

BAB III

METODE PENELITIAN

1.1 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam lingkup bidang Farmakologi, Ilmu Penyakit Dalam dan Patologi Klinis.

1.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama kurang lebih 10 bulan, di mulai dari bulan Juli 2017 hingga bulan Mei 2018. Penelitian mulai dilakukan setelah mendapat *ethical clearance* dari Komite Etik Fakultas Kedokteran Universitas Swadaya Gunung Jati. Tempat penelitian dilakukan pada Laboratorium Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada (UGM), Yogyakarta.

1.3 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang dilakukan bersifat eksperimental dengan rancangan penelitian “*pre and post test control group design*” dengan menggunakan tikus putih jantan galur Sprague Dawley sebagai objek penelitian. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan. Besarnya sample ditentukan oleh rumus *Federer* yang mana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

1.4 Populasi dan Sampel

1.4.1 Populasi target

Populasi target dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Sprague Dawley.

1.4.2 Populasi terjangkau

Populasi terjangkau penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Sprague Dawley yang didapat dari Labratorium UGM yang hiperkolesterol.

1.4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang diambil pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan (Sprague Dawley) yang memenuhi kriteria inklusi.

1.4.3.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan (galur Sprague Dawley)
2. Berat badan tikus 200 - 250 gram
3. Umurnya 3 bulan
4. Kondisinya sehat, aktif, mempunyai aktivitas normal dan tidak cacat.

1.4.3.2 Kriteria Ekslusi

1. Tikus yang tidak hiperkolesterol

1.4.3.3 Kriteria Drop Out

1. Tikus mati selama perlakuan

1.4.4 Teknik Sampling

Penelitian ini menggunakan 5 kelompok, yaitu 2 kelompok kontrol dan 3 kelompok perlakuan dilakukan secara *simple random sampling*, yaitu pengelompokan dilakukan secara random. Kelompok penelitian ini terdiri dari :

1. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol negatif yang akan diberikan pakan standar dan akuades di induksi makanan berlemak.
2. Kelompok 2 sebagai kelompok kontrol positif yaitu tikus putih yang diinduksi makanan berlemak diberi obat simvastatin dengan dosis 0,18 mg/kgBB tikus.
3. Kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan 1 yaitu tikus putih yang diinduksi makanan berlemak diberi ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 125 mg/kgBB tikus.
4. Kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan 2 yaitu tikus yang diinduksi makanan berlemak diberi ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 250 mg/kgBB tikus.

5. Kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan 3 yaitu tikus yang diinduksi makanan berlemak diberi ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 500 mg/kgBB tikus.

Pengambilan dosis ekstrak kelopak bunga (*Hibiscus sabdariffa*) berdasarkan dengan penelitian sebelumnya.

1.4.5 Besar Sampel

Kelompok sampel dibagi menjadi 5 kelompok dengan teknik random. Besarnya sampel tiap kelompok ditentukan dengan rumus *Federer*, dimana (t) adalah jumlah kelompok dan (n) adalah jumlah sampel. (9)

$$\begin{aligned}(t-1)(n-1) &\geq 15 \\(5-1)(n-1) &\geq 15 \\4n-4 &\geq 15 \\4n &\geq 19 \\n &\geq 4,75 \sim 5\end{aligned}$$

Jadi, jumlah sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah $5 \times 5 = 25$ ekor dan untuk cadangan 1 ekor tikus tiap kelompok, sehingga jumlah seluruh sampel penelitian sebanyak 30 ekor.

1.5 Variabel Penelitian

1.5.1 Variabel bebas (*Independent*)

Ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*).

