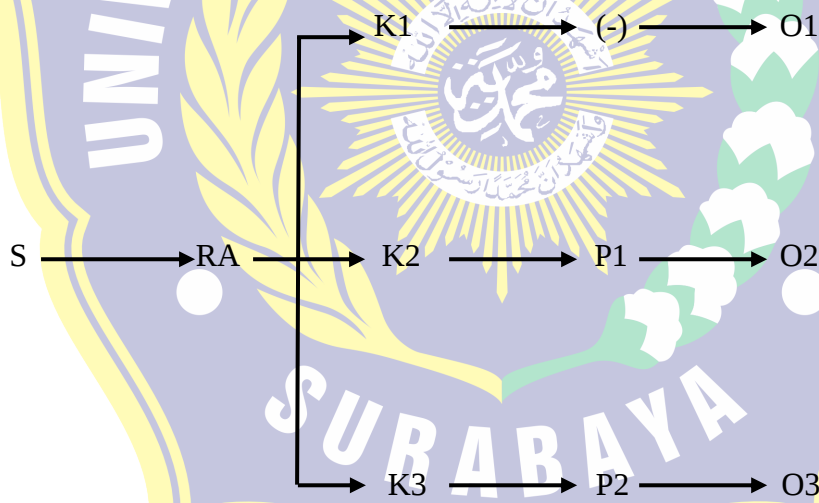


BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimental karena penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian suatu ekstrak atau perlakuan kepada subjek yang diteliti. Dilakukan di laboratorik in vitro, menggunakan teknik randomized pre and post test control group design dengan 3 kelompok, 1 kelompok sebagai control dan 2 kelompok diberi perlakuan. Kelompok control dan perlakuan akan diberi pretest, lalu kelompok perlakuan akan diberi ekstrak, setelah itu kelompok control dan perlakuan akan diberi post test. Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang berguna untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap kadar glukosa darah mencit yang diinduksi streptozotocin dan untuk mengetahui dosis optimal pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang mampu menurunkan glukosa darah mencit (*Mus musculus*) secara cepat.



Gambar 4.1 Rancangan Penelitian Eksperimental

Keterangan:

S : Sampel

RA : Random alokasi

K1 : Kelompok kontrol

K2 : Kelompok perlakuan 1

K3 : Kelompok perlakuan 2

(-) : Pemberian control aquadest

P1 : Pemberian ekstrask sambiloto dosis (76,05 mg/kg bb)

P2 : Pemberian ekstrask sambiloto dosis (228,125 mg/kg bb)

O1 : Pengamatan pada kelompok control pada hari ke 5

O2 : Pengamatan pada kelompok perlakuan 1 pada hari ke 5

O3 : Pengamatan pada kelompok perlakuan 2 pada hari ke 5

4.2 Populasi, Sampel, Besar Sampel, dan Teknik Pengambilan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi dari penelitian ini adalah menggunakan mencit (*Mus musculus*) yang ada pada Laboratorium Animal Center Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.

4.2.2 Sampel

Sampel dari penelitian ini adalah menggunakan mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi streptozotocin dengan dosis 40 mg/kg BB tikus secara intra peritoneal selama 5 hari, berjenis kelamin jantan dewasa karena jika sample betina, dikhawatirkan hormone estrogen dan progesterone dapat mempengaruhi kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*). Rata-rata usia sekitar 6-8 minggu dengan berat badan sekitar 20-30 gram.

4.2.3 Besar Sampel

Sampel mencit (*Mus musculus*) dalam penelitian ini diambil dari Animal Center Fakultas kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya yang dilakukan

dengan menggunakan teknik random sesuai dengan kriteria inklusi. Adapun kriteria inklusi dan eklusi adalah sebagai berikut:

1. Kriteria inklusi

Kriteria inklusi dari sample penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) adalah mencit dinyatakan dalam keadaan sehat, tidak ditemukan cacat fisik, pergerakan lincah, bulu berkilau, mata jernih, konsistensi fesesnya normal dan padat, tidak cair. Rata-rata usia sekitar 2-3 bulan dengan berat badan sekitar 28-35 g.

