan :

A : Kontrol Netral

B : Kontrol Positif

C : Diberi maserat daun *Aloe vera* dengan dosis 0,70ml/100grBB/hari

D : Diberi maserat daun *Aloe vera* dengan dosis 1,05ml/100grBB/hari

E : Diberi maserat daun *Aloe vera* dengan dosis 1,40ml/100grBB/hari

1,2,3,... : Nomor mencit

Hewan percobaan didapatkan pertama kali saat berumur 3 bulan dan sebelum ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan diaklimatisasi selama 30 hari hingga usianya mencapai 4 bulan. Penimbangan berat badan dilakukan selama aklimasi dan selama perlakuan. Parameter yang diukur adalah kadar gula darah hewan perlakuan yang diuji dengan menggunakan Glukotest. Masing-masing perlakuan akan diulang sebanyak lima kali. Frekuensi pemberian maserat dilakukan sebanyak satu kali setiap harinya pada sore hari. Setelah 30 hari perlakuan, semua mencit diambil sample darahnya melalui vena ekor.

### C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur *Swiss Webster* sedangkan sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 0,08 µl darah mencit (*Mus musculus L.*) jantan galur *Swiss Webster* usia empat bulan yang telah diberi perlakuan.

### D. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan selama ± 3 bulan di laboratorium Fisiologi dan Struktur Hewan Jurusan Pendidikan Biologi, Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pendidikan Indonesia dan kandang mencit pribadi di daerah Geger Kalong, Bandung.

### E. Variable Penelitian

Terdapat beberapa variabel yang ada dalam penelitian ini. Yakni variabel kontrol, variabel bebas dan variabel terikat. Berikut ialah penjabarannya:

#### 1. Variabel Kontrol

Suhu ruangan berkisar antara 23<sup>0</sup>C- 27<sup>0</sup>C. Makanan yang diberikan berupa PC 551 dan minum berupa air matang dengan cara *ad libitum*. Pencahayaan dilakukan selama 12 jam/hari dari pukul 06.00 WIB hingga 18.00 WIB.

#### 2. Variabel Bebas

Dosis maserat *Aloe vera* yang diberikan sebanyak 0,70 ml/100 gram BB/ hari; 1,05 ml/100 gram BB/ hari; 1,40 ml/100 gram BB/ hari secara *gavage*.

#### 3. Variabel Terikat

Konsentrasi gula darah yang ada dalam 0,08µl volume darah *Mus musculus L* hasil perlakuan.

## F. Prosedur Penelitian

Dalam penelitian ini ada beberapa tahap yang dilakukan dan dibagi ke dalam 3 kelompok besar yaitu: tahap pra-penelitian, tahap penelitian dan tahap pasca penelitian.

### 1. Tahap Pra-Penelitian

#### a. Penyiapan Alat dan Bahan

**Tabel 3.2** Alat-alat Penelitian

No.	Alat	Jumlah	Keterangan
1.	Kandang Hewan	5 buah	28 cm x 30 cm x 12 cm
2.	Tempat Minum Mencit	5 buah	-
3.	Thermometer	1 buah	
4.	Higrometer	1 buah	
5.	Spidol Marker	3 buah	Merek Faber Casttle
6.	Pisau/ Gunting	1 buah	Merk BRAUN
7.	Timbangan <i>Dial-O-Gram</i>	1 buah	Merk OHAUS
8.	Glucometer	1 buah	Merk Nes-co
9.	Beaker Glass 500 mL	3 buah	Pyrex
10.	Gelas Ukur 500 mL	1 buah	Pyrex
11.	Lemari Es/ <i>Freezer</i>	1 buah	Merk LG
12.	Suntikan <i>Gavage</i>	9 buah	
13.	<i>Syringe</i>	50 buah	Merk Syring/981
14.	Batang Pengaduk	3 buah	
15.	<i>Spektrofotometer</i>	1 buah	
16.	<i>GCMS</i>	1 buah	OP-2010 Ultra
17.	Sarung tangan	3 buah	-
18.	Tissue	1 buah	Merk Nice
19.	Lap	3 buah	-

**Tabel 3.3** Bahan-bahan Penelitian

No	Nama bahan	Jumlah
1	Mencit putih jantan 20-30 gr	30 ekor
2	Daun tanaman <i>Aloe vera</i>	3 kg
3	Aquadest	500mL
4	Alkohol	5 L
6	Bubuk Aloksan	3 mg
7	Pakan Mencit	60 kg

#### b. Penyiapan Hewan Percobaan

Hewan yang digunakan adalah 30 ekor mencit (*Mus musculus* L.) jantan albino dengan berat sekitar (20-30 gr) yang dipelihara dalam 5 kandang yang terbuat dari bak plastik berukuran 28 cm x 30 cm x 12 cm dengan ditutupi kawat pada bagian atas. Keadaan selama aklimasi dan perlakuan dikontrol pada kisaran lingkungan yang tetap. Kondisi berat badan selama aklimasi dan perlakuan diukur setiap hari.

