

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental longitudinal.

B. Subyek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague Dawley berjumlah 11 ekor, sehat dan aktivitasnya normal. diperoleh dari Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran UMY. Subyek yang diteliti memiliki kriteria sebagai berikut:

1. Usia sekitar 4 bulan,
2. Berat badan rata-rata antara 340 gram
3. Jenis kelamin jantan.

Tikus tersebut dilakukan dengan baik dan sesuai etika penelitian dengan pemberian diet (yaitu BR) dan minuman tikus secara ad libitum.

C. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

- i. Perlakuan kontrol positif : Dosis alloxan 120 mg/kgBB
- ii. Perlakuan kontrol negatif : Aquadest
- iii. Perlakuan Uji : Dosis buah merah 30 mL dan Dosis buah merah 45 mL serta alloxan 120 mg/kgBB.

2. Variabel Terikat

Variabel terikatnya adalah kadar kolesterol pada masing-masing subyek

a. Variabel Subjek Penelitian

- i. Jenis kelamin : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dari jenis kelamin yang sama yaitu jantan.
- ii. Jenis Tikus Putih : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dari jenis tikus putih yang sama yaitu Sprague Dawley.
- iii. Berat Badan : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dengan berat badan antara 280-390 gram.
- iv. Umur : Diatasi dengan pemilihan subjek penelitian dengan umur yang sama yaitu 4 bulan.

b. Variabel Perawatan

Perlakuan yang diberikan kepada subjek adalah sama meliputi pemberian makan dan minum, jenis dan kualitasnya sesuai dengan kelompoknya.

c. Variabel Bahan Uji

Berupa minyak buah merah yang diproduksi oleh CV Papua Cendrawasih Industri dan Jaya Makmur Wamena-Papua. Cara pemberian minyak buah merah pada tiap subjek sama yakni peroral.

D. Definisi Operasional

1. Kadar Kolesterol Total Darah : Jumlah mg kolesterol dalam tiap 200 mL plasma darah, dinyatakan dalam mg/dL
2. Dosis perlakuan : Dosis yang digunakan adalah ekstrak buah merah sebesar 30 mL dan 45 mL, kontrol negatif (aquadest) dan kontrol positif (alloxan) 120 mg/kgBB.
3. Lama perlakuan : Lama perlakuan adalah pemberian ekstrak buah merah selama 2

4. Alloxan

Alloxan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang jika diberikan pada hewan percobaan cenderung merusak sel pulau pankreas dan menimbulkan diabetes alloxan. Obat ini bersifat sitotoksik terhadap sel beta pankreas yang dimediasi oleh reaktivitas oksigen spesies.

E. Instrumen Penelitian

Bahan dan alat yang digunakan untuk pemeriksaan kadar kolesterol total darah

1. Bahan

a. Larutan reagen KIT Kolesterol DYASIS yang terdiri dari:

- Good's Buffer pH 6,7 : 50 mmol/L
- 4-aminoantipyrine : 5 mmol/L
- Kolesterol Esterase (CF1E) : 0,3 mmol/L
- Kolesterol Oksidase : >200 mmol/L
- Peroksidase : >50 mmol/L
- Standart : 200 mg/dL (5,2 mmol/L)

b. Alloxan

c. Ekstrak buah merah

d. Darah

e. Aquadest

2. Alat

a. Kandang Tikus

b. Spektrofotometer

- c. Mikropipet
- d. Tabung Reaksi
- e. Vortek
- f. Sonde lambung / jarum oral
- g. Timbangan (DHAUS) untuk menimbang berat badan tikus
- h. Alat homogenisasi
- i. Sentrifuse
- j. Eppendorf
- k. Micro-hematocrite tube

F. Cara Kerja

1. Sampel penelitian 11 ekor tikus putih jantan dibagi menjadi kelompok masing-masing 2 dan 3 ekor.
2. Sebelum diinduksi alloxan, hewan uji dipuaskan selama 12 jam (bahan kimia untuk menaikkan kadar kolesterol total darah).
3. Subjek pada kelompok 1 (kontrol negatif) hanya mendapat perlakuan makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Subjek pada kelompok 2 (kontrol positif) hewan coba mendapat perlakuan alloxan, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Kelompok 3 (kelompok uji) hewan coba mendapat perlakuan ekstrak buah merah dosis 30 mL, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum. Kelompok 4 (kelompok uji) hewan coba mendapat perlakuan alloxan, ekstrak buah merah dosis 45 mL, makanan hewan (BR) dan air minum ad libitum.
4. Pemeriksaan kadar kolesterol total darah setelah tiap subyek diberi perlakuan.

5. Analisis Statistik

G. Cara Pengumpulan Data

Pemeriksaan kadar kolesterol total darah ditentukan dengan reaksi hidrolisis dan oksidasi enzimatis. Quinonimine sebagai indikator kolometrik dihasilkan dari reaksi antara 4-aminoantipirin dan fenol oleh hidrogen peroksida yang dipengaruhi oleh aksi katalitik dari peroksidase.

Tabel 5. Komposisi Campuran dalam Penetapan Kadar Kolesterol Total Darah

	Blanko	Sampel	Standart
Sampel	-	10 μ l	-
Standart	-	-	10 μ l
Aquades	10 μ l	-	-
Reagen	1000 μ l	1000 μ l	1000 μ l

Campur baik-baik, inkubasikan selama 20 menit pada suhu 20-25°C atau 10 menit pada suhu 37°C. Baca absorbansinya pada panjang gelombang 500nm.

$$\text{Kadar kolesterol total darah (mg/dl)} = \frac{A \text{ sampel} - A \text{ blangko}}{A \text{ standar} - A \text{ blangko}} \times \text{konsentrasi...s tan dar}$$

H. Cara Pengolahan dan Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar kolesterol total darah dianalisis dengan uji *Oneway ANOVA* untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan penurunan kadar kolesterol antar kelompok. Dilanjutkan dengan uji post hoc antar kelompok untuk menjawab pada antar