2. Kriteria eklusi

Kriteria eklusi sampel pada penelitian ini adalah mencit dinyatakan mengalami diabetes, terdapat cedera fisik maupun cacat fisik, mencit berperilaku agresif atau sering menyerang mencit lain atau menyebabkan mencit lain mati.

4.2.4 Teknik Pengambilan Sampel

Penentuan besarsampel pada penelitian ini diambil dengan menggunakan rumus Federer:

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

n : Banyak sampel

t : jumlah perlakuan, dalam penelitian ini terdapat 3 perlakuan (1 kelompok control, 2 kelompok dengan dosis masing-masing 76,05 mg/kg BB dan 228,125 mg/kg BB)

$$(n-1)(3-1) = 15$$

$$(n-1)(2) = 15$$

$$n-1 = 7,5$$

$$n = 7,5 + 1 = 8,5$$

Berdasarkan hasil penghitungan rumus diatas, besar sampel adalah 8,5 ekor mencit. Adanya kemungkinan mencit yang mati (f) = 10% selama penelitian, sehingga untuk setiap kelompok terdiri dari 1 hewan cadangan untuk menghindari kemungkinan mencit yang mati pada penelitian ini, besar replikasi adalah 10 mencit perkelompok dan total seluruh hewan coba adalah 30 ekor.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

Terdapat 3 variabel dalam penelitian ini:

- a. Variabel bebas (independent)

Ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*)

- b. Variabel terikat (dependent)

Glukosa darah mencit (*Mus musculus*)

- c. Variable control/kendali

Jenis kelamin mencit, umur, kesehatan, makanan, lingkungan, cara pemeliharaan, kebersihan kandang, metode pemeriksaan, dan cara pemberian ekstrak.

4.3.2 Definisi Operasional Variabel

Tabel 4.1 Definisi oprasional variable

Variabel	Definisi Oprasional	Cara pengukuran	Hasil Ukur	Skala Data
Kadar glukosa darah mencit (<i>Mus musculus</i>)	kadar glukosa darah diperoleh dengan cara memotong ekor mencit (<i>Mus musculus</i>) untuk mendapatkan darah mencit	Pengukuran dilakukan secara kuantitatif (mg/dl) dengan menggunakan strip glukosa dan alat glukometer sebelum diberikan streptozotocin, sesudah diberikan streptozotocin dan sesudah diberikan ekstrak sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	(mg/dl)	Numerik (Rasio)
Ekstrak tanaman	Ekstrak tanaman	Pengukuran dilakukan	(mg/ kg BB)	Numerik (Rasio)

Variabel	Definisi Oprasional	Cara pengukuran	Hasil Ukur	Skala Data
sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>)	sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i>) diperoleh dengan cara ekstraksi maserasi. Diberikan dengan dosis 76,05 mg/kg BB, dan 228,125 mg/kg BB yang diberikan dua kali sehari dalam waktu lima hari	secara kuantitatif dengan alat timbangan ekstrak		

