

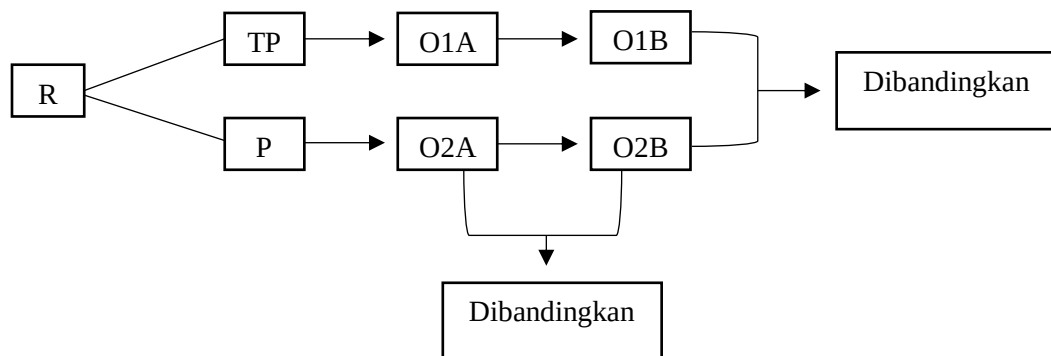
BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan jenis eksperimental laboratorium, yaitu penelitian yang menguraikan atau menggambarkan suatu keadaan dalam suatu fenomena yang belum pernah dilaporkan sebelumnya. Kadar glukosa darah menggunakan rancangan *Pre-Post Control Group Design*, yang dilakukan untuk meneliti gejala yang tampak pada kondisi tertentu sehingga dapat diketahui benar terdapat pengaruh pemberian jus tomat terhadap glukosa darah.

Dengan rancangan penelitian: :



Gambar 4. Rancangan Penelitian

Keterangan :

R : Random

TP : Kelompok kontrol tanpa pemberian jus tomat

P : Kelompok perlakuan dengan pemberian jus tomat

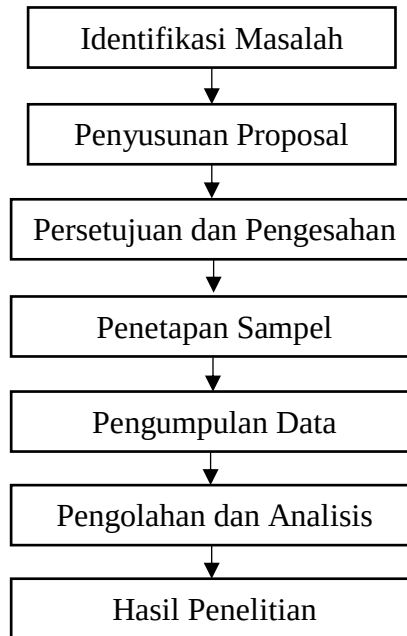
O1A : Observasi awal terhadap kadar glukosa kelompok kontrol

O1B : Observasi kelompok kontrol terhadap peningkatan kadar glukosa tanpa pemberian jus tomat (hanya pemberian palet dan aquades)

O2A : Observasi kelompok perlakuan sebelum pemberian jus tomat

O2B : Observasi kelompok perlakuan setelah pemberian jus tomat terhadap penurunan kadar glukosa (Sulistiyani, 2018).

B. Alur Penelitian



Gambar 5. Alur Penelitian

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Tempat Penelitian serta perlakuan hewan uji dilakukan di Pemeliharaan dan Pembiakan Hewan Percobaan Bio Mice and Rat yang beralamatkan Jl. Pulau Moyo XV, Gg. Tegal Carik, Pedungan, Denpasar.

2. Waktu penelitian

Penelitian dilaksanakan pada Februari sampai dengan April 2024

D. Populasi dan Sampel

Obyek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*). Terdiri dari dua kelompok yakni kelompok *control* dan kelompok

perlakuan. Kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan terdiri dari 16 ekor mencit (*Mus musculus*) sebagai obyek penelitian yang diberi perlakuan sebelum dan sesudah pemberian jus tomat sehingga didapatkan total sampel sebanyak 32 sampel. Kelompok *control* sebagai kelompok yang tidak diberi perlakuan sebanyak 16 mencit. Jumlah subjek penelitian diperoleh dari rumus *Federer* (Hasanah, 2017):

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

$$(n-1)(2-1) \geq 15$$

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

$$n-1 \geq 15$$

$$n \geq 15+1$$

$$n \geq 16$$

Keterangan :

n : Jumlah subjek yang dibutuhkan

k : Jumlah perlakuan

Sampel penelitian didasarkan pada kriteria inklusi dan eksklusi diantaranya yakni (Mutiarahmi et al., 2021) :

1. Kriteria inklusi : mencit dalam keadaan diabetes melitus, berjenis kelamin jantan, bobot badan 20 – 40 g, berumur mulai dari 30 – 120 hari.
2. Kriteria eksklusi berupa mencit mati dan mengalami penurunan BB $\geq$ 10%.