1.5.2 Variabel terikat (*Dependent*)

Penurunan kadar kolesterol total total dan trigliserid

1.6 Definisi Operasional Variabel

Tabel 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala
1.	Variabel bebas: Ekstrak kelopak bunga rosella	Kelopak bunga rosella yang telah di ekstraksi dengan etanol 70 yang diberikan kepada tikus putih yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan 2 kontrol, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 .	Mengukur ekstrak kelopak bunga rosella dengan menimbang dengan timbangan. Dengan dosis 125 mg/kgbb,250 mg/kgbb,500mg/kgbb	Ordinal
2.	Variabel Terikat: kadar kolesterol	Kadar kolesterol yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak kelopak bunga rosella dan obat simvastatin.	Kolesterol meter. Mengukur kadar kolesterol tikus putih yang di induksi dengan pakan berlemak	Rasio
	kadar trigliserid	Penurunan kadar trigliserid yang telah diberi perlakuan dengan ekstrak kelopak bunga rosella dan obat simvastatin.	Trigliserid meter. Mengukur kadar trigliserid tikus putih yang di induksi dengan pakan berlemak.	Rasio

1.7 Cara Pengumpulan Data

1.7.1 Alat dan Bahan

1.7.1.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kandang hewan coba, sonde lambung, tabung mikro kapiler, rak tabung reaksi, tabung sentrifuge, gelas ukur kecil , oven, pengaduk, saringan, *sput disposable*, *bekker glass*, *rotary evaporator*,

timbangan, *vortex* (Stardust FC FC15) dan spektrofometri UV-Vis.

1.7.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*) yang di dapat dari laboratorium PAU Universitas Gajah Mada, tikus sprague dawley, makanan berlemak, makanan hewan percobaan pellet dan aquades, *aqua distillated*, etanol 70%.

1.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian diawali dengan menyiapkan subjek penelitian yaitu 25 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur *sprague dawley* dibagi dalam 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor tikus putih, lalu menyiapkan alat dan bahan yang digunakan untuk penelitian. Selanjutnya dilakukan pengesktrasian kelopak bunga rosella yang akan diberikan pada tikus beserta dosisnya.

Cara mengekstrasikan kelopak bunga rosella yaitu menggunakan metode maserasi. Pada metode maserasi ini menggunakan pelarut etanol 70 %. Kelopak bunga rosella diambil dari pohon (*Hibiscus sabdariffa*). Kelopak bunga rosella yang segar kemudian dicuci dan dibilas dengan aquades untuk menghilangkan kotoran. Selanjutnya dikeringkan dengan suhu rata-rata 40°C. Kelopak bunga rosella yang sudah kering selanjutnya diserbukkan lalu direndam dengan *aqua distillated* dengan perbandingan 1:25 (g/ml) selama 24 jam kemudian disaring dan diuapkan dengan *Rotadory evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa*).

Dosis ekstrak kelopak bunga rosella yang digunakan pada penelitian ini adalah 125 mg/kgBB tikus, 250 mg/kgBB tikus, dan 500 mg/kgBB tikus. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang sudah diteliti.

