BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan dalam penelitian ini merupakan penelitian eksperimen kuantitatif. Penelitian eksperimen merupakan penelitian dimana variable yang hendak diteliti (variable terikat) kehadirannya sengaja ditimbulkan dengan memanipulasi menggunakan perlakuan sesuai dengan kebutuhan (Nazir, 2003). Adapun yang menjadi objek penelitian adalah kadar gula darah puasa mencit jantan (*Mus musculus* L.) yang diinduksi hiperglikemia sebelum dan setelah diberikan biskuit tepung kulit pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*).

B. Desain Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) di mana terdapat kelompok perlakuan dan kontrol dengan faktor lingkungan yang homogen (Nazir, 2003). Kelompok perlakuan terdiri dari tiga kelompok, masing-masing kelompok akan diberi perlakuan dengan kadar kulit pisang Kepok dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol, 25%, 50% dan 75% (Jaber et al., 2013). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif yang diinduksi hiperglikemia dan diberi biskuit dengan konsentrasi 0%, sedangkan kontrol negatif yang tidak diinduksi hiperglikemia dan diberi biskuit dengan konsentrasi 0%. Pemberian perlakuan pada setiap kelompok dilakukan selama dua minggu sebanyak lima gram/ekor/hari (Hernawati dan Aryani, 2008). Pengambilan darah puasa pada mencit dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-7, ke-11, dan ke-14 (Indrawati et al., 2015), setelah mencit dipuasakan selama semalam (Jaber et al., 2013). Sebelum ke tahap perlakuan, seluruh hewan percobaan diaklimatisasi selama tujuh hari. Setiap hari mencit diberi makan dan minum secara ad libitum. Banyaknya pengulangan yang dilakukan (replikasi) untuk setiap kelompok perlakuan diperoleh dari Federer (1977), yaitu:

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

 $(5-1)(n-1) \ge 15$
 $4(n-1) \ge 15$
 $4n-4 \ge 15$
 $n \ge 19/4$
 $n \ge 4,75$
 $n = 6 \text{ ekor}$
Keterangan: $n = \text{jumlah replikasi}$
 $T = \text{jumlah perlakuan}$

Pengacakan kandang dan nomor mencit dilakukan untuk menghilangkan bias (Sudjana, 2002). Gambar denah pengacakan dan penempatan dalam kandang dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Hasil Pengocokan Mencit dan Kandangnya.

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

Keterangan:

- A: Kontrol positif, dengan kadar tepung kulit pisang pada biskuit 0%.
- B: Kontrol negatif, dengan kadar tepung kulit pisang pada biskuit 0%.
- C: Diberi perlakuan dengan kadar tepung kulit pisang pada biskuit 25%.
- D: Diberi perlakuan dengan kadar tepung kulit pisang pada biskuit 50%.
- E: Diberi perlakuan dengan kadar tepung kulit pisang pada biskuit 75%.
 - 1, 2, 3: Nomor mencit

C. Populasi Dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh mencit jantan yang ada di rumah mencit Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) Galur *Swiss Webster* yang sudah diinduksi hiperglikemia, dan bahan kulit pisang yang digunakan yaitu kulit pisang Kepok, yang diperoleh langsung dari tempat penggilingan padi. Pengamatan dilakukan terhadap kadar gula darah puasa mencit jantan sebelum dan setelah diberikan perlakuan biskuit tepung kulit pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*).

D. Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama tiga bulan. Pembuatan biskuit dengan penambahan tepung kulit pisang Kepok dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Lingkungan FPMIPA UPI. Pemeliharaan dilakukan di rumah mencit Kebun Botani UPI. Pengecekan glukosa darah puasa mencit jantan dilakukan di Laboratorium Riset Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

E. Tahap Pra Penelitian

1. Persiapan alat dan bahan

Sebelum memulai penelitian perlu dipersiapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Pertama kandang untuk mencit jantan dipersiapkan sebanyak lima buah sesuai dengan jumlah perlakuan dan kontrol, kandang berukuran $40\times30\times12$ cm terbuat dari plastik dengan tutup kawat atau besi. Kemudian persiapkan bahan kulit pisang Kepok yang akan digunakan untuk penelitian yang diolah menjadi tepung agar dapat digunakan untuk pembuatan biskuit.

