

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan pendekatan kuantitatif dan *study literature*. Menurut Hadi (1985) penelitian eksperimen ialah penelitian yang dilakukan untuk mengetahui akibat yang timbul dari suatu perlakuan. Menurut Sugiyono (2011), metode eksperimen dilakukan untuk mencari pengaruh suatu perlakuan tertentu terhadap perlakuan lain dalam kondisi yang dikendalikan. Jenis penelitian ini yaitu penelitian deskriptif kuantitatif dengan pendekatan eksperimen yang dimaksudkan untuk mengetahui pengaruh suspensi kacang merah dan suspensi cangkang kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) terhadap kadar kolesterol mencit.

#### **3.2 Desain Penelitian**

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode rancangan acak lengkap RAL adalah rancangan percobaan yang diterapkan jika ingin mempelajari perlakuan menggunakan satuan percobaan untuk setiap perlakuan atau menggunakan total satuan dalam percobaan (Gasprez, 1991). Rancangan acak lengkap (RAL) merupakan jenis rancangan percobaan dimana perlakuan diberikan secara acak kepada seluruh unit percobaan. Hal ini dapat dilakukan karena lingkungan tempat percobaan diadakan relatif homogen sehingga media atau tempat percobaan tidak memberikan pengaruh berarti pada respon yang diamati (Sastrosupadi, 2000).

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu suspensi kacang merah dan suspensi cangkang kacang merah, dengan dosisnya yang berbeda-beda. Variabel bebas (X) ialah variabel penyebab timbulnya perubahan variabel terikat atau yang mempengaruhi stimulus. Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu dosis suspensi kacang merah,

suspensi cangkang kacang merah, sedangkan variabel terikat (Y) adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas yang juga disebut dengan respon. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu kadar kolesterol total pada mencit (*Mus musculus*).

Penelitian ini menggunakan 8 kelompok perlakuan yaitu pemberian dosis 5 mg/g BB, 10 mg/g BB, 20 mg/g BB untuk masing-masing ekstrak kacang dan Cangkang kacang, serta 1 kontrol positif dengan pemberian simvastatin dan kontrol negatif dengan pemberian CMC Na 1% yang masing-masing perlakuan terdiri dari 3 kali pengulangan. Jumlah pengulangan didapat berdasarkan rumus (Fereeder, 1991), sebagai berikut:

$(n-1)(t-1) \geq 15$ $(n-1)(8-1) \geq 15$ $(n-1)7 \geq 15$ $7n-7 \geq 15$ $7n \geq 15+7$ $7n \geq 22$ $n \geq 3.2, n \approx 3$	<p><b>Keterangan:</b></p> <p>t = Jumlah Perlakuan</p> <p>N = jumlah Pengulangan</p> <p>15 = Derajat bebas untuk RAL</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Jumlah pengulangan 3, jumlah kelompok ada 8 sehingga mencit yang digunakan sebanyak **24 ekor**. Berdasarkan hasil pengulangan tersebut maka dibuat pengaturan denah percobaan perlakuan secara acak (*Random*) sebagai berikut:

Tabel 3. 1 Peta kandang mencit

Kelompok	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
KP	5	20	9
KN	17	10	2
A1	1	6	15
A2	24	14	8
A3	19	23	12
B1	21	7	16
B2	22	18	3
B3	4	9	13

Keterangan :

Syifa Nur Rahmah, 2022

**PERBANDINGAN PENURUNAN KADAR KOLESTEROL MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIBERI SUSPENSI KACANG MERAH DAN CANGKANG KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris L.*)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

- KP : Kontrol Positif  
 KN : Kontrol Negatif  
 A1 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 5mg/ gr BB  
 A2 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 10mg/ gr BB  
 A3 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 20mg/ gr BB  
 B1 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 5mg/ gr BB  
 B2 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 10mg/ gr BB  
 B3 : Perlakuan suspensi kacang merah dosis 20mg/ gr BB  
 1,2,3.. : Pengulangan

### 3.3 Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah 24 ekor mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur Swiss Webster, sedangkan sampel yang digunakan adalah darah mencit putih jantan yang telah diberi perlakuan suspensi kacang merah dan suspensi cangkang kacang merah.

