

## BAB III METODE PENELITIAN

### A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian dilakukan adalah eksperimental. Penelitian eksperimen adalah pengadaan manipulasi terhadap objek penelitian serta diadakan kontrol terhadap variabel tertentu sebagai pembanding (Nazir, 2003). Objek penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh *mucilage* buah okra (*Abelmoschus esculentus*) terhadap penurunan kadar gula darah dan kolesterol darah darah mencit (*Mus musculus*).

### B. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Terdapat kelompok perlakuan bahan uji dan kelompok kontrol. Kelompok tersebut dikondisikan terhadap faktor lingkungan yang homogen.

Kelompok hewan uji terdiri dari dua kelas (C dan D), begitu pula pada kelompok Kontrol terdiri dari dua kelas (A dan B). Kelompok A sebagai kontrol netral dan kelompok B sebagai kontrol positif. Kemudian kelompok C sebagai kelompok dosis I dan kelompok D sebagai kelompok dosis II. Dosis I sebesar 2,8g/kgBB mencit/hari sedangkan dosis II sebesar 5,6g/kgBB mencit/hari serta dosis aloksan 2.6mg/kgBB. Baik dosis bahan uji maupun dosis aloksan diadopsi dan dikonversi dari penelitian Uraku *et al.* (2010).

Penentuan banyaknya pengulangan yang diperoleh dari rumus Frederer (1967) yaitu sebagai berikut:

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

$$(4 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$3r - 3 \geq 15$$

$$r \geq \frac{18}{3}$$

$$r \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah pengulangan yang dilakukan untuk setiap perlakuan adalah  $r \geq 6$ . Pengulangan yang dibutuhkan pada setiap kelompok adalah 6 kali atau 6 ekor hewan uji. Jumlah total hewan uji yang akan digunakan yakni 35 ekor. Setiap hewan uji dinomori (1–24) dan setiap kandang diberi (A–D).

Tabel 3.1. Penomoran Mencit Randomisasi

1A	7B	11C	14D	8B	4A
10C	19D	22A	24B	20C	D15
6A	18B	21B	23A	16C	5D
3C	13D	17C	12D	9B	2A

Keterangan : 1,2,3,4 dst : Nomor Mencit  
A,B,C,D : Kandang Mencit

Tabel 3.2. Hasil Randomisasi Nomor Mencit dan Jenis Perlakuan

Kandang	Perlakuan	Nomor Mencit					
		1	4	2	6	23	22
A	Kontrol Netral	1	4	2	6	23	22
B	Kontrol Positif	7	8	18	21	9	24
C	Dosis I	3	10	11	20	17	16
D	Dosis II	15	13	19	12	5	14

Keterangan :

- A : Kontrol Netral  
 B : Kontrol Positif  
 C : Diberi Sediaan *Mucilage* Buah Okra (*Abelmoschus esculentus*) dengan Dosis 2,8g/kgBB mencit/hari.  
 D : Diberi Sediaan *Mucilage* Buah Okra (*Abelmoschus esculentus*) dengan Dosis 5,6g/kgBB mencit/hari.  
 1,2,... : Nomor Mencit

### C. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih (*Mus musculus*) jantan galur *Swiss Webster* usia 8–10 minggu sebanyak 24 ekor sedangkan sampel yang diuji adalah darah mencit (*Mus musculus*).

#### D. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Rumah Hewan Botani Program Studi biologi FPMIPA-UPI. Alokasi waktu berkisar enam bulan dimulai dari pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi.

#### E. Prosedur Penelitian

##### 1. Persiapan Penelitian

Adapun persiapan yang dilakukan adalah persiapan alat dan bahan penelitian yang disajikan pada Tabel 3.3 dan Tabel 3.4.