#### c. Pengambilan Sampel, Diterminasi dan Seleksi Tanaman

Pengambilan sampel dilakukan dari tempat yang sama yaitu daun lidah buaya yang berasal dari perkebunan lidah buaya di Subang, Jawa Barat. Diterminasi didasarkan pada Buku Klasifikasi Conquist (1981), tujuan determinasi tanaman lidah buaya adalah untuk memastikan dan meyakinkan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman *Aloe vera* dilanjutkan dengan seleksi daun yang segar dan tidak terserang penyakit.

#### d. Pembuatan Larutan Maserat Sederhana *Aloe vera*

Pengambilan maserat tanaman dilakukan dengan metode maserasi atau perendaman bersumber dari Pachawan *et al.*, (2008) dengan beberapa modifikasi. Maserat komponen bioaktif tanaman *Aloe vera* diambil menggunakan pelarut alkohol 70% (Teknis). Tanaman direndam pada pelarut dengan perbandingan 1:2 (w/v), pada penelitian ini digunakan 500 gram potongan gel

yang telah dianginkan selama 48 jam untuk menghilangkan eksudatnya dan dilarutkan dalam 1 L alkohol 70%. Perendaman dilakukan selama 72 jam untuk melarutkan komponen bioaktifnya kemudian dilakukan penyaringan bertahap untuk memisahkan larutan dengan ampas potongan tanaman. Terakhir dilakukan evaporasi alkohol pada suhu ruang untuk menghasilkan maserat dalam akuades. Hasil maserat akhir diuji kandungannya dengan menggunakan GCMS OP-2010 Ultra yang dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik UPI Bandung.

## **2. Tahap Penelitian**

### **a. Induksi Aloksan untuk Menciptakan Keadaan Hiperglikemia**

Aloksan merupakan derivat pirimidin sederhana yang merusak sel beta pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Aloksan yang didapatkan dalam bentuk serbuk 10 gr yang kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 1L. Dalam percobaan ini mencit diinduksi aloksan sebanyak 65 ml/kg BB secara intravena melalui ekor (Nugrahani, 2008).

Hewan percobaan yang telah diadaptasi selama 30 hari diinduksi dengan aloksan 65 ml/kg secara intravena melalui vena caudalis. Pemberian aloksan dilakukan satu kali dan untuk melihat pengaruhnya dilakukan optimasi Aloksan selama 72 jam (Simanjuntak *et al.*, 2002).

### **b. Perlakuan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan dibagi menjadi 5 kelompok :

- 1) Kelompok pertama merupakan kelompok kontrol netral yang tidak diberi perlakuan apapun.
- 2) Kelompok kedua adalah kelompok kontrol positif yaitu hewan yang diberi induksi Aloksan namun tidak diberi maserat *Aloe vera*.
- 3) Kelompok ketiga adalah kelompok hewan hasil induksi Aloksan yang diberi maserat lidah buaya dengan 0,70ml/100 gram BB gavage setiap hari.
- 4) Kelompok keempat adalah kelompok hewan hasil induksi Aloksan yang diberi maserat lidah buaya dengan 1,05ml/100 gram BB gavage setiap hari.

- 5) Kelompok kelima adalah kelompok hewan hasil induksi Aloksan yang diberi maserat lidah buaya dengan 1,40ml/100 gram BB gavage setiap hari.

Penentuan dosis didasarkan pada penelitian yang pernah dilakukan pada tikus putih dengan nilai konversi tikus putih 200 gram ke mencit 20 gram menggunakan tabel konversi Laurence & Bacharach (1964) (lampiran 6).

