

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimen, karena terdapat manipulasi pada objek penelitian dan terdapat kontrol (Nazir, 2003). Adapun objek penelitian adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur *DDY* (*Deutschland Denken Yoken*) dengan umur 8-10 minggu atau berat badan 25-30 gram (Kusumawati, 2004). Pengamatan dilakukan terhadap berat badan mencit setiap dua hari sekali, perhitungan berat organ setelah dilakukan pembedahan, kadar gula darah sebelum dan setelah diberikan sampel minuman ringan kemasan gelas.

B. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL), terdapat kelompok perlakuan dan kontrol dengan faktor lingkungan yang homogen (Nazir, 2003). Metode RAL dengan faktor pertama perlakuan, yaitu waktu lama perlakuan dengan variasi waktu yaitu: pemberian selama 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu. Faktor kedua adalah merek jenis minuman ringan kemasan gelas, yaitu *panther* (A), *meico* (B), *teh zeggarr* (C), *degan* (D), dan *teh bukit* (E), dan *akuades*. Tiap perlakuan dengan 5 kali ulangan. Rancangan percobaan dapat dilihat pada (Tabel 3.1).

Air minuman yang diperlukan untuk seekor mencit tiap hari berkisar antara 4-8 mL (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988; Malole dan Pramono, 1989). Maka dari itu, banyaknya minuman kemasan dan air mineral yang diberikan, yaitu sekitar 8 mL/ekor. Penelitian ini tidak menggunakan dosis dalam perlakuannya, karena untuk menyamakan dan merelevansikan pola hidup manusia yang sering mengkonsumsi minuman ringan kemasan gelas secara tidak teratur.

Variabel bebas dan variabel terikat pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Variabel bebas :
 - a. Merek minuman ringan kemasan gelas *panther* (A), *meico* (B), *teh zegggar* (C), *degan* (D), dan *teh bukit* (E), dan *akuades* (F)
 - b. Waktu lama perlakuan dengan variasi waktu yaitu: pemberian selama 1 minggu, 2 minggu, dan 3 minggu.
2. Variabel terikat : Kadar gula darah mencit

Banyaknya pengulangan yang dilakukan diperoleh rumus dari Gomez dan Gomez (1995), yaitu :

$$\begin{aligned} T(r-1) &\geq 20 \\ 18(r-1) &\geq 20 \\ 18r-18 &\geq 20 \\ 18r &\geq 38 \\ r &\geq 2.1 \end{aligned}$$

Keterangan :

r : jumlah pengulangan

T : jumlah perlakuan

20 : derajat bebas untuk RAL

Tabel 3.1 Rancangan Percobaan Penelitian

Perlakuan	P	M	TZ	D	TB	A
M1	PM1	MM1	TZM1	DM1	TBM1	AM1
M2	PM2	MM2	TZM2	DM2	TBM2	AM2
M3	PM3	MM3	TZM3	DM3	TBM3	AM3

Keterangan :

P : Merek minuman *panther*

M : Merek minuman *meico*

TZ : Merek minuman *teh zegggar*

D : Merek minuman *degan*

TB : Merek minuman *teh bukit*

A : Minuman *akuades*

M1 : Waktu perlakuan pemberian selama 1 minggu

M2 : Waktu perlakuan pemberian selama 2 minggu

M3 : Waktu perlakuan pemberian selama 3 minggu

Pengacakan kandang dan nomor mencit dilakukan untuk menghilangkan bias (Sudjana, 2006). Gambar denah pengacakan dan penempatan dalam

kandang dapat dilihat pada Tabel 3.2 yang mewakili untuk keseluruhan sampel minuman ringan kemasan gelas.

Tabel 3.2 Hasil Penempatan Mencit dan Jenis Perlakuan yang Berbeda

A3	B9	D14	B19
B7	C13	A12	C8
D17	A10	C4	D1
C16	D11	A18	C15
D6	B12	B2	A20

Keterangan :

- A : Kontrol, tanpa perlakuan sebanyak 5 ekor mencit diberi pakan dan akuades.
- B : Diberi pakan dan minuman ringan kemasan gelas merek A/B/C/D/E dengan jumlah 8 ml/ekor, diberikan pada pukul 08.00 WIB selama satu minggu.
- C : Diberi pakan dan minuman ringan kemasan gelas merek A/B/C/D/E dengan jumlah 8 ml/ekor, diberikan pada pukul 08.00 WIB selama dua minggu.
- D : Diberi pakan dan minuman ringan kemasan gelas merek A/B/C/D/E dengan dengan jumlah 8 ml/ekor, diberikan pada pukul 08.00 WIB selama tiga minggu.

Berdasarkan Tabel 3.2 maka diperoleh peta kandang yang didapatkan seperti tertera pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Hasil Penempatan Mencit Dan Kandangnya

Kandang	Nomor Mencit				
A	3	10	12	18	20
B	2	5	7	9	19
C	4	8	13	15	16
D	1	6	11	14	17

Sebelum ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan diaklimatisasi selama tujuh hari. Setiap hari mencit diberi makan dan minum secara *ad libitum*.