##### a. Persiapan Alat dan Bahan

Tabel 3.3. Alat-Alat Penelitian

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	Kandang Mencit	Bak papan ukuran 25 x 25 x 20 (cm)	5
2	Botol Minum Mencit	<i>Hand made</i>	5
3	Timbangan digital (mg)		1
4	Timbangan Teknis		1
5	Alat pengukur gula dan kolesterol	<i>Easy Touch GCU</i>	1
6	Strip pengukur gula	<i>Easy Touch GCU</i>	24
7	Strip pengukur kolesterol	<i>Easy Touch GCU</i>	24
8	Sarung Tangan	<i>Gloves non powder sakura</i>	1
9	Lap tangan		1
10	Kamera Ponsel	SA A5 2015	1
11	<i>Gavage</i>	-	1
12	Suntikan 1 ml	-	4
13	Kamera	13 MP SA A5 2015	1
14	ATK		1

15	Tissue	Paseo	1
----	--------	-------	---

Tabel 3.4. Bahan-Bahan Penelitian

No	Nama Bahan	Spesifikasi	Jumlah
1	Mencit Jantan	<i>Swiss Webster</i>	24 ekor
2	Aloksan monohidrat		2 gram
3	Okra ( <i>Abelmoschus esculentus</i> )	<i>Mucilage Okra</i>	50 gram
4	Pakan Standar		10 kg

#### b. Pemeliharaan Hewan Uji

Setelah persiapan alat dan bahan penelitian maka tahap selanjutnya adalah pemeliharaan hewan uji. Hewan yang digunakan adalah 24 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan albino dengan berat berkisar (24-26 gram). Mencit ini didapat pertama kali berumur 6 minggu, seluruh hewan coba diaklimatisasi selama 30 hari hingga umurnya mencapai 10 minggu. Penimbangan berat badan dilakukan sebelum perlakuan. Kemudian 24 ekor mencit ini dipelihara secara teknis pada empat kandang yang terbuat dari bak papan persegi ukuran 25x25x20 (cm). Keadaan selama aklimatisasi dan perlakuan berada pada suhu lingkungan yang tetap supaya hewan uji beradaptasi dengan kondisi yang akan ditempati selama percobaan. Suhu ruangan berkisar antara 23°C – 27°C. Makanan yang diberikan berupa pakan standar sebanyak 5 gram per ekor mencit dan minum berupa air matang dengan cara *adlibitum*. Pencahayaan dilakukan selama 12 jam/hari dari pukul 06.00 WIB hingga 18.00 WIB.

#### c. Pembuatan Bahan Uji dan Perhitungan Dosis

Buah okra didapat dari Borma Toserba Jl. Setiabudi kota Bandung. Kriteria panen buah okra muda berkisar panjang 6-9cm dan diameter 1-1,5cm. sebanyak 10 buah ( $\pm$  150gram) dalam kemasan jual. Berdasarkan penelitian oleh Subrahmanyam *et al.* (2011) buah okra direndam dalam air selama kurang lebih satu jam. Setelah perendaman, buah okra diremas-remas

sehingga menghasilkan *Mucilage* kasar (*Mucilage* dan sisa-sisa kulit serta biji buah okra). *Mucilage* kemudian disaring menggunakan kain kasa. Hasil penyaringan tersebut kemudian dibuat larutan dosis (2,8g/kgBB dan 5,6g/kgBB). *Mucilage* ini tidak diproses ekstraksi lanjutan seperti pada penelitian Uraku *et al.* (2010) sehingga akan menjadi bagian praktis guna secara langsung dalam dosis percobaan.