4.4 Instrumen Penelitian

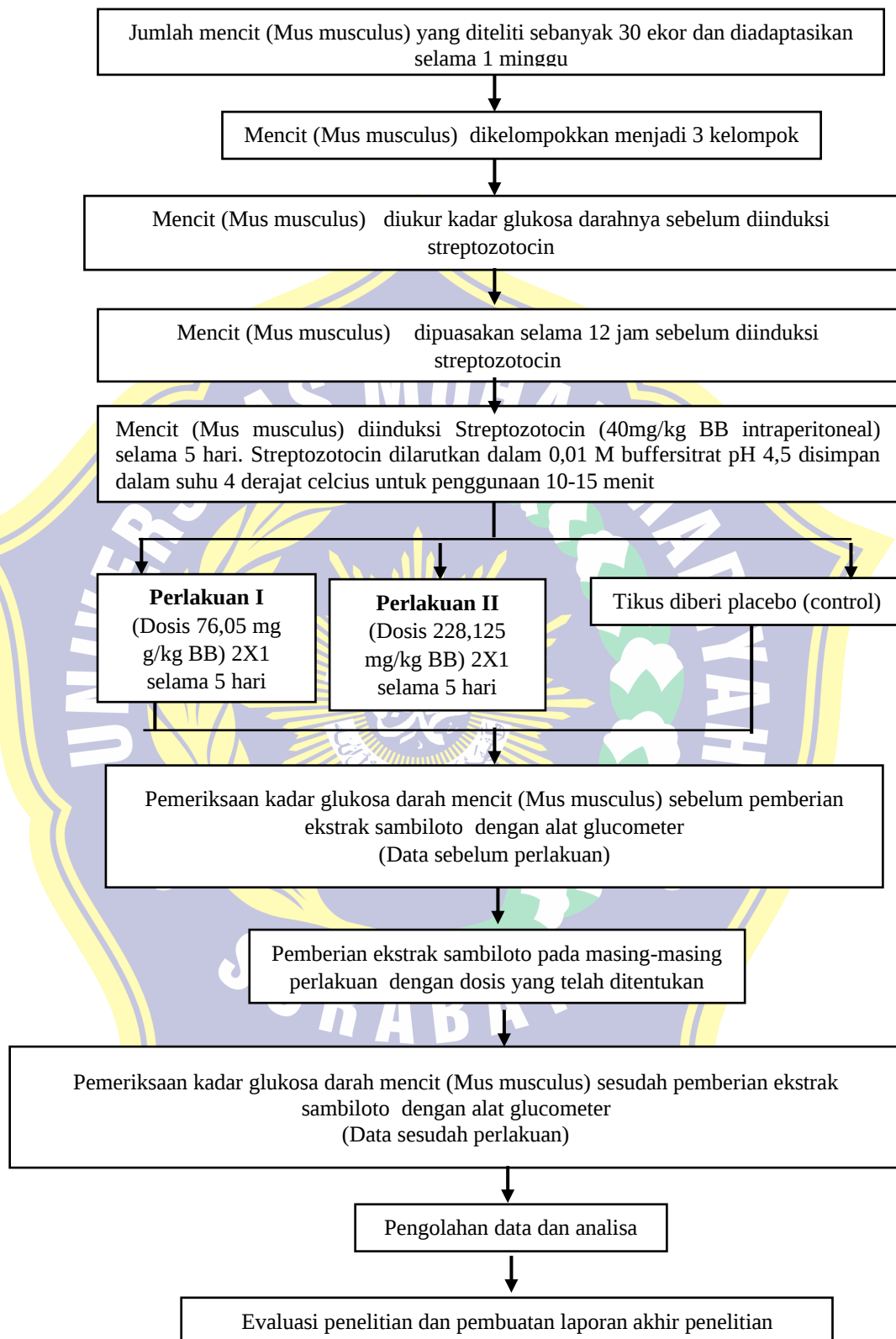
Instrumen pada penelitian ini adalah kandang hewan coba mencit dengan ukuran 30x40x40 cm, beserta tempat makan dan tempat minum hewan coba, alat ukur kadar glukosa (glucometer) dan strip glukosa, tinta dan warna untuk memberi tanda pada hewan coba, neraca timbangan untuk mengukur berat tikus dan ekstrak sambiloto, tabung reaksi ukuran 15 ml untuk melarutkan bahan induksi STZ dengan larutan, spuit ukuran 2 ml untuk injeksi STZ intraperitoneal, spuit 3 ml untuk memberikan ekstrak sambiloto pada mencit.

4.5 Lokasi dan Waktu Penelitian

- Penelitian Mencit (*Mus musculus*) dengan pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) ini dilakukan di laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya
- Pembuatan ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) dilakukan di laboratorium Balai Materia Medika Malang.