### c. Pengambilan Darah dan Pengukuran Kadar Glukosa

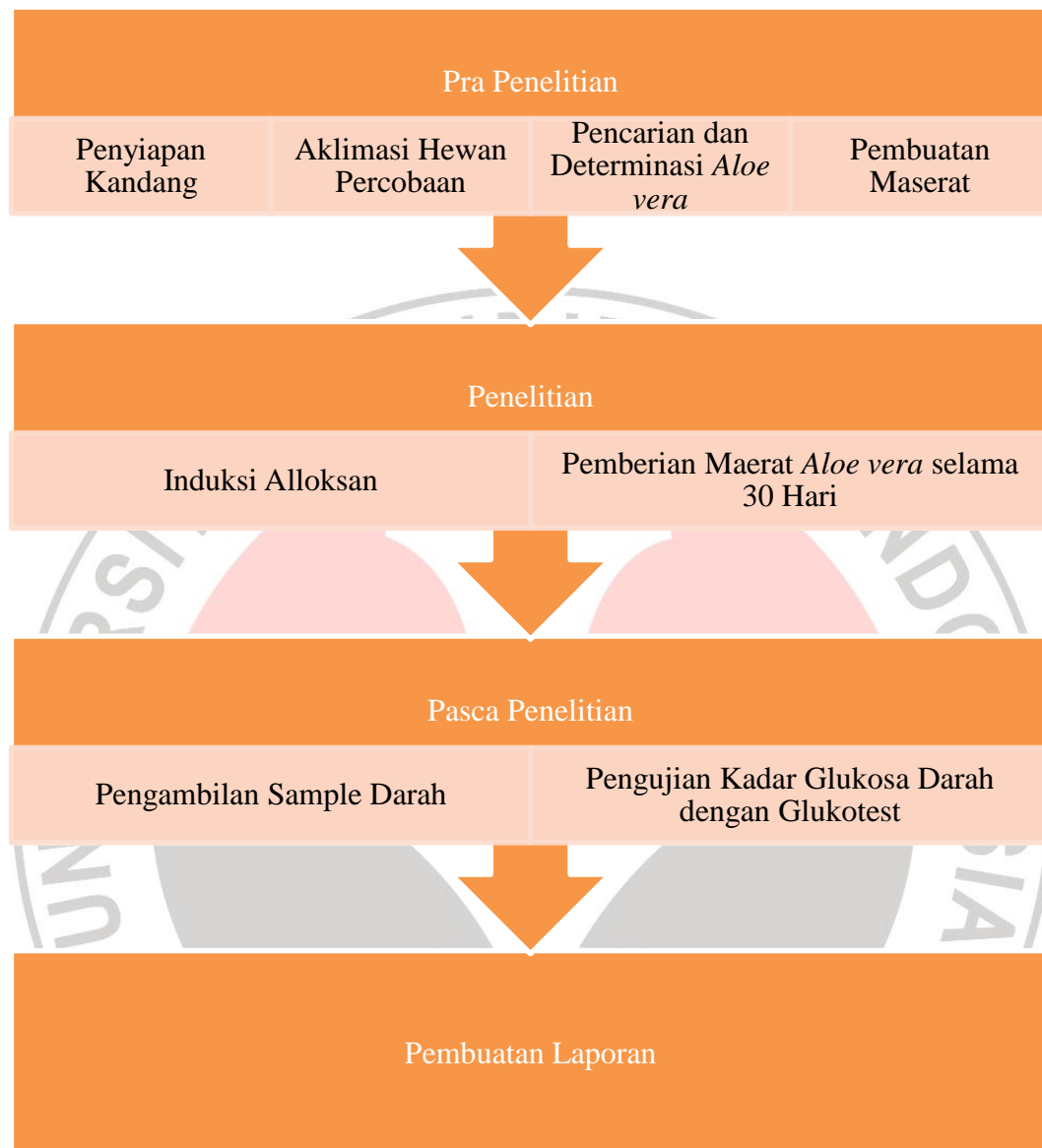
Dilakukan perlakuan selama 30 hari dalam kondisi yang terkontrol, hewan percobaan diambil darahnya dengan membuat perlukaan di bagian vena caudalis menggunakan pisau bedah lalu darah yang keluar dari perlukaan tersebut dimasukkan ke dalam strip pengukuran yang secara otomatis mengambil sample darah sebanyak 0,08  $\mu$ l untuk satu kali uji. Pengukuran dilanjutkan dengan melakukan pembacaan skala yang terdapat di layar alat glukotest.

## 3. Tahap Pasca-penelitian

### a. Analisis Data

Data yang didapatkan diuji homogenitas dan normalitasnya. Uji normalitas menggunakan uji *Test of Normality (Kolmogorov-Smirnov)* dan uji homogenitas menggunakan *Test of Homogeneity of Variances (Levene Statistic)*. Data yang terdistribusi normal dan bervarian homogen dianalisis secara statistik parametrik yaitu, analisis varian (*ANOVA*). Data yang memiliki perbedaan signifikan untuk setiap perlakuan kemudian diuji lebih lanjut dengan uji wilayah perbandingan berganda *LSD* dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ) sedangkan data yang tidak terdistribusi normal atau tidak homogen (data non parametrik) akan diuji dengan analisis *Kruskall-Wallis*. Data yang tidak berbeda signifikan tidak diuji lebih lanjut dengan uji perbandingan berganda. Analisis data menggunakan *Software SPSS 18 for Windows*.

#### 4. Alur Penelitian



**Gambar 3.1** Bagan Alur Penelitian