

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian dasar dengan metode eksperimental. Adapun yang menjadi objek penelitian adalah mengenai pengaruh pemberian serat dari buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) terhadap perbaikan kadar lipid darah pada mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster Jantan hiperlipidemia yang diinduksi dengan pakan tambahan lemak.

B. Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL), dimana terdapat mencit perlakuan dan mencit kontrol dengan faktor lingkungan yang homogen (Nazir, 2003). Desain penelitian ini digunakan untuk mengelompokkan mencit yang akan digunakan terbagi ke dalam lima kelompok. Kelompok perlakuan terdiri dari tiga kelas masing-masing kelas diberi perlakuan dengan pemberian serat dari buah nanas dengan dosis konsentrasi 15%/hari; 30%/hari; dan 45%/hari yang dicampurkan dalam pakan diet tinggi lemak sebanyak 100 gram serta kelompok mencit kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif pemberian pakan dengan diet lemak tinggi tanpa penambahan serat buah nanas, sedangkan kontrol negatif dengan pemberian pakan tidak berlemak dan tidak ditambahkan serat buah nanas dan diberi minum setiap harinya.

Banyaknya pengulangan yang dilakukan sebanyak lima kali untuk setiap kelompok perlakuan diperoleh dari Gomez & Gomez (1995), yaitu:

$$t(r - 1) > 20 \quad \text{keterangan : } t = \textit{perlakuan}$$

$$5(r - 1) > 20 \quad \textit{r} = \textit{ulangan}$$

$$5r - 5 > 20$$

$$5r > 20 + 5$$

$$5r > 25$$

$$r > 25 \div 5$$

$r > 5$

Berdasarkan perhitungan di atas, jumlah pengulangan yang akan dilakukan untuk setiap perlakuan yaitu sebanyak lima kali. Mencit yang digunakan sebanyak 25 ekor yang dibagi menjadi lima perlakuan yaitu tiga perlakuan dengan pemberian serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr), satu kelompok kontrol positif, dan satu kelompok kontrol negatif. Pola penempatan mencit untuk perlakuan dapat dilihat pada (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Penempatan mencit (*Mus musculus* L.) berdasarkan setiap perlakuan

Kandang	Pemberian dosis konsentrasi <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr (%)	Nomor mencit				
		1	2	3	4	5
A	0	1	2	3	4	5
B	0	6	7	8	9	10
C	15	11	12	13	14	15
D	30	16	17	18	19	20
E	45	21	22	23	24	25

Keterangan:

- A : Kontrol Negatif, kelompok mencit dengan pemberian pakan biasa lemak dan tanpa pemberian serat buah nanas.
- B : Kontrol Positif, kelompok mencit dengan pemberian pakan diet tinggi lemak dan tanpa pemberian serat buah nanas.
- C : Diberi serat buah nanas dengan dosis konsentrasi 15%/hari dengan pakan diet tinggi lemak.
- D : Diberi serat buah nanas dengan dosis konsentrasi 30%/hari dengan pakan diet tinggi lemak.
- E : Diberi serat buah nanas dengan dosis konsentrasi 45%/hari dengan pakan diet tinggi lemak.

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini, sebelum diberi perlakuan dilakukan proses aklimatisasi terlebih dahulu dalam tujuh hari. Keadaan selama

Annisa Fajherin, 2015

PENGARUH SERAT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr) TERHADAP PERBAIKAN KADAR LIPID SERUM DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SWISS WEBSTER JANTAN HIPERLIPIDEMIA
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

aklimatisasi dan perlakuan dikontrol pada kisaran lingkungan yang tetap, yaitu pada ruangan yang memiliki kondisi pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap dengan suhu ruangan berkisar 23°C-27°C dengan tujuan hewan uji dapat beradaptasi sesuai waktu biologis hewan tersebut serta kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Hal ini dilakukan untuk mengurangi tingkat stress selama perjalanan. Setelah itu, dilakukan penimbangan berat badan awal untuk mengetahui rentang berat badan mencit yang akan digunakan dalam penelitian.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster jantan hyperlipidemia. Sedangkan sampel pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster jantan hiperlipidemia sebanyak 25 ekor yang diberikan serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).