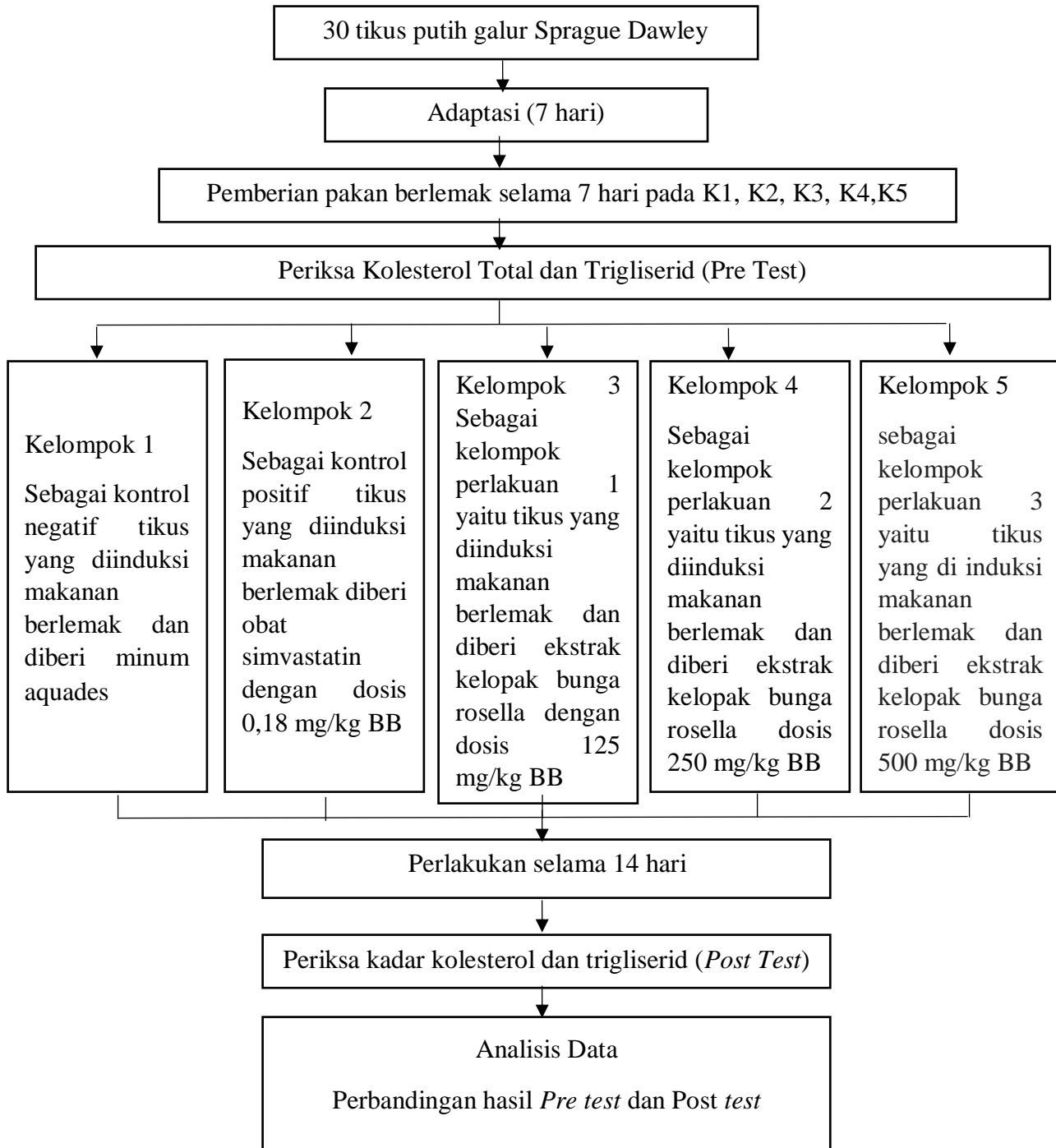
Semua subjek penelitian diadaptasikan selama 7 hari dalam lingkungan laboratorium dan diberi makanan standar untuk tikus yaitu pellet dan aquades.

Setelah itu, dibuat mengalami peningkatan kadar kolesterol dengan pemberian pakan lemak.

Sampel tikus putih galur wistar 25 ekor yang diperoleh dari laboratorium UGM Yogyakarta dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor yang dipilih secara random. Dilakukan adaptasi pada tikus putih galur *sprague dawley* selama 7 hari. Kelompok 1 sebagai kelompok kontrol negatif yang akan diberi pakan standar akuades dan makanan berlemak. Kelompok 2 sebagai kelompok kontrol positif tikus yang diinduksi makanan berlemak diberi obat simvastatin dengan dosis 0,18 mg/kg BB. Dan kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan 1 yaitu tikus yang diinduksi makanan berlemak dan diberi ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 125 mg/kg BB. Kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan 2 yaitu tikus yang diinduksi makanan berlemak dan diberi ekstrak kelopak bunga rosella dosis 250 mg/kg BB. Dan kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan 3 yaitu tikus yang di induksi makanan berlemak dan diberi ekstrak kelopak bunga rosella dosis 500 mg/kg BB.

Setelah perlakuan diberikan, semua hewan percobaan diambil darahnya melalui plexus orbitalis menggunakan tabung mikropipiler. Kemudian dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 60 menit sehingga didapatkan serum, untuk selanjutnya dilakukan pengukuran kadar kolesterol dan trigliserid. Dan kemudian dibandingkan kadar gula darah antar kelompok perlakuan.

1.9 Alur Penelitian



Gambar 1 Alur Penelitian