### 3.4 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Juni tahun 2022 yang akan dilaksanakan di Laboratorium Biologi Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung. Pemeliharaan dan perlakuan dilakukan di rumah mencit Kebun Botani FPMIPA UPI.

### 3.5 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi tahap pra-penelitian, penelitian dan pasca penelitian. Beberapa prosedur yang akan dilaksanakan merupakan adaptasi atau penerapan dari metode penelitian sebelumnya, yaitu penelitian (Ahidin dkk, 2019). Adapun langkah-langkahnya sebagai berikut:

#### 3.5.1 Tahap Pra-Penelitian

##### 1) Persiapan alat dan bahan

Hewan uji mencit putih jantan dan kandangnya didapat dari peternakan hewan Barokah mencit di Jl. Sekemirung Kidul No. 16, Cigadung Kecamatan Cibeunying Kaler, Bandung. Kacang merah dan Cangkang kacang merah didapat dari pasar Gegerkalong, Bandung. Peralatan ekstraksi yang digunakan terdapat di Laboratorium Struktur Hewan, Universitas

Syifa Nur Rahmah, 2022

**PERBANDINGAN PENURUNAN KADAR KOLESTEROL MENCIT (*Mus musculus*) YANG DIBERI SUSPENSİ KACANG MERAH DAN CANGKANG KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Pendidikan Indonesia. Alat dan bahan yang digunakan selama penelitian berlangsung terdapat pada Lampiran 1.

## 2) Aklimatisasi

Hewan uji mencit putih jantan sebanyak 24 ekor dengan berat badan 20-30 gr disimpan dalam kandang dari *litter box* berukuran 35 cm x 27 cm x 12 cm. Kandang diberi medium berupa serutan kayu atau sekam yang diganti setiap 3 hari sekali. Pada bagian tutup kandang menggunakan penutup yang terbuat dari kayu dan kawat untuk mencegah mencit keluar dari kandang. Setiap kandang diberi satu tempat minum pada masing masing kandang dengan volume 20 ml yang akan diganti setiap harinya. Pakan ternak yang digunakan ialah pur babi yang diberi setiap pagi sekitar pukul 8 sebanyak 15 gr per kandang. Aklimatisasi atau adaptasi ini bertujuan agar hewan dapat menyesuaikan diri dengan lingkungannya. Aklimatisasi hewan uji ini dilakukan selama 3 minggu.

## 3) Tahap Pembuatan Maserat dan Suspensi

### a) Tahap pembuatan suspensi kacang merah dan suspensi Cangkang kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Metode maserasi ini merupakan adaptasi dari penelitian Ahidin pada tahun 2019. Sebanyak 500 gr kacang merah dan 200 gr Cangkang kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari. Setelah itu diblender hingga memperoleh kacang merah dan cangkangnya dengan luas penampang yang lebih besar berupa bubuk halus.

Bubuk kacang sebanyak 100 gr bubuk kacang merah dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% sebab etanol bersifat non toksik, aman dan juga mampu menarik senyawa pada simplisia lebih banyak (Hasanah, N., & Novian, 2020). Kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* lalu dipekatkan di *waterbath* dengan suhu  $\pm 45^{\circ}$  C sehingga dihasilkan ekstrak kental.

Pembuatan suspensi maserat kacang merah sebanyak 5 gr; 10 gr; 20 gr ekstrak kental kacang merah disuspensikan dengan Na CMC 0,5% hingga 10 mL. Volume pemberian sebanyak 0,1 mL/ 20 gr BB.

