

## BAB III METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen. Hal ini karena pada penelitian ini terdapat manipulasi terhadap objek penelitian serta adanya kontrol (Nazir, 2003). Objek penelitian adalah hewan mencit (*Mus musculus L*) jantan galur Swiss Webster. Penelitian yang dilakukan yaitu pengukuran bobot tubuh, penimbangan organ hati dan ginjal dan perhitungan kadar glukosa darah yang diberikan perlakuan dengan pemberian jus bunga kecombrang (*Etlintera elatior*).

### 3.2 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 diberikan jus bunga kecombrang masing-masing dengan konsentrasi 25%, 50 %, 75%, dan 100%. Kelompok kontrol terdiri dari kontrol negatif yang tidak diberi perlakuan jus bunga kecombrang sama sekali, kelompok kontrol positif yang diberi obat penurun gula yaitu metformin dan kontrol yang diberi minuman dengan pemanis buatan saja. Banyaknya pengulangan yang dilakukan (replikasi) diperoleh dari Gomez (1995) yaitu:

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

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$n \geq 3,5$$

$$n = 4 \text{ ekor}$$

Keterangan    n = jumlah replikasi

                  T = jumlah perlakuan

Pengocokan kandang mencit dilakukan untuk menghilangkan bias (Sudjana, 2006). Gambar denah pengocokan mencit dalam kandang dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1

*Hasil pengocokan mencit dan jenis perlakuan dengan jus bunga kecombrang*

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

Keterangan :

- A : Kontrol (-) tidak diberi *benzoic sulfimide* dan tidak diberi jus bunga kecombrang.
- B : Kontrol (+) diberi *benzoic sulfimide* dan diberi obat penurun gula yaitu metformin
- C : Kontrol *benzoic sulfimide*
- D : Diberi jus bunga kecombrang dengan konsentrasi 25%
- E : Diberi jus bunga kecombrang dengan konsentrasi 50%
- F : Diberi jus bunga kecombrang dengan konsentrasi 75%
- G : Diberi jus bunga kecombrang dengan konsentrasi 100%
- 1, 2, 3. : Nomor mencit

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

### 3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh mencit jantan yang ada di rumah mencit Kebun Botani Universitas Pendidikan Indonesia. Sampel penelitian adalah mencit jantan galur Swiss Webster.

### **3.4 Waktu dan Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan selama 30 hari. Pembuatan jus bunga kecombrang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI. Pemeliharaan dilakukan di rumah hewan Kebun Botani UPI. Pengambilan organ, pengambilan glukosa darah, dan pengukuran bobot tubuh mencit dilakukan di Laboratorium Lingkungan Departemen Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

### **3.5 Prosedur Penelitian**

Prosedur dari penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan, yaitu :

#### **3.5.1 Persiapan Hewan Percobaan**

Mencit (*Mus musculus L.*) jantan swiss webster disiapkan sebanyak 28 ekor, dengan spesifikasi mencit berumur dua bulan dengan berat badan 25-30 gr. Selama seminggu mencit dilakukan proses aklimatisasi terhadap lingkungan barunya agar mencit teradaptasi dengan kondisinya selama masa percobaan. Selama proses aklimatisasi mencit diberi pakan secara *ad libitum*. Mencit dikelompokkan dalam kandang berukuran 40x30x12 cm dan ditempatkan berkelompok berdasarkan perlakuan yang diberikan, yaitu masing-masing kandang sebanyak 4 ekor mencit.