2. Penentuan dosis

Dosis biskuit yang diberikan adalah dengan konsentrasi tepung kulit pisang Kepok sebanyak 25%, 50% dan 75%. Dosis tersebut merupakan dosis yang telah dimodifikasi berdasarkan penelitian Jaber *et al.*, (2013) dan Hernawati dan Aryani (2008). Terdapat dua kontrol yaitu kontrol positif dan kontrol negatif. Pada kontrol positif mencit akan diinduksi hiperglikemia. Pada kontrol negatif mencit tidak diinduksi hiperglikemia dan mencit diberi perlakuan dengan biskuit tepung kulit pisang dengan konsentrasi 0%. Waktu pemberian dosis diperkirakan selama 2 minggu.

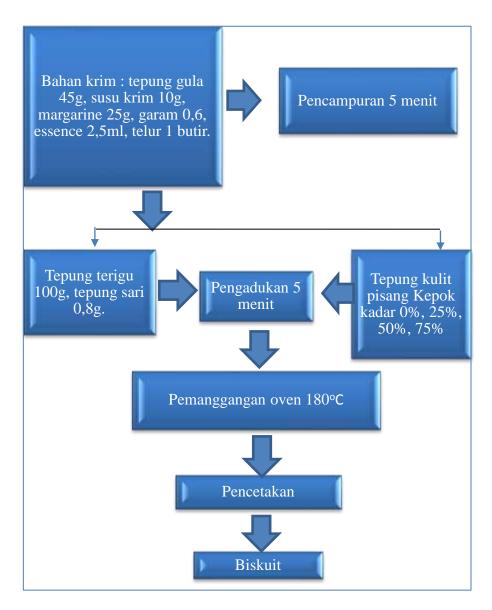
3. Pembuatan tepung kulit pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*)

Pembuatan tepung kulit pisang Kepok menggunakan metode oven dryi ng. Prinsip kerja dari oven drying yaitu mengurangi kadar air dengan temperatur yang tinggi tanpa menghilangkan kadar antioksidan sehingga dikeringkan pada suhu di bawah 80°C. Pemanasan pada suhu 80°C dapat merusak senyawa flavonoid (Chet, 2009). Sebanyak 50 kg kulit pisang kemudian dipotong kecil-kecil lalu di oven pada suhu 60°C. Setelah kering

kemudian diblender dan disaring menggunakan penyaring (50 mesh) hingga mendapatkan ukuran yang paling kecil.

4. Pembuatan biskuit tepung kulit pisang Kepok

Tahapan pembuatan *cookies* dapat dilihat pada Gambar 3.1. Tahap pembuatan biskuit meliputi pembentukan krim, penambahan tepung terigu dan tepung serat makanan dari tepung kulit pisang Kepok dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol, 25%, 50% dan 75% dari 100 gram tepung terigu, pencampuran, pencetakan, pemanggangan dalam oven selama 15 menit dengan suhu 180°C (Hernawati dan Aryani, 2014).



Gambar 3.1. Diagram alir proses pembuatan *cookies* (Sumber: Hernawati dan Aryani, 2014)

5. Persiapan hewan percobaan

Disiapkan mencit jantan berumur 2-3 bulan, berat sekitar 20-30 gram, kondisi badan sehat (aktif dan tidak cacat). Selama seminggu mencit dilakukan proses aklimasi pada lingkungan dengan suhu udara berkisar antara 23°C sampai 27°C, penerangan selama 12 jam/hari agar mencit teradaptasi dengan kondisinya selama masa percobaan. Selama proses aklimatisasi mencit diberi pakan secara *ad libitum*. Mencit dikelompokkan dalam kandang berukuran 40x30x12cm dan ditempatkan berkelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan, yaitu masing-masing kandang sebanyak enam ekor mencit.

6. Pengambilan sampel, determinasi, seleksi tanaman

Pengambilan sampel kulit buah pisang Kepok dilakukan dari tempat yang sama yaitu yang berasal dari tempat penggilingan padi. Determinasi didasarkan pada Buku Klasifikasi Conqruist (1981), tujuan diterminasi adalah untuk memastikan dan meyakinkan bahwa tanaman yang digunakan benar-benar tanaman pisang Kepok (*Musa paradisiaca formatypica*).