D. Waktu dan Lokasi Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di Kebun Botani UPI digunakan sebagai kandang untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan selama penelitian serta di beberapa laboratorium yang berbeda karena perbedaan alat yang ada di masing-masing laboratorium. Laboratorium Mikrobiologi FPMIPA UPI digunakan untuk pengujian sampel kadar lipid darah. Penelitian ini dimulai dari bulan Maret 2015 sampai April 2015.

E. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahapan yang dibagi ke dalam tiga kelompok besar, yaitu: tahap pra-penelitian, tahap penelitian dan tahap pasca penelitian.

1. Tahap pra-penelitian

a. Persiapan Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat dan bahan yang diperlukan untuk proses pemeliharaan hewan percobaan, pembuatan serat buah nanas, pemberian serat buah nanas pada hewan percobaan selama

perlakuan. Dalam proses pemeliharaan hewan percobaan, mencit dipelihara dalam kandang bak plastik dengan ukuran 28 cm x 30 cm x 12 cm beserta dengan penutup kawat pada bagian atasnya. Kandang yang dibutuhkan sebanyak lima kandang berisi lima ekor mencit jantan. Mencit yang dibutuhkan adalah 25 ekor mencit jantan.

Pembuatan serat buah nanas dibutuhkan 110 kwintal nanas kemudian dikeringkan dan dihaluskan dengan menggunakan blender. Pemberian serat buah nanas dilakukan dengan mencampur pakan diet tinggi lemak dengan nanas yang sudah kering dan dihaluskan dan ditimbang dengan timbangan *Dial-O-Gram* sebanyak 100 gram per harinya.

b. Pembuatan Serat Buah Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr)

Pembuatan serat *Ananas comosus* (L.) Merr dilakukan dengan metode yang sangat sederhana, yaitu dengan mensortir bahan nanas segar kemudian dikupas kulitnya lalu dicuci dengan bersih. Buah nanas yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebanyak 110 kwintal. Kemudian nanas dipotong menjadi bagian yang lebih kecil dan tipis kemudian diperas sari buahnya. Selanjutnya ampas nanas yang sudah diperas sarinya lalu dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 50°-60° C selama kurang lebih tiga sampai enam jam. Serat nanas yang telah kering kemudian dihaluskan hingga menjadi bubuk dengan menggunakan blender.

c. Persiapan Hewan Penelitian

Hewan yang digunakan adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus* L.) Swiss Webster jantan dengan rentang berat badan 31 - 36 gram yang berumur kurang lebih tiga bulan yang dipelihara di Kebun Botani UPI dalam 5 kandang dari bak plastik bening dengan berukuran 28 cm x 30 cm x 12 cm dengan ditutupi penutup kawat pada bagian atas. Bagian alas di dalam kandang diisi dengan sekam. Sekam digunakan sebagai tempat tidur mencit yang dapat mengisolasi panas, menyerap urin dan feses. Sekam tersebut diganti dalam seminggu sekali.

Mencit jantan yang digunakan dalam penelitian ini diaklimatisasi selama tujuh hari dan diberi makan berupa pakan pelet biasa dengan diberi minum di setiap kelompok kandang. Setelah mengalami proses aklimatisasi selama tujuh

hari, akan menunjukkan berat badan mencit jantan yang konstan. Setelah itu, mencit jantan diinduksi dengan pakan diet tinggi lemak selama 15 hari agar menjadi hiperlipidemia. Setelah mengalami hiperlipidemia, kemudian dilakukan lah tahap perlakuan yaitu dengan pemberian serat buah nanas selama 30 hari.

d. Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak

Untuk menginduksi kenaikan kadar lipid pada mencit maka diberikan asupan tambahan berupa pakan diet lemak tinggi. Bahan utama dalam pembuatan pakan diet lemak tinggi ini adalah kuning telur dan minyak kelapa. Komposisi pakan berlemak tinggi mengandung kuning telur, tepung jagung, tepung ikan, bungkil kedelai, premix, garam, CaCO₃, dan minyak kelapa (Hernawati *et al.*, 2013).