#### **3.5.2 Pemberian Minuman yang mengandung Pemanis buatan**

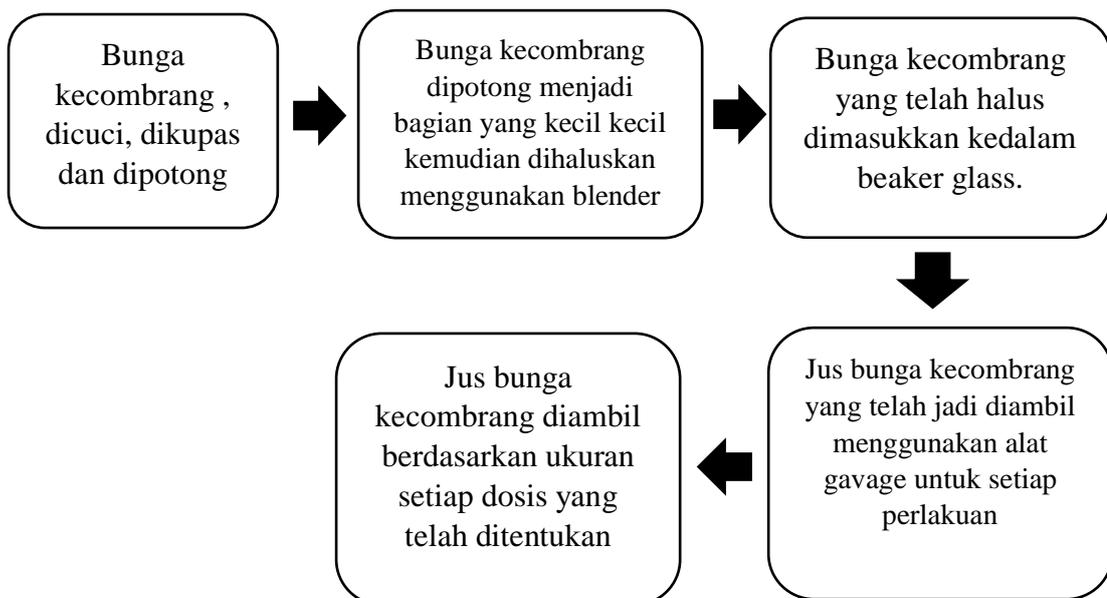
Pengujian secara kimia terhadap sampel penelitian minuman yang diberi pemanis buatan (*benzoic sulfimide*) yaitu untuk mengetahui peningkatan kadar glukosa darah mencit. Pemberian minuman pada mencit yang mengandung pemanis buatan diberikan secara *ad libitum* sebanyak 1 gr. Air minum yang diperlukan untuk seekor mencit tiap hari berkisar antara 4-8 mL.

#### **3.5.3 Penentuan Dosis**

Konsentrasi jus bunga kecombrang yang diberikan adalah 25%, 50%, 75% atau 100%. Terdapat kelompok kontrol yaitu kontrol negatif, kontrol positif dan kontrol *benzoic sulfimide*. Pada kontrol negatif mencit tidak diberi perlakuan dengan jus bunga kecombrang. Pada kontrol positif mencit diberi perlakuan obat penurun gula yaitu metformin. Pada kontrol *benzoic sulfimide*, mencit hanya diberi *benzoic sulfimide* saja. Waktu pemberian dosis jus bunga kecombrang dilakukan selama 15 hari.

### 3.5.4 Pembuatan Jus Bunga Kecombrang

Berdasarkan literatur senyawa fenol dan polifenol terdapat banyak dalam tumbuhan kecombrang, maka dari itu yang diambil pada penelitian ini hanya pada bagian bunga kecombrang saja. Bunga kecombrang dibuat dengan bantuan alat penghalus yaitu blender. Sediaan bunga kecombrang dibuat dengan menggunakan metode jus bertujuan agar kandungan dalam bunga kecombrang tidak hilang karena bunga kecombrang yang digunakan masih segar tanpa proses pengeringan. Langkah kerja pembuatan jus bunga kecombrang dapat dilihat pada Gambar 3.1 di bawah ini.



Gambar 3.1 Langkah kerja pembuatan jus bunga kecombrang

Bunga dari kecombrang dipotong kecil-kecil kemudian diblender hingga halus. Setelah itu, bunga kecombrang langsung diberikan pada hewan percobaan menggunakan alat gavage. Pembuatan jus bunga kecombrang dilakukan selama 15 hari saat perlakuan. Hal ini dilakukan agar terjaminnya kualitas kandungan bunga kecombrang tersebut.

### 3.5.5 Pengambilan Bunga Kecombrang

Pengambilan bunga kecombrang (*Etlingera elatior*) diambil dari Perkebunan Manoko Lembang, Jawa Barat.