Pembuatan suspensi Cangkang kacang merah dilakukan dengan metode pemanasan yang diadaptasi dari penelitian Fathnur, pada tahun 2014. Sebanyak 5 gr, 10 gr dan 20 gr Cangkang kacang merah dilarutkan pada pelarut aquades dengan suhu 70°. Kemudian diaduk menggunakan batang pengaduk hingga homogen, setelah itu disaring menggunakan kertas saring. Setelannya disuspensikan dengan Na CMC 1% hingga 10 mL. Volume pemberian sebanyak 0,1 mL/ 20 gr BB. Untuk dokumentasi dapat dilihat pada Lampiran 8. Penggunaan CMC Na berfungsi sebagai stabilator emulsi dan pengental.

b) Pembuatan suspensi simvastatin

Pembuatan suspensi simvastatin untuk mencit putih (*Mus musculus*) membutuhkan satu tablet simvastatin, kemudian digerus dan ditimbang sebanyak 10 mg lalu disuspensikan menggunakan Na CMC 1% hingga 10 mL. Volume pemberian larutan adalah 0,1 mL/ 20 gr BB.

(1) Dasar penentuan dosis menggunakan konversi pada manusia dewasa ke dosis pada mencit:

- Dosis kacang merah dan cangkang kacang merah

Dosis pada manusia : 50 gr/hari

Dosis konversi mencit 20 BB :  $50 \times 0,0026$

: 0,13 gr = 13 mg

Dosis pada mencit : 13 mg/20 gr BB

Dosis pada mencit 13 mg/20 grBB ditarik menjadi 10 mg/20 grBB. Dengan variasi dosis menjadi 5 mg/20 grBB, 10 mg/20 grBB dan 20 mg/20 grBB.

- Dosis simvastatin

Dosis pemeliharaan maksimal pada manusia : 40 mg/hari (dr. Rabbinu Rangga Pribadi, Sp.PD)

Dosis konversi pada mencit :  $40 \times 0,0026$

: 0,104 mg = 0,10 mg

Dosis mencit : 0,10 mg/20 gr BB

Untuk lebih lengkapnya dapat dilihat di Lampiran 2.

### 3.5.2 Tahap Penelitian

#### 1) Pembuatan Makanan Induksi Kolesterol dan Lemak

Pembuatan makanan diet lemak tinggi diadaptasi berdasarkan penelitian (Utami et al., 2015) dengan membuat suspensi lemak sapi dan kuning telur ayam, dengan komposisi 40 gr lemak sapi, 20 gr kuning telur, 10 mL air dan 120 gr pakan ternak. Langkah pembuatannya sebagai berikut;

- a) Lemak sapi masih dalam padatan 40 gr dipanaskan hingga memperoleh bentuk cair (minyak lemak sapi),
- b) Campurkan minyak lemak dengan kuning telur dan pakan ternak hingga homogen,
- c) Kemudian tambahkan 10 mL air agar pakan menyatu dan homogen,
- d) Campuran makanan diet lemak tinggi tersebut dibuat baru setiap hari dan diberikan selama 15 hari.

#### 2) Perlakuan Hewan Uji

Pemberian induksi diet pakan tinggi lemak dilakukan selama 15 hari setiap pagi hari pukul 08.00 sebanyak  $\pm 15$  gr per kandang. Terdapat 8 kelompok kandang dan setiap kandang berisi 3 mencit putih jantan yang sebelumnya sudah di aklimatisasi terlebih dahulu.

- a) Kelompok 1 : Kelompok kontrol positif yang diberikan induksi + simvastain 0,10 mg/kg BB per oral.
- b) Kelompok 2 : Kelompok kontrol negatif yang diberikan CMC-Na 1% per oral.
- c) Kelompok 3 : diberikan induksi + suspensi kacang merah dengan dosis 5 mg/kgBB) per oral,
- d) Kelompok 4 : diberikan induksi + suspensi kacang merah dengan dosis 10 mg/kgBB) per oral,

- e) Kelompok 5 : diberikan induksi + suspensi kacang merah dengan dosis 20 mg/kgBB) per oral,
- f) Kelompok 3 : diberikan induksi + suspensi cangkang kacang merah dengan dosis 5 mg/kgBB) per oral,
- g) Kelompok 4 : diberikan induksi + suspensi cangkang kacang merah dengan dosis 10 mg/kgBB) per oral,
- h) Kelompok 5 : diberikan induksi + suspensi cangkang kacang merah dengan dosis 20 mg/kgBB) per oral.