Pembuatan pakan diet tinggi lemak dilakukan dengan cara membuat dua kelompok adonan. Kelompok adonan pertama terdiri dari campuran tepung jagung, bungkil kedelai, dan tepung ikan. Sedangkan kelompok adonan kedua terdiri dari campuran premix, garam dan CaCO₃, kemudian kedua tersebut dicampurkan hingga menjadi satu dengan ditambahkan kuning telur dan minyak kelapa hingga menjadi adonan yang mudah dibentuk. Hasil adonan yang didapatkan dibentuk bulat dan ditimbang dalam 100 gram/hari.

2. Tahap Penelitian

a. Induksi pakan tambahan tinggi lemak untuk menciptakan keadaan hiperlipidemia

Pakan tambahan tinggi lemak merupakan pakan yang dibuat dari bahan yang mengandung kuning telur sebagai bahan utama yang dapat meningkatkan kadar lipid darah, untuk menciptakan keadaan hiperlipidemia pada hewan penelitian. Diketahui bahwa kolesterol pada kuning telur merupakan komponen lemak yang terdiri dari 65,5% trigliserida, 5,2% kolesterol, dan 28,3 % fosfolipid (Silalahi, 2000). Hewan penelitian diinduksi dengan pemberian pakan tambahan tinggi lemak setelah masa aklimatisasi dan masa perlakuan kecuali pada kontrol negatif sebanyak 50 gram/hari (Hernawati *et al.*, 2013).

b. Perlakuan Hewan Penelitian

Perlakuan pada hewan dalam penelitian dibagi kedalam lima kelompok, yaitu:

- 1) Kelompok pertama, kelompok hewan kontrol negatif yang diberi pakan tidak berlemak dan tidak ditambahkan serat buah nanas
- 2) Kelompok kedua, kelompok hewan kontrol positif yang diberi pakan diet tinggi lemak dan tidak ditambahkan serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr).
- 3) Kelompok ketiga, kelompok perlakuan dengan induksi pakan tambahan tinggi lemak yang diberi serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan konsentrasi dosis 15%/ 100 g/hari.
- 4) Kelompok keempat, kelompok perlakuan dengan induksi pakan tambahan tinggi lemak yang diberi serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan konsentrasi dosis 30%/ 100 g/hari.
- 5) Kelompok kelima, kelompok perlakuan dengan induksi pakan tambahan tinggi lemak yang diberi serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) dengan konsentrasi dosis 45% / 100 g/hari.

c. Pengambilan Sampel Darah dan Pengukuran Kadar Lipid Darah

Pengukuran kadar lipid darah dilakukan sebelum dan setelah pemberian serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Pengukuran awal sebelum tahap perlakuan bertujuan untuk melihat kadar lipid darah mencit setelah pemberian pakan tinggi lemak. Kemudian pengukuran akhir setelah 30 hari pemberian serat buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). Pengukuran awal kadar lipid dalam darah mencit dilakukan sebelum perlakuan pemberian serat buah nanas. Kemudian setelah satu bulan perlakuan dilakukan pengukuran kadar lipid dalam darah kembali. Pengukuran parameter kadar lipid dalam darah mencit hiperlipidemia mencakup kolesterol total, HDL, LDL, dan trigliserida.