### 3.5.6 Pemberian Jus Bunga Kecombrang

Jus bunga kecombrang diberikan dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% dilakukan selama 15 hari. Jus bunga kecombrang diberikan secara oral dengan menggunakan gavage. Pemberian perlakuan diberikan satu kali dalam sehari, yaitu pada pagi hari secara oral. Volume jus bunga kecombrang yang diberikan disesuaikan dengan kapasitas lambung yang ditentukan berdasarkan bobot tubuh mencit.

**Individu A = BT 30 gr**



**Kapasitas maksimal lambung diasumsikan 0,30 ml**

### 3.5.7 Pengukuran Kadar Glukosa Darah Mencit

Pada mencit yang akan diukur kadar glukosa darah sebelumnya harus dipuasakan, kemudian darah diambil dengan cara melukai dari bagian vena ekor mencit menggunakan gunting bedah. Darah yang keluar disentuhkan pada *test strip* yang terpasang pada alat glukometer dan dibiarkan alat mengukur kadar glukosa darah secara otomatis. Angka yang tampil pada layar dicatat sebagai hasil dari pengukuran (mg/dL). Pemeriksaan kadar glukosa darah dengan glukometer

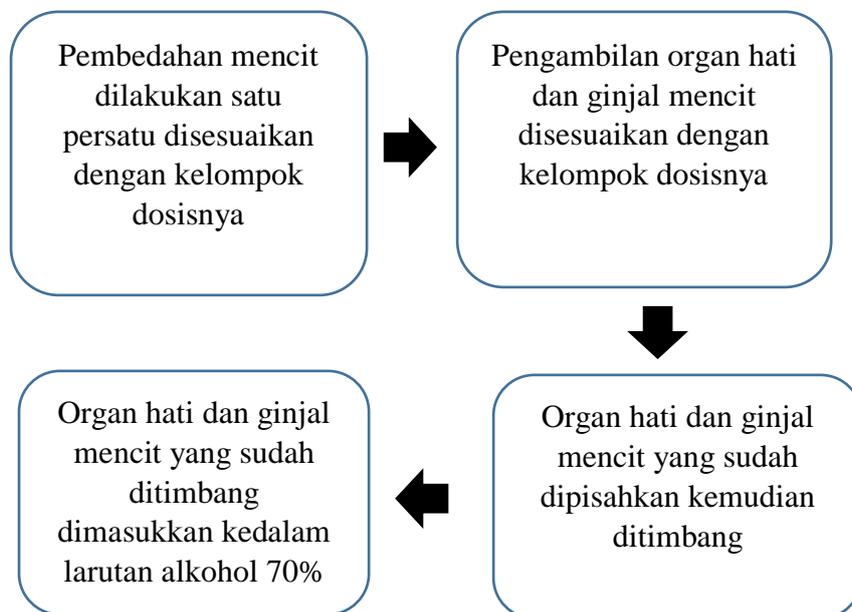
memiliki nilai keakuratan yang baik. Glukometer memiliki pemeriksaan dengan sensitivitas 70% dan spesivitas 90%.

### 3.5.8 Pembedahan Organ Mencit

Mencit yang telah selesai diberikan perlakuan, kemudian dibedah untuk diambil organnya. Organ yang dilihat adalah hati dan ginjal, kemudian organ hati dan ginjal mencit ditimbang beratnya untuk melihat kondisi organ tersebut setelah diberi perlakuan. Akan tetapi, pada penelitian ini dilakukan penimbangan terhadap berat organ mencit saja.