Pengukuran kolesterol mencit dilakukan sebanyak 3 kali, pertama setelah tahap aklimatisasi kolesterol mencit diukur. Setelah diberi induksi pakan lemak selama 15 hari, kolesterol mencit diukur dengan alat *easytouch*. Kemudian, diberi perlakuan selama 16 hari dengan pemberian suspensi kacang merah dan suspensi cangkang kacang merah pada masing-masing kelompok secara oral dengan menggunakan *sput* dan sonde. Setelah perlakuan selama 16 hari, kolesterol mencit Kembali diukur dengan menggunakan alat *easytouch*.

### 3) Pengambilan sampel darah mencit putih jantan

Area ekor mencit disterilkan menggunakan tisu atau kapas alkohol, kemudian lanset area ekor tersebut hingga darah keluar, oleskan darah mencit pada strip kolesterol sampai darah mencukupi dan terdengar bunyi bip, maka angka digital akan bergerak, dalam beberapa detik akan muncul berapa kadar kolesterol dalam darah mencit putih jantan. Untuk dokumentasi pengukuran kadar kolesterol dapat dilihat di Lampiran 8.

### 3.5.3 Tahap Pasca Penelitian (Analisis Data)

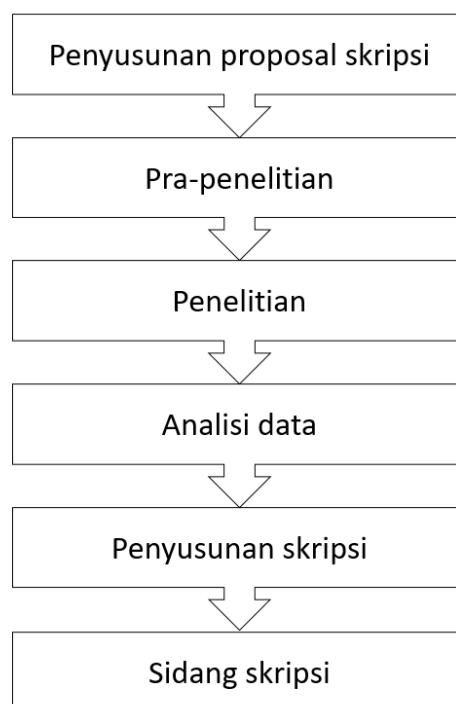
Data hasil pengamatan kadar kolesterol total diuji terlebih dahulu dengan uji normalitas menggunakan uji *Test of Normality (Shapiro Wilk)* untuk menilai sebaran data pada sebuah kelompok atau variable sudah terdistribusi normal atau tidak. Dilakukan juga uji homogenitas menggunakan *Test of Homogeneity of Variances (Levene statistic)* dengan tujuan untuk mengetahui apakah populasi adalah homogen atau tidak. Uji normalitas dan uji homogen

dilakukan sebagai pra syarat untuk melanjutkan uji statistik *one way* ANOVA, karena untuk menggunakan uji ANOVA data harus terdistribusi normal dan homogen. Analisis data menggunakan *Software SPSS 16 for Windows*, hasil data penelitian ditampilkan dalam bentuk Tabel dan diagram beserta deskripsinya.

### 3.6 Alur Penelitian

#### 3.6.1 Alur Penelitian

Alur penelitian dari penelitian “Perbandingan Penurunan Kadar Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) yang diberi Suspensi Kacang Merah dan Cangkang Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*)” terlihat pada Gambar 3.1 berikut ini.