Hewan uji diambil sampel darahnya dengan melukai bagian vena caudalis (ekor) menggunakan pisau bedah lalu darah yang keluar dimasukkan ke dalam tabung mikro sebanyak $\pm 0,5$ ml-1 ml. Untuk mendapatkan serum darah yang

diinginkan maka dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit. Serum (supernatan) diambil dengan menggunakan mikropipet berskala. Selanjutnya serum diukur dengan metode *Cholesterol Oxidase Para-aminophenazone* (CHOD-PAP) *Glycerol Phosphate Oxidase Para-aminophenazone* (GPO-PAP) secara spektrofotometri sedangkan pengukuran LDL diukur menggunakan Formula *Friedwald* Formula *Friedwald* untuk pemeriksaan kolesterol total, HDL, LDL dan trigliserida (Tangka, 2003). Berikut adalah tahapan untuk pengukuran kadar lipid darah mencit:

1) Uji Kolesterol Total

Pengujian kolesterol total yaitu dengan memasukkan reagen kolestrol sebanyak 500µl ditambah 5 µl serum darah kedalam tabung mikro. Kemudian tunggu selama 10 menit lalu dilihat absorbansinya pada spektrofotometer. Setelah diperoleh data dari spektrofotometer kemudian dihitung dengan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi hasil spektrofotometer}}{\text{Absorbansi standar}} \times 200 = \text{kolesterol total}$$

2) Uji Trigliserida

Sebanyak 5 µl serum darah mencit dan 500 µl reagen trigliserida dimasukkan ke dalam tabung mikro. Kemudian tunggu selama 10 menit lalu dilihat absorbansinya pada spektrofotometer. lalu diketahui nilai absorbansinya dari hasil spektrofotometer dan dimasukkan ke dalam rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi hasil spektrofotometer}}{\text{Absorbansi standar}} \times 200 = \text{trigliserida}$$

3) Uji HDL

Sebanyak 2,5 µl serum darah mencit dan 25 µl reagen HDL dimasukkan ke dalam tabung mikro, kemudian larutan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Hasil didapatkan berupa

supernatan dan pelet. Supernatan dipindahkan ke dalam tabung mikro yang baru lalu ditambahkan dengan 500 μ l reagen kolesterol kemudian lalu dihitung nilai absorbansi HDL dengan rumus:

$$\frac{\text{Absorbansi hasil spektrofotometer}}{\text{Absorbansi standar}} \times 100 = \text{HDL}$$