4.6 Prosedur Pengambilan atau Pengumpulan Data

4.6.1 Bagan Alur Penelitian



Gambar 4.2 Bagan Alur Penelitian

4.6.2 Penjelasan Alur Penelitian

Penelitian ini menggunakan sample mencit (*Mus musculus*) yang berjumlah 44 ekor dan akan diamati diadaptasi terlebih dahulu selama satu minggu sebelum digunakan penelitian. Mencit (*Mus musculus*) akan dikelompokkan menjadi 3. kelompok dan masing-masing akan diinduksi dengan streptozotocin 40mg/kg BB secara intra peritoneal selama 5 hari. Sebelum diinduksi, akan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*). Setelah itu, mencit (*Mus musculus*) akan dipuasakan 12 jam sebelum diinduksi streptozotocin. Mencit (*Mus musculus*) dengan 4 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 11 mencit (*Mus musculus*), akan diinduksi streptozotocin (40mg/kg BB intraperitoneal) selama 5 hari. STZ dilarutkan dalam 0,01 M buffer sitrat pH 4,5 disimpan dalam suhu 4 derajat celcius untuk penggunaan 10-15 menit. Kadar glukosa darah mencit diukur kembali untuk memastikan bahwa mencit (*Mus musculus*) sudah hiperglikemi, dan dikatakan hiperglikemi bila kadar glukosa darahnya melebihi 62-175 mg/dl. (Tyas *et al.*, 2009)

Perlakuan I, mencit (*Mus musculus*) akan diberikan dosis sambiloto 76,05 mg/kg BB. Perlakuan II, mencit (*Mus musculus*) akan diberikan dosis sambiloto 228,125 mg/kg BB, dan perlakuan III mencit (*Mus musculus*) akan diberi placebo (sebagai kelompok kontrol). Pemeriksaan kadar glukosa darah dengan glucometer akan dilakukan sebelum 3 kelompok mencit (*Mus musculus*) diberikan ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) dan ini akan menjadi data sebelum perlakuan. Setelah itu akan mulai diberi perlakuan dengan memberikan ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada masing-masing kelompok pada dosis 76,05 mg/kg BB, dan 228,125 mg/kg BB yang diberikan dua kali sehari. Pemberian ekstrak akan diberikan selama 5 hari dan dilakukan pengamatan terhadap perkembangan mencit. Setelah 5 hari pemberian ekstrak, glukosa darah mencit (*Mus musculus*) akan diukur kembali dengan menggunakan glucometer sebagai data sesudah perlakuan. Data sebelum dan sesudah perlakuan akan dilakukan pengolahan dan analisis data. Setelah penelitian dan pembuatan laporan selesai akan dilakukan evaluasi penelitian.