F. Tahap Penelitian

1. Pemberian Aloksan untuk induksi 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 jantan diinduksi aloksan sebanyak 50 ml/Kg Bb secara intravena, di bagian ekor mencit dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah hiperglikemia awal pada hari ke tiga setelah induksi. Apabila kadar glukosa darah puasa > 180 mg/dL mencit dianggap sudah mengalami hiperglikemia (Jaber *et al.*, 2013; Indrawati *et al.*, 2015).

2. Pemberian biskuit tepung kulit pisang Kepok

Pemberian biskuit tepung kulit pisang Kepok dengan konsentrasi 0%, 25%, 50% dan 75% dilakukan selama 14 hari setelah mencit

mengalami hiperglikemia. Biskuit dijadikan sebagai pakan dengan pemberian lima gram/ekor/hari.

3. Pengambilan sampel glukosa darah puasa dan pengukuran kadar gula darah puasa.

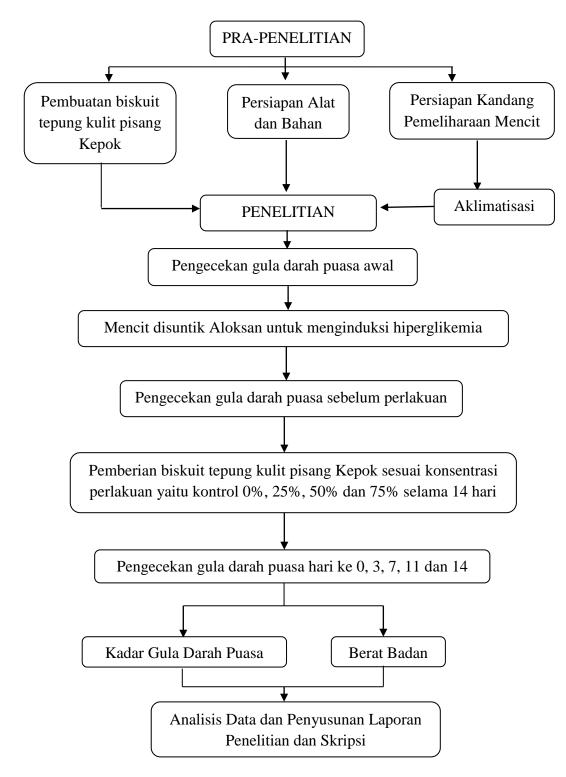
Pengambilan sampel darah puasa dilakukan pada hari ke-0, ke-3, ke-7, ke-11 dan ke-14 terhadap mencit hiperglikemia yang telah diberi perlakuan. Lamanya perlakuan selama dua minggu dalam kondisi yang terkontrol, hewan percobaan diambil darahnya setelah dipuasakan selama satu malam dengan membuat perlukaan di bagian vena caudalis menggunakan gunting bedah lalu darah yang keluar dari perlukaan tersebut dimasukkan ke dalam strip pengukuran yang secara otomatis mengambil sample darah sebanyak 0,08 µl untuk satu kali uji. Pengukuran dilanjutkan dengan melakukan pembacaan skala yang terdapat di layar alat glukotest (Adella, 2013).

G. Tahap Pasca Penelitian (Analisis Statistik)

Data kadar gula darah puasa dan berat badan dianalisis menggunakan program SPSS versi 16 for Windows. Tahap pengujiannya pertama dilakukan uji normalitas menggunakan Test of Normality (Kolmogorov-Smirnov). Setelah itu dilakukan uji homogenitas menggunakan Test of Homogeneity of Variances (Levene Statistic). Jika data yang diperoleh homogen dan normal maka dilakukan uji parametrik ANOVA (Analysis of Variance) tapi jika data yang diperoleh tidak homogen maka dilakukan uji non parametrik Mann-Whitney. Data yang memiliki perbedaan signifikan diuji lebih lanjut dengan uji Duncan dengan derajat kepercayaan 95% (p< 0,05). Apabila data tidak normal dan tidak homogen maka menggunakan pengolahan data non parametrik dengan uji Kruskall-Wallis.

ALUR PENELITIAN

Berdasarkan tahap penelitian yang telah dijelaskan dapat digambarkan alur penelitian seperti pada (Gambar 3.2) di bawah ini.



Gambar 3.2. Alur Penelitian