### 3.5.9 Pengambilan Organ Hati dan Ginjal Mencit

Setelah dilakukan pembedahan pada mencit, kemudian diambil organ hati dan ginjal yang dijelaskan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Langkah kerja pengambilan organ hati dan ginjal mencit

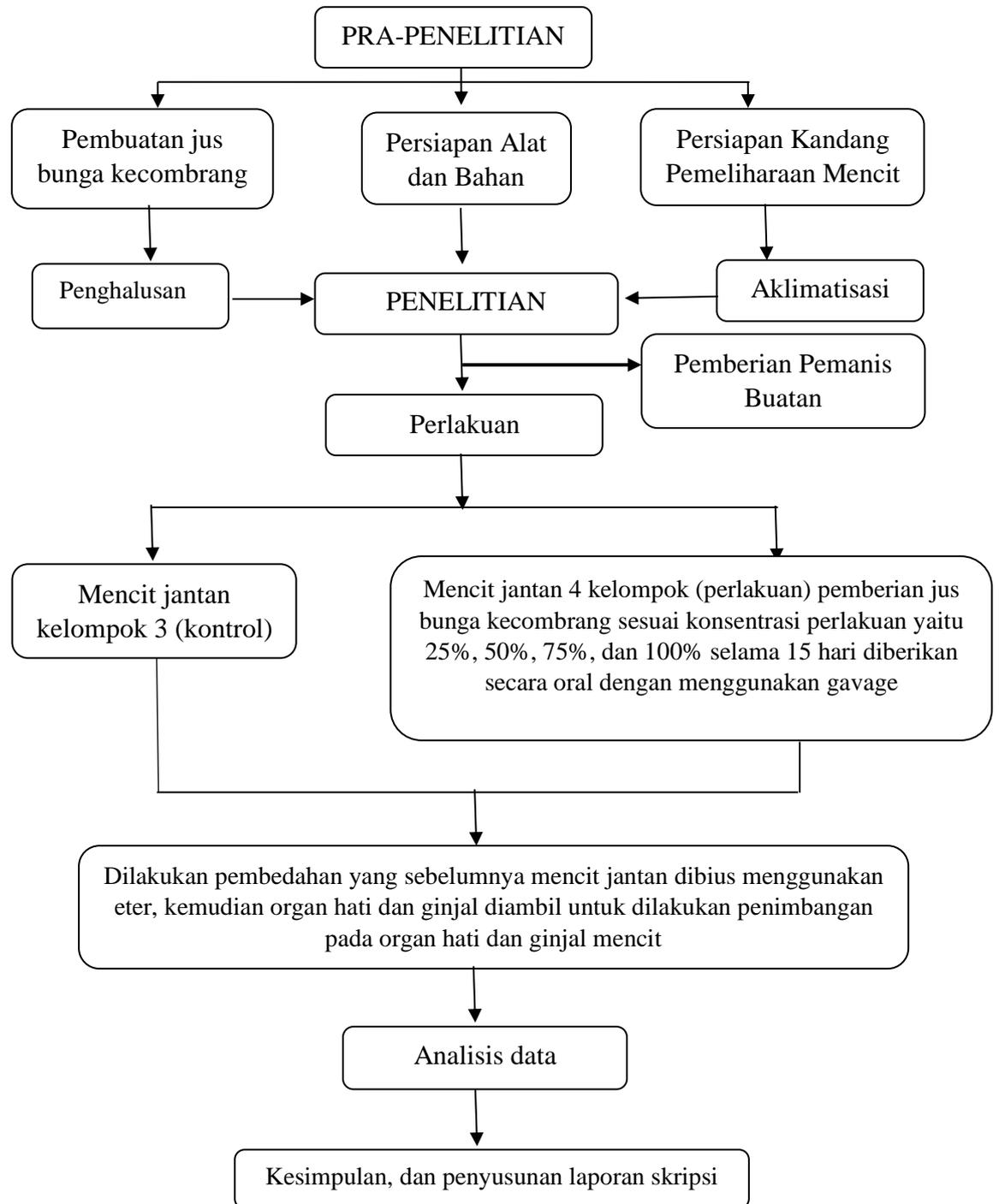
## 3.6 Analisis Data

Untuk menganalisis data digunakan program SPSS 20 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)*. Apabila data yang diperoleh

homogen dan normal maka dilakukan uji parametrik ANOVA (*Analysis of Variance*) tetapi jika data yang diperoleh tidak homogen maka dilakukan uji non parametrik *Kruskall-wallis*.

### **3.7 Alur Penelitian**

Urutan penjelasan mengenai prosedur penelitian yang akan dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.3.



Gambar 3.3 Alur penelitian penurunan kadar glukosa darah mencit