Tabel 3.5 Perhitungan dan Pemberian Dosis

Dosis I	Dosis II
<p>Diketahui :</p> <p>Dosis tikus (<i>Crude</i> ekstrak Okra) adalah 400mg/200gBB (Uraku <i>et al.</i>, 2010) Standar baku konversi dosis tikus (200g) ke mencit (20g) = 0,14 (lampiran 5)</p> <p>Perhitungan Dosis :</p> $400\text{mg} \times 0,14 = 56\text{mg/mencit } 20\text{g}$ <p>Rata-Rata mencit penelitian adalah 25g sehingga dosis mencit 25g →</p> $25\text{g}/20\text{g} \times 56\text{mg} = 70\text{mg}/25\text{gBB mencit.}$ <p>Untuk 1gBB = 2,8mg konversi ke 1kgBB maka didapat 2,8g.</p>	<p>Diketahui :</p> <p>Dosis tikus (<i>Crude</i> ekstrak Okra) adalah 800mg/200gBB (Uraku <i>et al.</i>, 2010) Standar baku konversi dosis tikus (200g) ke mencit (20g) = 0,14 (lampiran 5)</p> <p>Perhitungan Dosis :</p> $800\text{mg} \times 0,14 = 112\text{mg/mencit } 20\text{g}$ <p>Rata-Rata mencit penelitian adalah 25 g sehingga dosis mencit 25g →</p> $25\text{g}/20\text{g} \times 112\text{mg} = 140\text{mg}/25\text{gBB mencit.}$ <p>Untuk 1gBB = 5,6mg konversi ke 1kgBB maka didapat 5,6g.</p>

Disajikan bahwa pemberian dosis untuk penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Kelompok A (kontrol netral) tidak diberikan baik itu aloksan maupun perlakuan dosis
- 2) Kelompok B (kontrol positif) diinduksi aloksan namun tidak diberikan perlakuan dosis.
- 3) Kelompok C (dosis I) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan dosis sebesar 2,8g/kgBB mencit/hari.

- 4) Kelompok D (dosis II) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan dosis sebesar 5,6g/kgBB mencit/hari.

## 2. Tahap Perlakuan

### a. Induksi Aloksan

Pada tahap pelaksanaan dilakukan induksi aloksan untuk menciptakan keadaan hiperglikemik pada mencit (*Mus musculus*). Aloksan merupakan suatu substrat yang secara struktural adalah derivat *Pirimidin* sederhana yang mempunyai kemampuan untuk merusak sel beta pankreas sehingga menurunkan produksi insulin (Nugroho dan Purwaningsih, 2004).

Dalam percobaan ini hewan uji disuntikan aloksan sebanyak 2.6mg/kgBB secara intravena caudal. Pemberian aloksan dilakukan satu kali dan untuk melihat hasilnya dilakukan optimasi aloksan selama 24 jam (*overnight*) (Uraku *et al.*, 2010).

### b. Tahap Pemberian Bahan Uji

Bahan uji diberikan selama 7 hari setelah aklimatisasi selama 30 hari. Mencit dipegang menggunakan tangan kiri dengan posisi telentang di atas telapak tangan. Kemudian tangan kanan memasukan bahan uji secara oral menggunakan jarum gavage. Pemasukan bahan uji sebesar 0,5ml.

### c. Tahap Pengambilan Sampel Uji dan Tes Sampel Uji

Setelah dilakukan perlakuan selama 7 hari dalam kondisi yang terkontrol, hewan percobaan diambil darahnya dengan membuat perlukaan dibagian vena caudal menggunakan gunting bedah. Darah pertama yang keluar dibersihkan menggunakan tissue kemudian darah yang keluar kedua dari perlukaan tersebut baru dimasukan ke dalam strip pengukuran yang secara otomatis mengambil sampel darah secukupnya untuk satu kali uji. Pengukuran dilanjutkan dengan membaca skala yang terdapat pada layar alat. Pengukuran dilakukan masing-masing pada gula darah dan kolesterol darah mencit (*Mus musculus*) menggunakan alat *Easy Touch GCU 3 in 1*.