E. Alat, Bahan, dan Prosedur Penelitian

1. Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini diantaranya kandang hewan uji berukuran 40 cm x 30 cm x 20 cm, sekam kayu atau padi sebagai alas kandang hewan coba, empat buah tempat makan hewan uji, empat buah tempat minum hewan uji, satu buah blender (*Miyako*), satu *pack* sarung tangan karet (*Onemed*), satu buah timbangan digital, dan empat kotak *blood glucose stick meter* ((Nesco MultiCheck) (Ridwan et al., 2012).

Alat yang diperlukan untuk induksi aloksan pada mencit diantaranya satu kotak handscoon merk “Onemed”, 20 buah spuit merk “Onemed” 1 cc, underpad, dan vortex.

2. Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini diantaranya hewan uji yaitu 32 ekor mencit sesuai kriteria inklusi, sekam padi, pakan mencit selama penelitian merk “Hi-Pro-Vite A594K”. Bahan uji berupa tomat dan air minum. Bahan induksi aloksan berupa NaCl 0,9% sebanyak 37,5 ml, dan Alloxan Monohydrate sebanyak 210 g.

3. Prosedur penelitian

a. Jus tomat

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Permana & Falah (2022) cara pembuatan jus tomat dengan langkah-langkah sebagai berikut: timbang 150 g tomat, cuci bersih tomat kemudian dipotong, selanjutnya blender semua bahan hingga bertekstur halus, dan terakhir saring jus tomat.

Prosedur pembuatan jus tomat yang dilakukan oleh peneliti selama masa penelitian yakni sebagai berikut :

- 1) Tomat segar diitimbang sebanyak 100 g
- 2) Tomat dicuci bersih. Kemudian potong dadu
- 3) Blender tomat hingga halus selama 3 menit
- 4) Saring jus dan didapatkan cairan dengan volume 40 ml lalu di simpan dalam wadah tertutup

Dosis yang digunakan pada penelitian Iswari (2009), yaitu 11 g/kgBB. Dosis dikonversikan dari gram (g) ke mililiter (ml) adalah $1,025 \times 11 = 11,275$ ml dibulatkan 11,28 ml/kgBB. Sehingga, dosis yang diberikan per ekor mencit adalah $11,28 \times (0,028 \text{ kg} - 0,04 \text{ kg}) = 0,31 - 0,45$ ml per ekor. Besar dosis ini juga didukung oleh penelitian terbaru oleh Silisia et al., (2016), yang mendapatkan dosis pemberian jus tomat pada tikus sebesar 0,3 – 0,4 ml.

Secara umum, jus tomat yang disimpan di dalam kulkas bisa bertahan selama 5 – 7 hari jika disimpan dalam wadah yang bersih dan kedap udara. Namun setiap harinya perlu memperhatikan tanda-tanda perubahan pada jus seperti perubahan warna, bau yang tidak biasa, atau pertumbuhan jamur (National Center for Home Food Preservation, 2022).

b. Pengukuran glukosa darah

Untuk memperoleh darah, ekor mencit dicukur bulunya terlebih dahulu dan dibersihkan dengan alkohol 70%, setelah itu ekornya dipotong sedikit. Darah yang keluar dari ekor ditetaskan pada test strip glukometer merk *Nesco MultiCheck*.

Kemudian, masukkan strip test kedalam glukometer, otomatis akan menyala ketika strip test dimasukan dan akan mati ketika test strip dicabut. Pada saat

glukometer hidup akan terlihat angka pada monitor, angka inilah kadar glukosa darah mencit dalam satuan mg/dl. Satu persatu mencit dilakukan dengan cara ini sehingga seluruh mencit diketahui kadar glukosanya (Pertiwi dkk., 2021).

c. Penginduksian DM pada mencit dengan aloksan

Tujuan dari dilakukannya induksi aloksan yakni agar mencit menjadi diabetes. Mencit yang telah diaklimatisasi selama 7 hari pada kandang percobaan di tempat Pemeliharaan dan Pembiakkan Hewan Percobaan *Bio Mice and Rat*. Mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam. Mencit kemudian diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal dan diinjeksikan (Lestari et al., 2021). Setelah itu, mencit diberikan makan dan minum seperti biasa.