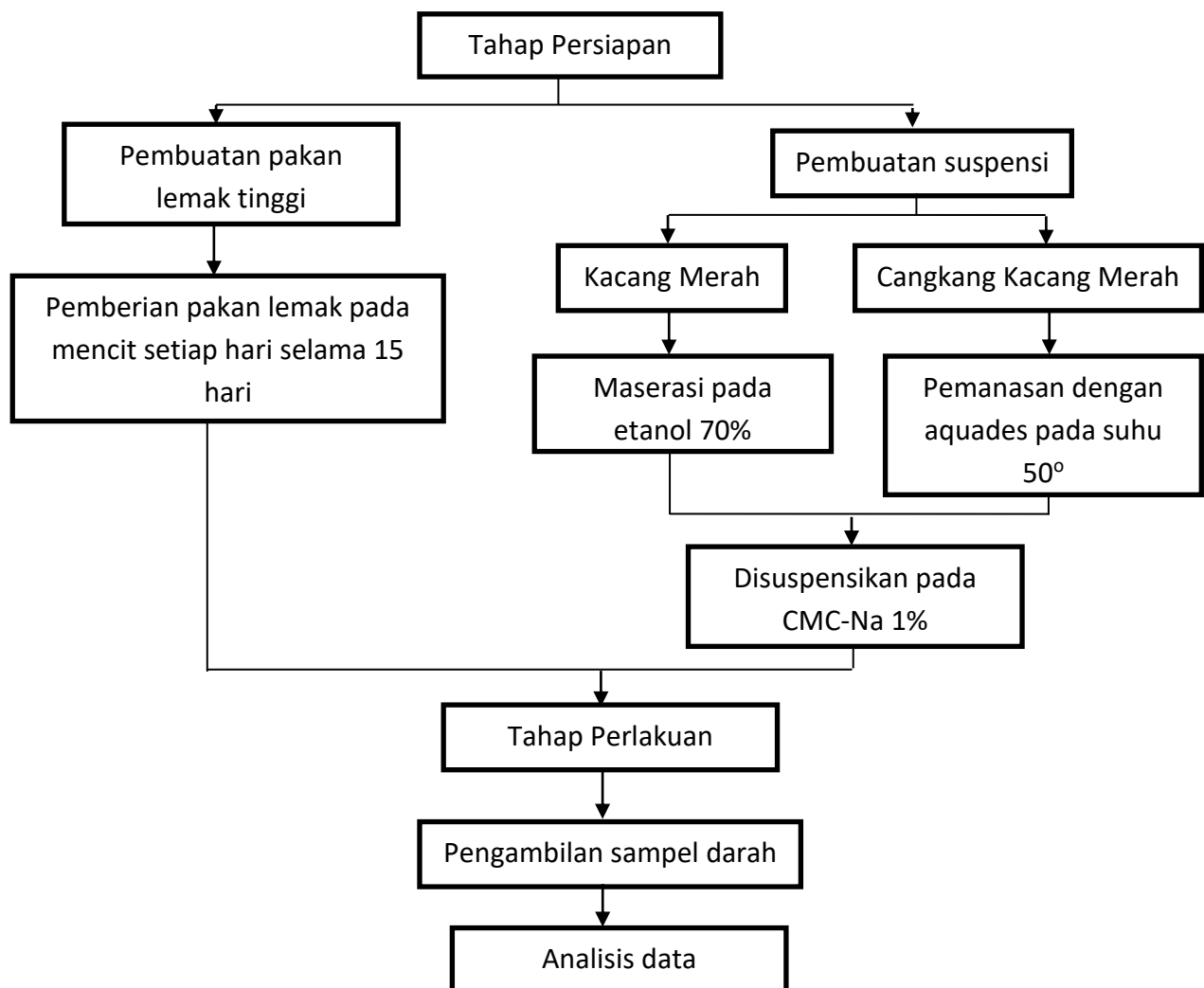


Gambar 3. 1 Bagan Alur Penelitian



### 3.6.2 Alur Kerja

Alur kerja dari penelitian penelitian “Perbandingan Penurunan Kadar Kolesterol Mencit (*Mus musculus*) yang diberi Suspensi Kacang Merah dan Suspensi Cangkang Kacang Merah (*Phaseolus Vulgaris L.*)” terlihat pada Gambar 3.2 berikut ini.



Gambar 3. 2 Bagan Alur Kerja