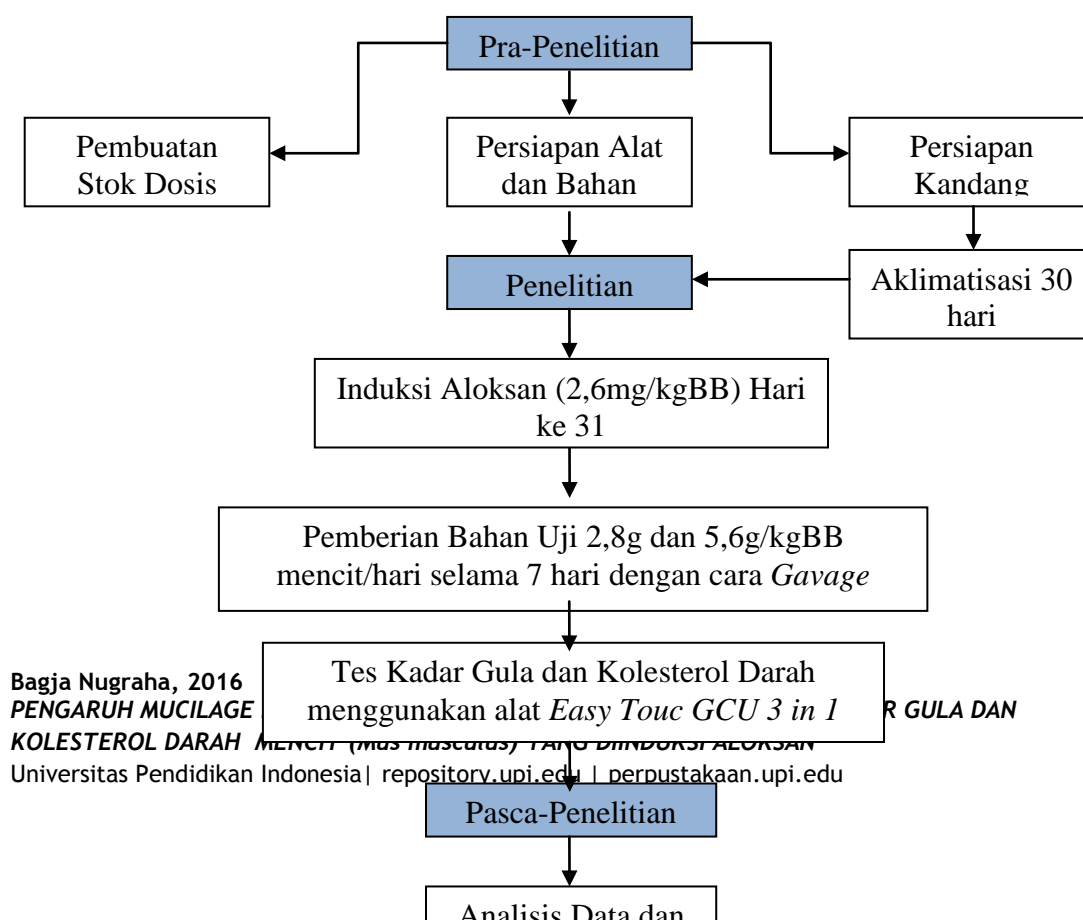
### d. Analisis Data

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)*. Sedangkan data non parametrik akan dilanjutkan dengan uji *Kruskall-Wallis*. Data yang memiliki perbedaan signifikan untuk setiap perlakuan kemudian diuji lebih lanjut dengan uji wilayah perbandingan ganda LSD dengan derajat kepercayaan 95% ( $\alpha=0,05$ ). Data yang tidak berbeda signifikan tidak diuji lebih lanjut dengan uji perbandingan berganda. Kemudian untuk membuktikan hubungan erat pengaruh *mucilage* terhadap keduanya yakni kadar gula dan kolesterol darah (sebagai data pendukung) maka dilakukan uji regresi korelasi ganda. Seluruh Analisis data statistik menggunakan *SPSS 16* untuk *Windows 7*.

### 3. Paska Penelitian

Setelah selesai penelitian maka dibuat karya tulis ilmiah skripsi sebagai laporan akhir dari penelitian.

### F. Alur Penelitian



### **Gambar 3.1** Alur Penelitian