4.7 Cara Pengolahan dan Analisis Data

4.7.1 Pengolahan Data

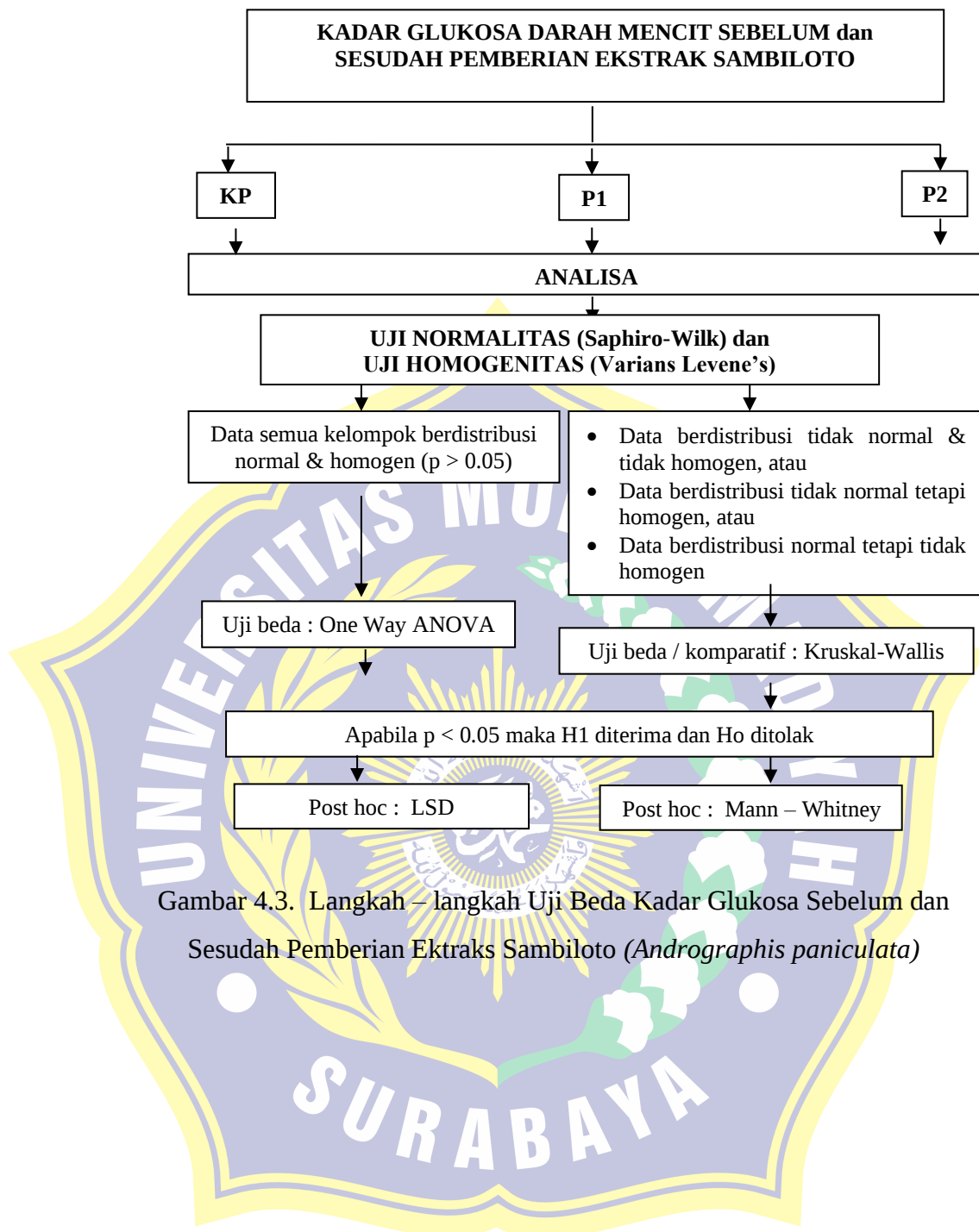
Data kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diberi ekstrak sambiloto yang sudah terkumpul, akan dilakukan coding, editing, transfer/ entry, cleaning data, dan data akan dikelompokkan sesuai dengan variable penelitian yang disajikan dalam bentuk table, distribusi frekuensi, table silang atau grafik.

4.7.2 Analisis Data

4.7.2.1 Uji Beda/ Komparatif

Data kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diberi ekstrak sambiloto yang sudah terkumpul dilakukan uji Saphiro-Wilk dan homogenitas dengan uji Varians Levene,s (nilai kemaknaan $p > 0,05$) terlebih dahulu sebelum dilakukan uji beda. Bila data yang telah diuji menghasilkan data distribusi normal dan memiliki varian yang homogen, maka dilakukan uji beda untuk masing-masing kelompok sampel atau masing-masing variable dengan uji varians satu arah (one way ANNOVA). Uji ini akan menghasilkan tingkat kesalahan sebesar 5% (nilai kemaknaan $p > 0,05$). Jika dalam uji ini didapatkan perbedaan yang bermakna , selanjutnya digunakan uji LSD (*Least Significant Difference*) atau Uji Beda Nyata Kecil untuk mengetahui beda antar kelompok sampel (analisis post hoc).

Apabila didapatkan data dengan distribusi tidak normal atau tidak homogen atau data berdistribusi tidak normal tetapi homogen, maka dilakukan uji beda Kruskal-wallis. Jika dari uji tersebut menghasilkan perbedaan yang bermakna, maka dilakukan uji Mann-Whitney untuk mengetahui beda antar kelompok sampel (analisis post hoc).



Gambar 4.3. Langkah – langkah Uji Beda Kadar Glukosa Sebelum dan Sesudah Pemberian Ektraks Sambiloto (*Andrographis paniculata*)