

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini mencakup ilmu Farmasi, Farmakologi dan Kimia *Randomized Post Test Control Group Design* dengan hewan coba sebagai objek penelitian tikus wistar berumur 3-4 bulan dengan berat 200-250 gram sebanyak 25 ekor yang diperoleh dari Fakultas MIPA UNES.²⁴

4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan februari 2013 di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang.

4.3. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian *Randomized Post Test Control Group Design*.

4.4. Populasi dan Sampel Penelitian

4.4.1. Populasi Target

Populasi target dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar.

4.4.2. Sampel

Sampel penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang dipelihara dan dikembangkan di laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang dengan umur 3-4 bulan dan memiliki bobot badan 200-250 gram sebanyak 25 ekor.

4.4.2.1. Kriteria Inklusi

- a. Tikus bergerak aktif
- b. Secara makroskopis tidak ada kelainan morfologi.

4.4.2.2. Kriteria Eksklusi

Tikus mati saat penelitian berlangsung.

4.4.3. Cara Pengambilan Sampel

Sampel diambil dengan metode *simple random sampling*.

4.4.4. Perhitungan Besar Sampel

Adapun besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor. Dimana 25 ekor tikus putih tersebut dibagi dalam 5 kelompok uji, yang masing-masing kelompok uji terdiri dari 5 ekor tikus putih.

Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

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

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4,75 \sim 5$$

Keterangan :

t : Jumlah kelompok uji

n : Besar sampel per kelompok

Besar sampel ideal menurut hitungan rumus Federer diatas adalah 5 ekor tikus putih atau lebih. Dengan demikian jumlah tikus jantan semua kelompok uji secara keseluruhan adalah 25 ekor.

4.5. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini diberikan batasan variabel.

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*). Bentuk sediaan, dosis sediaan, cara pemberian, hewan coba, dan penetapan kadar glukosa.

4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah tikus wistar jantan.

4.6. Definisi Operasional

1. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih galur wistar dengan umur 3-4 bulan dan memiliki berat badan 200-250 gram sebanyak 25 ekor jenis kelamin jantan.

2. Pemberian ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*) yang diperoleh dengan cara maserasi dari serbuk dengan pelarut etanol. Diberikan secara peroral sejumlah 6,3gram/200grBB melalui sonde lambung, dosis didapatkan berdasarkan dosis lazim manusia yang dikonversikan pada tikus.
3. Dosis glukosa yang dipakai merupakan hasil konversi dari dosis manusia ke tikus adalah 1,35 gram/200grBB.

Untuk menyesuaikan kapasitas maksimal lambung tikus (5ml), maka dosis 1,35 gram/200grBB dilarutkan dalam air hingga volumenya mencapai 2 ml. Diberikan dengan menggunakan cara sonde lambung.

4. Dosis glibenklamid yang dipakai adalah 0,09 gram/ 200grBB.
5. Penetapan kadar glukosa darah adalah kadar hasil pemeriksaan glukosa darah tikus wistar dengan menggunakan glukometer One Touch® Ultra™.
6. Kadar glukosa diperiksa tiap 30 menit setelah pemberian glukosa dengan rentang waktu 30 menit selama 120 menit.

4.7. Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

1. Kandang tikus
2. Sonde lambung
3. Timbangan
4. Alat untuk membuat ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana L*)

5. Glukometer One Touch[®] Ultra[™]

4.7.2 Bahan

1. Buah manggis (Kulit)
2. Glibenkamid
3. Glukosa
4. Aquades

4.8. Cara Kerja

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Manggis

Buah manggis segar dicuci dengan air mengalir, diambil kulitnya, dan dikeringkan, kemudian ditimbang sesuai dengan berat yang dikehendaki, lalu dihaluskan dengan cara diblender, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dan ditambah etanol secukupnya, gojok kuat-kuat setelah itu diamkan selama 24 jam kemudian disaring. Ambil filtratnya dengan menggunakan kain flannel, dan ampasnya dilarutkan kembali dengan etanol, ulangi pengerjaannya hingga seluruh filtrat terambil.

4.8.2 Pemberian Perlakuan

Hewan coba sebelum digunakan untuk penelitian diadaptasikan dalam laboratorium, dan dipuaskan selama 24 jam tanpa diberi makan, tetapi diberi minum.

Penelitian menggunakan sampel sebanyak 25 ekor wistar jantan, kemudian tikus dibagi dalam 5 kelompok, sehingga jumlah sampel tiap kelompok sebanyak 5 ekor.

Ikhtisar perlakuan tiap kelompok adalah sebagai berikut :

Kelompok I : Diberi diet standar + dipuasakan 24 jam + diberi beban glukosa 1,35 gram/200grBB + vehiculum.

Kelompok II : Diberi diet standar + dipuasakan 24 jam + Glukosa 1,35 gram/200grBB + ekstrak kulit manggis dengan dosis 3,15 gram/200grBB.

Kelompok III : Diberi diet standar + dipuasakan 24 jam + Glukosa 1,35 gram/200grBB + ekstrak kulit manggis dengan dosis 6,3 gram/200grBB.

Kelompok IV: Diberi diet standar + dipuasakan 24 jam + Glukosa 1,35 gram/200grBB + ekstrak kulit manggis dengan dosis 12,6 gram/200grBB.

Kelompok V : Diberi diet standar + dipuasakan 24 jam + Glukosa 1,35 gram/200grBB + Glibenkamid 0,09 gram/200grBB.