Berikut prosedur induksi aloksan yang peneliti lakukan di di Pemeliharaan dan Pembiakan Hewan Percobaan Bio Mice and Rat:

- 1) Mencit dipuasakan 18 jam
- 2) Mencit ditimbang bobot badannya
- 3) Siapkan larutan injeksi aloksan dengan pengencer NaCl 0,9 %
- 4) Timbang 210 g bubuk Aloksan Monohidrat
- 5) Masukkan ke dalam wadah. Kemudian ditambahkan 37,5 ml NaCl 0,9 %
- 6) Larutan dihomogenisasi dengan menggunakan vorteks hingga terlarut sempurna selama 5 menit
- 7) Larutan injeksi aloksan siap digunakan
- 8) Injeksi ke hewan uji dengan menggunakan spuit 1 cc / 1 mL

Mencit dipuasakan sebelum diinduksi aloksan dalam penelitian yang dilakukan oleh Suharniayanti et al. (2022) dalam penelitiannya mengenai Efektivitas Ekstrak Buah Kelor (*Moringa Oleifera L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada

Mencit (*Mus Musculus*) yang Diinduksi Aloksan, dikarenakan dengan berpuasa dapat mempengaruhi metabolisme dan respons tubuh hewan uji terhadap aloksan. Puasa dapat mengubah kadar glukosa darah, insulin, dan parameter lain yang relevan dalam penelitian diabetes. Hal ini bisa membuat hasil eksperimen lebih konsisten dan dapat memperjelas efek aloksan secara lebih baik. Selain itu, puasa juga dapat membuat mencit lebih sensitif terhadap aloksan. Ketika hewan puasa, kadar glukosa darah mereka menjadi lebih rendah, sehingga ketika aloksan diberikan, efeknya pada sel-sel beta pankreas menjadi lebih kuat. Hal ini dapat meningkatkan efek aloksan dalam merusak sel-sel beta dan memicu diabetes.

d. Persiapan Hewan Coba

Penyiapan hewan percobaan melibatkan penggunaan 32 ekor tikus mencit jantan Wistar albino yang berusia 8-10 minggu dengan berat antara 20 – 40 g (Yusoff et al., 2024). Masing-masing tikus ditempatkan dalam wadah polypropylene yang bersih dan tertutup sesuai dengan kelompok kontrolnya. Wadah-wadah ini ditempatkan di dalam ruangan dengan suhu tetap 22 ± 20 derajat Celsius, dengan pencahayaan terang selama 12 jam dan pencahayaan redup selama 12 jam secara bergantian. Kelembaban ruangan dijaga pada kisaran 70-90% (Ayun et al., 2021).

Tikus-tikus ini diberikan perlakuan hingga kadar glukosa darah mereka mencapai sekitar 175 mg/dl, yang menandakan terjadinya hiperglikemia. Kadar glukosa darah dihitung menggunakan metode Glucose Oxidase Phenol Aminoantipyrine Peroxidase (GOD-PAP) (Shaker dkk, 2023).

Setelah di induksi aloksan dan mendapat kadar glukosa darah sewaktu sesuai kriteria penelitian yakni melebihi 175 mg/dl (Pertiwi et al., 2021), dilanjutkan pemantauan kadar glukosa darah hewan uji baik kelompok kontrol (O1) dan kelompok perlakuan dengan pemberian jus tomat (O2) selama 21 hari. Hal ini

sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Yuliasuti et al., (2021) dalam penelitiannya terhadap pengaruh pemberian jus buah semangka merah (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) selama 21 hari dalam beberapa konsentrasi terhadap kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan dengan dosis 100 mg/KgBB.

F. Pengolahan dan Analisis data

1. Pengolahan data

Pengolahan data dilakukan setelah pengumpulan data selesai. Setelah semua data yang diperlukan telah terkumpulkan kemudian data tersebut dirangkum dan dilakukan tabulasi data menggunakan program *Microsoft Eel* serta *SPSS*.

2. Analisis data

Analisis yang digunakan adalah *Paired T-test* dan *Independent T-test*. Apabila dari hasil analisis diperoleh nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($p < 0,05$) lalu dideskripsikan dan dibuat tabel serta grafik untuk mempermudah dalam mengambil kesimpulan (Hanafiah, 2005).