C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 80 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) galur *DDY* dengan berat badan 25-30 gr per ekor. Sampel yang

akan digunakan dalam penelitian ini adalah 0,08 μL darah mencit jantan usia tiga bulan yang telah diberikan minuman ringan kemasan gelas dengan variasi minuman.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada periode bulan Maret-Mei 2017. Pemeliharaan dilakukan di rumah mencit Kebun Botani UPI. Pemeriksaan gula darah mencit dan pembedahan untuk mengukur berat organ mencit dilakukan di Laboratorium Riset Lingkungan Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

E. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdapat di Laboratorium Riset, Universitas Pendidikan Indonesia serta aklimasi hewan di rumah hewan Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung. Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian terdapat pada laman Lampiran-1.

F. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi tahap pra-penelitian, penelitian, dan pasca penelitian.

1. Tahap Pra-Penelitian

a. Pengujian Secara Kimia terhadap Sampel Minuman Ringan Kemasan Gelas

Minuman ringan kemasan gelas yang dijadikan sebagai sampel penelitian sebelumnya dilakukan pengujian secara kimia untuk mengetahui kandungan dan kadarnya. Pengujian terhadap sampel berupa kadar glukosa, siklamat, dan natrium benzoat. Pengujian secara kimia terhadap sampel penelitian bertujuan untuk meyakinkan bahwa minuman ringan kemasan gelas yang dijadikan sampel penelitian memang mengandung gula dan bahan tambahan pangan (BTP) berupa

pemanis serta pengawet. Pengujian kadar gula darah menggunakan alat photometer dengan metode titrimetri. Pengujian BTP berupa pemanis yaitu siklomat menggunakan alat spektrofotometer dengan metode gravimetri. Pengujian BTP berupa pengawet yaitu benzoat menggunakan alat spektrofotometer dengan metode titrasi. Pengujian kimia pada sampel minuman ringan kemasan gelas dilakukan di Balai Laboratorium Pengembangan Kesehatan Provinsi Jawa Barat Jalan Sederhana No 3-5 Bandung.

b. Aklimasi Mencit

Mencit tersebut diaklimasi sebelum diberi perlakuan di laboratorium dan di tempatkan dalam kandang dengan ukuran 40 x 30 x 15 cm. Proses ini dilakukan selama satu minggu dengan tujuan agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan sekitar selama dilakukan percobaan. Selama proses aklimasi dilakukan, mencit diberi minum secara *ad libitum* dan diberi makan pelet standar. Tempat minum, makan dan kandang dijaga kebersihannya.

2. Tahap Penelitian

a. Pemberian Minuman Ringan Kemasan Gelas

Pemberian minuman ringan kemasan gelas terhadap mencit berjumlah 8 mL/ekor secara *ad libitum*, hal ini didasarkan menurut (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988; Malole dan Pramono, 1989), air minum yang diperlukan untuk seekor mencit tiap hari berkisar antara 4-8 mL. Pemberian minuman ringan kemasan gelas ini tidak menggunakan dosis dalam perlakuannya, karena untuk menyamakan dan merelevansikan pola hidup manusia yang sering mengkonsumsi minuman ringan kemasan gelas secara tidak teratur.

b. Pemeriksaan Kadar Gula Darah dengan Metode Strip

Pemeriksaan gula darah menciit menggunakan metode strip dengan alat glukometer yang memiliki nama jual *autocheck*.



Gambar 3.1 Alat Glukometer
(Rizal, 2015)

Alat pemeriksaan laboratorium sederhana ini dirancang hanya untuk penggunaan sampel darah kapiler, bukan untuk sampel serum atau plasma. Strip katalisator spesifik untuk pengukuran glukosa dalam darah kapiler (Suryaatmadja & Hardjasudarma, 2006). Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah strip diletakkan pada alat, ketika darah diteteskan pada zona reaksi tes strip, katalisator glukosa akan mereduksi glukosa dalam darah. Intensitas dari elektron yang terbentuk dalam alat strip setara dengan konsentrasi glukosa dalam darah. Metode strip tersebut digunakan dalam penelitian ini karena harganya murah, selain itu mudah dan praktis dalam penggunaannya serta hasil dari pemeriksaan gula darah juga dapat diketahui dalam hitungan detik. Metode strip adalah salah satu kemajuan yang paling penting dalam monitoring pasien diabetes setelah penemuan insulin dan merupakan salah satu tes laboratorium yang paling banyak dikerjakan ataupun diinstruksikan dalam dunia kedokteran, selain pemeriksaan darah rutin (Tonyushkina & Nichols, 2009).

c. Pembedahan dan Pengukuran Berat Organ

Mencit yang sudah diambil sampel darahnya akan dibedah dan dihitung berat organnya seperti pankreas, limfa, hati, ginjal, dan saluran pencernaan untuk mengetahui efek lain dari pemberian minuman ringan kemasan gelas terhadap kondisi organ. Akan tetapi, pada penelitian ini hanya sebatas menimbang berat organnya saja.

3. Tahap Analisis Data

Analisis data menggunakan program *SPSS 17 for Windows*. Tahap pengujiannya pertama dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* setelah itu dilakukan uji homogenitas *Levene*. Jika data yang diperoleh homogen dan normal maka dilakukan uji parametrik *Two Ways Anova (Analysis of Variance)*. Tujuan dilakukannya uji tersebut adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan secara signifikan dari setiap data. Uji *Post hoc* yang dilakukan selanjutnya menggunakan uji *Tukey*. Tujuan dilakukannya uji tersebut adalah untuk mengetahui data mana yang paling berpengaruh secara bermakna.

G. Alur Penelitian

PRA-PENELITIAN