Tikus wistar diberi beban glukosa dengan dosis 1,35 gram/200grBB yang diberikan secara oral dengan menggunakan sonde lambung, setelah dipuasakan selama 24 jam. Setelah 15 menit pemberian glukosa, dihitung glukosa darah nya, dan diberikan ekstrak kulit *Garcinia mangostana L*

(Buah Manggis) yang telah ditentukan dengan cara yang sama kepada kelompok II-IV

Setelah pemberian ekstrak, cuplikan darah diambil pada menit ke 30, 60, 90 dan 120. Kadar glukosa tikus diukur dengan menggunakan *glukometer One Touch[®] Ultra[™]*.

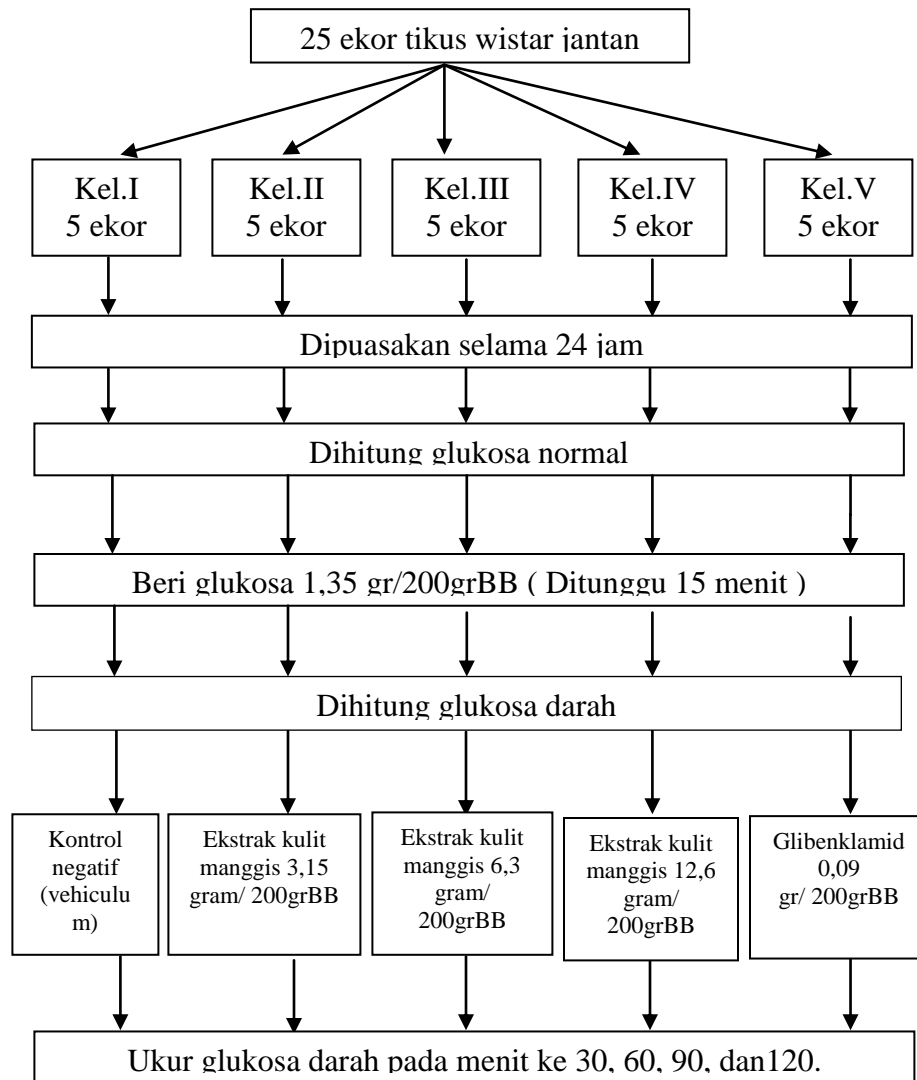
4.8.3. Cara Pengambilan Sampel

Sampel darah diambil dengan cara memotong ujung dari ekor tikus wistar.

Darah yang keluar langsung diletakkan di alat pengukur glukosa yaitu

glukometer One Touch[®] Ultra[™]

4.9. Alur Penelitian



4.10. Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh setelah diteliti, dikoding, dan dientry dalam file komputer dengan menggunakan *SPSS for Windows Release 15.0*. Uji homogenitas Shapiro-Wilk untuk melihat normalitas distribusi data. Bila dijumpai nilai $p > 0,05$ maka distribusi normal, maka digunakan Uji one-way Anova untuk melihat secara umum beda rerata kadar glukosa darah tikus semua kelompok yang akan dilanjutkan dengan Uji Post Hoc (Tukey) untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda bila terdapat perbedaan bermakna dengan nilai $p < 0,05$ pada Uji one-way Anova. Sedangkan apabila dijumpai $p < 0,05$ maka distribusi tidak normal. Uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat beda rerata kadar glukosa darah tikus antar kelompok. Terdapat perbedaan yang bermakna apabila nilai $p < 0,05$. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* antara kelompok I dan II, kelompok I dan III, kelompok I dan IV, kelompok I dan V, kelompok II dan III, kelompok II dan IV, kelompok II dan V, kelompok III dan IV, kelompok III dan V serta kelompok V dan V.²⁷

4.11. Etika Penelitian

Telah didapatkan *Ethical Clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Tikus wistar dipelihara di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang (F-MIPA UNNES). Seluruh biaya yang berkaitan dengan penelitian ditanggung oleh peneliti.