4) Uji LDL

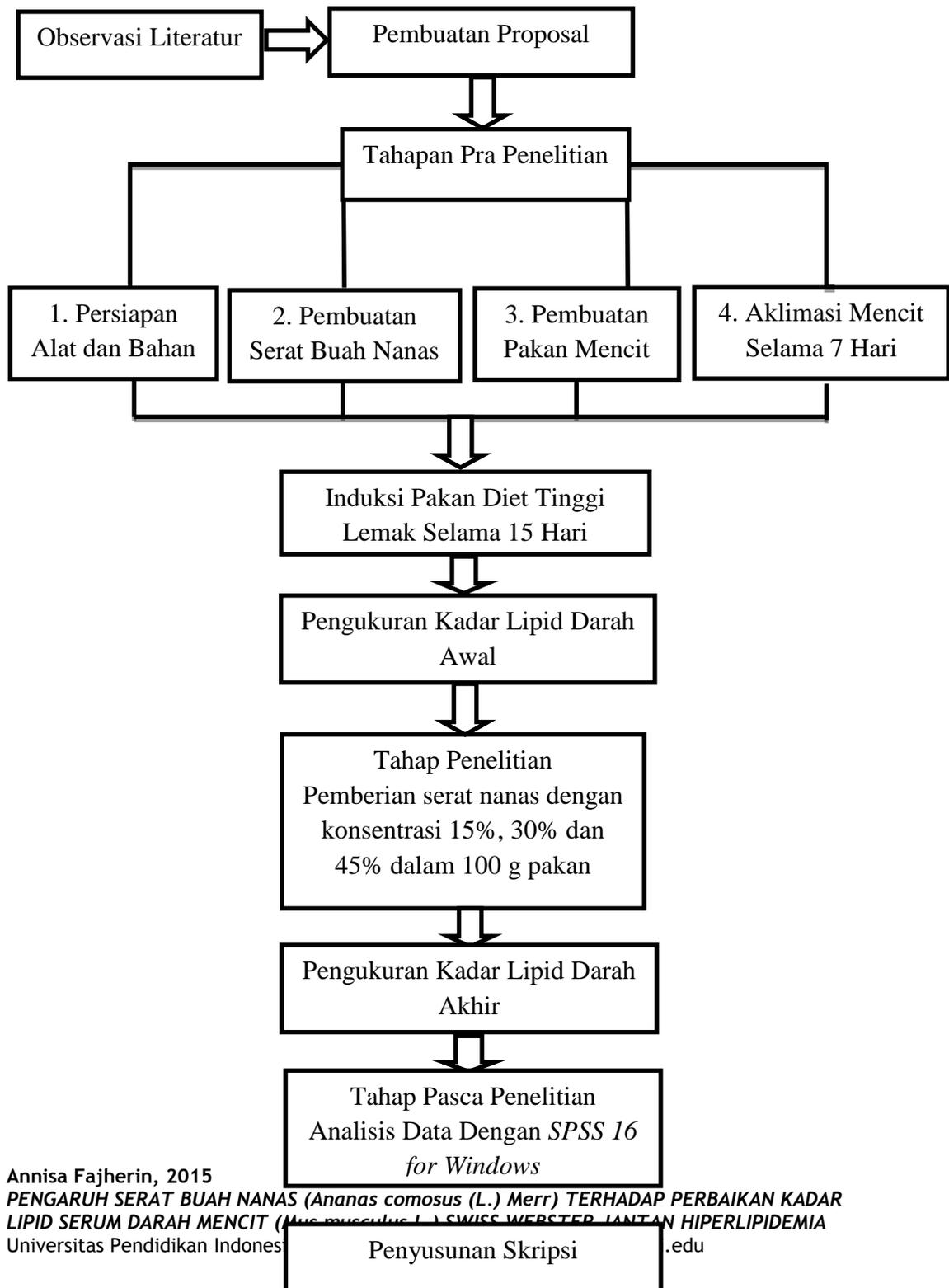
Setelah semua pengujian dilakukan, nilai absorbansi LDL baru dihitung yaitu dengan rumus:

$$\text{Kolesterol total} - \left(\text{HDL} + \frac{1}{5} \text{trigliserida} \right) = \text{LDL}$$

3. Tahap Pasca Penelitian (Analisis Data)

Setelah diperoleh data dari hasil absorbansi yang telah dilakukan, maka dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan SPSS. Setiap data yang telah diperoleh terlebih dahulu perlu diuji pendahuluan normalitas dan homogenitas. Uji normalitas menggunakan *Test of Normality (Kolmogorov-Smirnov)*. Sedangkan untuk uji homogenitas yang digunakan adalah *Test of Homogeneity of Variances (Levene Statistic)*, sedangkan data yang telah 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 Duncan dengan derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$). Apabila data tidak normal dan tidak homogen maka dianalisis dengan menggunakan pengolahan data non parametrik dengan uji *Kruskall-Wallis*. Analisis data menggunakan *Software SPSS 16 for Windows*.

4. Alur Penelitian



Annisa Fajherin, 2015

PENGARUH SERAT BUAH NANAS (*Ananas comosus* (L.) Merr) TERHADAP PERBAIKAN KADAR LIPID SERUM DARAH MENCIT (*Mus musculus* L.) SWISS WEBSTER JANTAN HIPERLIPIDEMIA Universitas Pendidikan Indones .edu



Gambar 3.1 Alur Penelitian